

Imunohistochemická diagnostika morbus Hirschsprung pomocí kalretininu

Marta Ježová¹, Ondřej Souček², Jiří Tůma³

¹Ústav patologie, LF MU a FN Brno

²Histologická a cytologická laboratoř, Ústí nad Orlicí

³Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie, FN Brno

SOUHRN

Histochemická diagnostika Hirschsprungovy nemoci byla na našem pracovišti zavedena v 70. letech minulého století, v roce 2015 jsme nově přidali imunohistochemický průkaz kalretininu na řezech z parafinových bloků. Od té doby jsme kombinací obou metod diagnostikovali morbus Hirschsprung u 13 pacientů, u 34 jsme jej vyloučili. Výhodou vyšetření exprese kalretininu je snadná interpretace a vysoká spolehlivost nezávislá na věku, genetickém pozadí a rozsahu choroby. Počet nedagnostických vzorků byl mimořádně nízký (3,8 %). Histochemie je pomocnou metodou, která koriguje nejasné nálezy a stále se osvědčuje při diagnostice krátkého a ultrakrátkého segmentu. Hranice aganglionárního úseku, které jsme před operací stanovili pomocí etážových odběrů s kalretininem, velmi dobře korelovaly s nálezem v definitivním resekátu. Proti tomu histochemická detekce vedla častěji k podhodnocení, protože reaktivita acetylcholinesterázy se bez ohledu na délku postiženého segmentu orálním směrem vytrácí.

Klíčová slova: Hirschsprungova nemoc – kalretinin – imunohistochemie – acetylcholinesteráza – etážová biopsie

Immunohistochemical diagnostics of Hirschsprung's disease using calretinin

SUMMARY

Histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease at our institution was introduced in the 1970s, calretinin immunohistochemistry on formalin fixed tissue was newly added in 2015. Employing both methods we were able to confirm Hirschsprung's disease in 13 patients and exclude it in 34 patients since then. Calretinin seems highly reliable and easy to evaluate, it is not influenced by patient's age, associated genetic features or the length of agangliosis. The number of inadequate samples was very low (3.8%). Histochemistry is useful as an adjunct tool to correct equivocal findings of calretinin staining and to facilitate diagnosis of short and ultra-short Hirschsprung's disease. Serial biopsies from distal rectum and adjacent large bowel were obtained to assess the length of agangliosis preoperatively. The results of calretinin immunohistochemistry correlated very well with the findings in the colectomy specimens. In contrast, the length of affected bowel detected by histochemistry was often underestimated because acetylcholinesterase activity always diminishes orally irrespective of the length of aganglionic portion.

Keywords: Hirschsprung's disease – calretinin – immunohistochemistry – acetylcholinesterase – serial biopsy

Cesk Patol 2019; 55(1): 53–59

Hirschsprungova nemoc (HN) je vrozené neuromuskulární onemocnění tlustého střeva, jehož první přehledný klinický popis podal dánský pediatr Harald Hirschsprung v roce 1886. Trvalo však dalších 60 let, než byla správně pochopena patogeneze onemocnění spočívající v chybění gangliových buněk submukózního a myenterického plexu ve spastickém segmentu (1,2). Tento objev umožnil kauzální chirurgickou léčbu i zavedení bi-optické diagnostiky, která se vyvíjela od skalpelem odebíraných excízií rekta s následnou suturou po šetrnější odběry sliznice a submukózy sací sondou. Rektosigma je postiženo v 80 % případů (krátký segment), tzv. dlouhý segment zasahující po lineární flexuru/colon transversum v 15 – 20 % případů (3). Totální aganglionóza tlustého střeva (TCA - total colonic aganglionosis) je definována postižením celého tlustého střeva až po ileocekální chlopeň a může přestupovat i na terminální ileum v délce kratší než 50 cm. Je diagnostikována u 4 – 13 % pacientů (4). Opačným pólem choroby je ultrakrátký segment, který nepřesa-

huje 2 cm nad vnitřní svěrač. HN postihuje přibližně 1 z 5000 živě narozených dětí s převahou chlapců. Většina případů přichází sporadicky, ale familiární zátěž zvyšuje riziko až 200x. Přibližně pětina dětí má přidružené vývojové vady nebo syndrom. HN je nejčastěji asociována s Downovým syndromem (cca 7 % pacientů), hluchotou, medulárním karcinomem štítné žlázy, syndromy MEN 2, neurofibromatózou, neuroblastomem a vývojovými vadami srdce, trávicí trubice, mozku a močopohlavního ústrojí. HN je multigenní onemocnění s více než 10 příčinnými geny. Nejvíce probádané jsou mutace protoonkogenu RET, které jsou nalézány asi u poloviny familiárních a 7 – 35 % sporadických forem HN (3,5). U novorozence se opoždí odchod smolky, kojenci trpí chronickou obstipací, ileosními stavy, zvracením i paradoxními průjmy. K závažným komplikacím se řadí sterkorální vřed a perforace, obávaná je enterokolitida a toxické megakolon (6).

Předoperační histologická diagnóza, která je založena na absenci gangliových buněk v submukóze, vyžaduje sériové prokrajování vzorku o adekvátní hloubce. Enzymohistochemický průkaz patologicky zmnožených cholinergních vláken ve sliznici se provádí pouze ze zmražených řezů. Z imunohistochemických metod se nejvíce osvědčila protilátka proti kalretininu, která barví gangliové buňky i jejich slizniční výběžky. Stěna tlustého střeva s normálními inervačními poměry vykazuje jen slabou reakci cholinesterázy (dále negativní histochemie) a protilátka proti kalretininu barví nervová vlákna ve sliznici (dále pozitivní

✉ Adresa pro korespondenci:

MUDr. Marta Ježová, Ph.D.

Ústav patologie FN Brno

Jihlavská 20, Brno, 625 00

tel.: +420 532 231 946

e-mail: Jezova.Marta@fnbrno.cz