

# Fundamentos del diagnóstico histoquímico de la Enfermedad de Hirschprung\*

Dr. Bruno Fadda C. \*\*

Desde la descripción del "Megacolon Congénito", por H. Hirschprung en el año 1888, la enfermedad que lleva su nombre ha presentado una interesante evolución histórica, que ha permitido una más cabal comprensión de su patogénesis. Los aportes más importantes en este sentido fueron los de Dalla Valla en 1924, y posteriormente los de Bodian, quienes describieron la ausencia de plexos intramurales. Estos hallazgos permitieron, a su vez, perfeccionar el tratamiento de la enfermedad con la incorporación de técnicas quirúrgicas más concordes con la fisiopatología del cuadro. No obstante estos importantes adelantos, los progresos en lo referente al diagnóstico de la enfermedad habían sido hasta hace poco tiempo atrás de escasa significación.

Como es sabido, la *anamnesis* y el *examen físico* del paciente pueden plantear la sospecha de una enfermedad de Hirschprung, para cuya confirmación debemos recurrir a exámenes complementarios más o menos especializados.

La *radiología*, examen de gran utilidad en estos pacientes, presenta sin embargo en cierto porcentaje de casos, serias dificultades de interpretación. Es el caso de la enfermedad de Hirschprung de "segmento ultracorto", cuyo diagnóstico, con la ayuda de nue-

vos métodos ha aumentado notoriamente en los últimos años. El diagnóstico de la enfermedad de Hirschprung sin megacolon en los recién nacidos constituye también un serio problema en el estudio radiológico.

La *manometría rectal*, en las manos más expertas ha demostrado un 85% de fidelidad diagnóstica. En general se le ha reconocido más ventajas para descartar el diagnóstico de aganglioneosis que para confirmarlo.

La *Histología Clásica*, no obstante ser el método más fiel de los hasta ahora nombrados, no carece de riesgos y problemas de interpretación. La biopsia debe ser profunda con el fin de alcanzar los plexos, lo que puede llevar a complicaciones especialmente en el recién nacido y lactante menor. Además, la interpretación de la hiooganglioneosis fisiológica en el recto más distal constituye frecuentemente un serio problema para el patólogo. Por esta razón las muestras deben tomarse siempre por sobre los últimos 4 cm. del recto, lo que hace imposible la detección de aganglioneosis ultracortas limitadas a los últimos cm. del tubo digestivo.

Es debido a estas limitaciones de los métodos tradicionales de diagnóstico de la enfermedad de Hirschprung, que adquieren importancia los trabajos de Kamijo, Hiatt y Koelle, que en 1953 determinaron bioquímicamente un notorio aumento de la acetilcolinesterasa (ACE) en la pared intestinal aganglionar. Basándose en este trabajo, otros autores ha desarrollado en los últimos años el método histoquímico para diagnosticar la enfermedad de Hirschprung. La standariza-

---

\*Primera parte de un trabajo realizado durante una Beca A.V. Humboldt en la Clínica Quirúrgica Universitaria de Heidelberg, Alemania Federal. Médico jefe, profesor Dr. R. Daum.

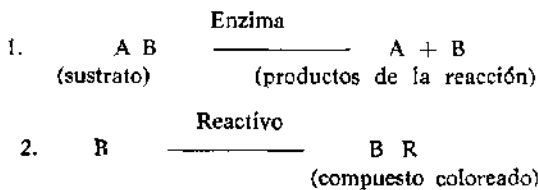
\*\*Servicio de Cirugía Infantil, Hospital E. Deformes, Valparaíso.

ción e incorporación a la clínica de esta técnica diagnóstica, se ha efectuado en los últimos años, tomando como fundamento los trabajos de Meier-Ruge, de Suiza.

## FUNDAMENTO BIOQUIMICO DE LAS REACCIONES

La histoquímica determina la presencia de una enzima en los tejidos, al lograr *in situ* la coloración de uno de los productos de la reacción que dicha enzima cataliza. Con este objeto se incuba el tejido a estudiar en una solución que contiene un substrato artificial (AB) sobre el que la enzima actúa, descomponiéndolo en subproductos (A+B). Dicha solución contiene a la vez un reactivo (R) que se une a uno de estos subproductos, coloreándolo y haciéndolo así visible (BR).

### Principio de la Reacción Histoquímica



En el estudio histoquímico de una muestra intestinal para la enfermedad de Hirschprung se utilizan normalmente dos reacciones:

- a) La determinación de la acetilcolinesterasa (ACE), la que permite apreciar subjetivamente la cantidad de enzima presente en las distintas estructuras de la pared. La actividad del fermento se visualiza por tinción de color café en las estructuras que la contienen.
- b) La reacción de la dehidrogenasa succínica (DS), que permite visualizar en forma mucho más específica que con la histología clásica, las células ganglionares de los plexos intramurales. La tinción en este caso es de color negro.

En base a estas dos reacciones examinaremos a continuación las características microscópicas de la pared intestinal normal y aganglionar.

## CARACTERISTICAS HISTOQUIMICAS DEL INTESTINO

A. *En el intestino normal*, la actividad de la ACE se aprecia de coloración moderada (café pálido) en el tejido muscular y en algunas fibras nerviosas de la submucosa. No se visualiza, sin embargo, actividad enzimática en el tejido intersticial de la mucosa (lámina propia de la mucosa). Este hecho, como veremos más adelante, será fundamental en el criterio de diagnóstico de la Enfermedad de Hirschprung (Figura N° 1).



Figura N° 1

Mucosa rectal normal. Tinción ACE. Se aprecia discreta actividad ACE en la muscular de la mucosa y ausencia de ella en la lámina propia. (Aumento 1 x 40).

Con la reacción para la DS, el intestino normal mostrará la clara presencia de células ganglionares de los plexos de Meissner en la submucosa y de Auerbach entre la musculatura longitudinal y la circular.

B. *En el intestino aganglionar* de la Enfermedad de Hirschprung, se comprobará un notorio aumento de la actividad ACE en la musculatura, incluyendo la muscular de la mucosa. En el lugar donde normalmente se ubican los plexos intramurales aparecen troncos nerviosos gruesos, hipertróficos e intensamente teñidos. La principal característica de este intestino será, sin embargo, la presencia de una intensa actividad ACE a nivel de la lámina propia, originada por el aumento de producción de esta enzima a nivel de las fibrillas nerviosas que recorren el intersticio de la mucosa (Figura N° 2).



Figura N° 2

Enf. de Hirschprung. Tinción ACE. Se reconoce intensa actividad enzimática en la lámina propia. En la submucosa existen abundantes fibras nerviosas hipertróficas fuertemente teñidas. (Aumento 1 x 30).

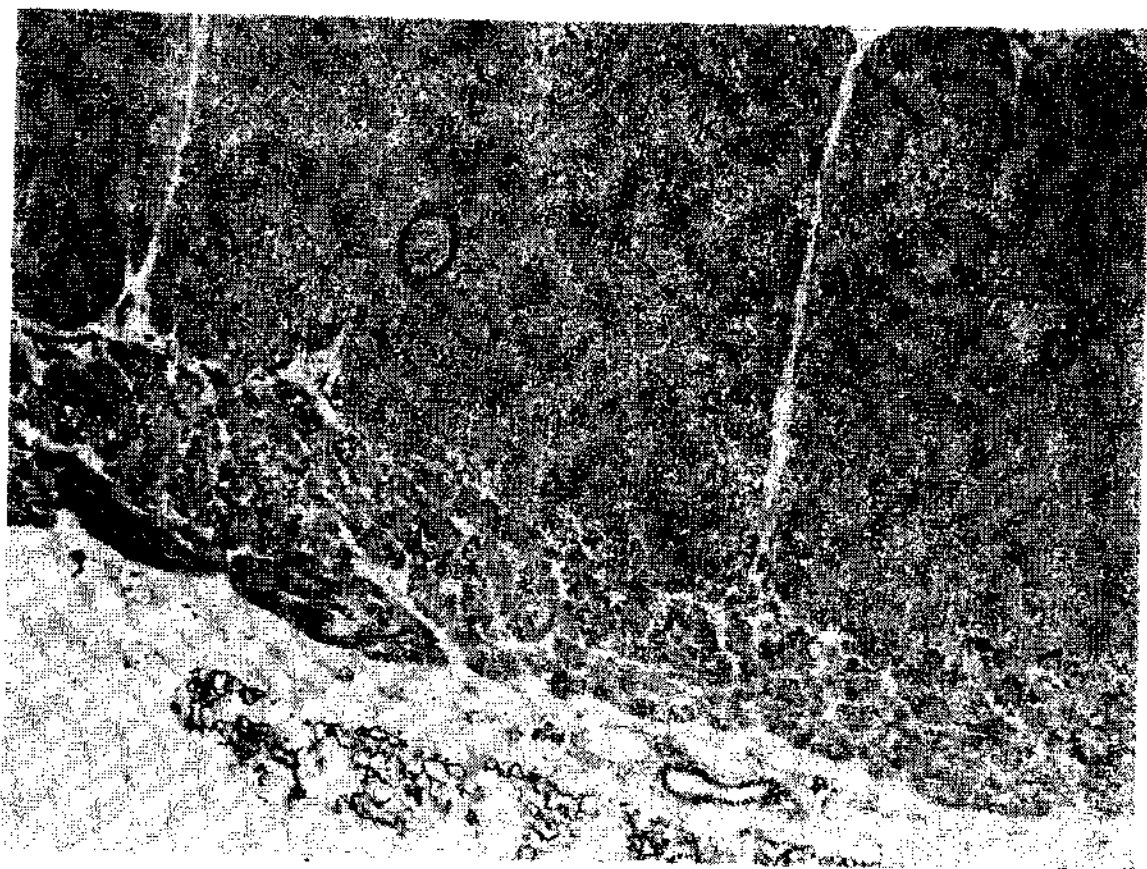
La tinción para la DS en el intestino aganglionar de la Enfermedad de Hirschprung mostrará la ausencia de ambos plexos intramurales. (Figura N° 3).

### EL DIAGNOSTICO HISTOQUIMICO

El diagnóstico histoquímico por biopsia rectal de la Enfermedad de Hirschprung se basa en la especificidad del aumento de la actividad ACE a nivel de la lámina propia de la mucosa, fenómeno que hasta ahora no ha

Figura N° 3

Zona de transición. Tinción DS. Las células ganglionares del plexo de Auerbach se observan en una mitad de la preparación, continuándose con intestino aganglionar. (Aumento 1 x 30).



sido descrito en otras enfermedades. Dicho aumento de actividad enzimática de la mucosa se hace más intenso en el recto más distal, dada su más rica inervación extramural a este nivel.

Las mencionadas características enzimáticas del recto aganglionar se amoldan idealmente para constituir la base de un método diagnóstico inocuo y altamente específico. Dado que el criterio diagnóstico se basa en la presencia o ausencia de ACE en la mucosa superficial, las muestras requeridas serán igualmente superficiales, pudiendo utilizarse con este objeto la biopsia por succión. Se evita así riesgos de anestesia, sangramiento o perforación (Figura N° 4). La especificidad y nitidez del aumento enzimático a dicho nivel hace innecesaria la confirmación microscópica directa de la ausencia de plexos intramurales. Con ello se obvia el grave problema de interpretación que presenta la zona de hipoganglionosis fisiológica del recto terminal. Estos hechos, unidos a la ya aludida mayor actividad enzimática en el recto más distal, permiten valorar como la biopsia más significativa desde el punto de vista diagnóstico, aquella tomada dentro del 1er. cm. de mucosa sobre la línea pectínea.

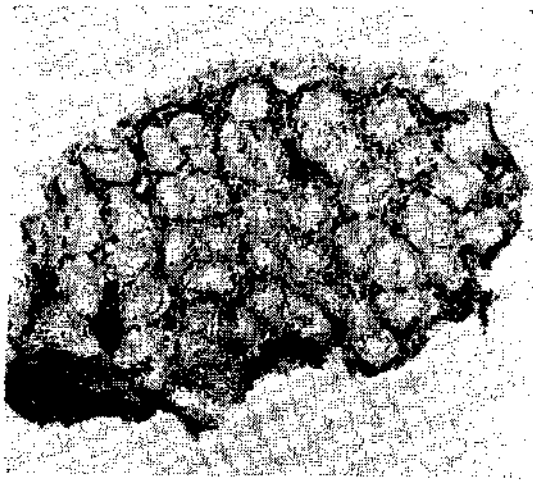


Figura N° 4

Enf. de Hirschprung. Tinción ACE. Biopsia por succión que incluye sólo mucosa. La presencia de actividad enzimática en la *lámina propia* —(punteado oscuro)— confirma el diagnóstico. Compárese con la mucosa normal del Cuadro N° 1. (Aumento 1 x 60).

Un hecho digno de mención es la limitación de esta técnica diagnóstica para determinar la longitud del segmento aganglionar en base a la actividad ACE. Esta disminuye progresivamente desde distal hacia oral, incluso en aganglionosis completas del colon, en relación con la gradiente de inervación extramural. Sólo en enfermedades de Hirschprung de segmento muy corto puede encontrarse una diferencia significativa de actividad enzimática en biopsias vecinas, lo que podría indicar la longitud de la aganglionosis. En la mayoría de los casos, sin embargo, será la radiología la que con mayor exactitud informará sobre la magnitud de la aganglionosis.

En base a la literatura y a observaciones personales (67 biopsias) se puede afirmar que el método histoquímico aplicado al diagnóstico de la Enfermedad de Hirschprung, alcanza una fidelidad cercana al 100%. No se han descrito falsos positivos. Según algunos autores, podrían presentarse falsos negativos en recién nacidos prematuros a causa de la inmadurez de su sistema enzimático, lo que hay que tener presente en la interpretación de las biopsias de dichos pacientes. La incorporación de este método al estudio de los pacientes constipados permite, junto a la clínica y a la radiología, llegar a conclusiones diagnósticas seguras, base para programar un tratamiento lógico y efectivo.

## RESUMEN

Se expone los fundamentos del método histoquímico de diagnóstico de la Enfermedad de Hirschprung, que se basa en el aumento de la acetilcolinesterasa en la mucosa rectal de estos pacientes. La literatura y la experiencia personal del autor dan a este método una fidelidad diagnóstica próxima al 100%, con lo cual supera —sin excluirlos— los medios de diagnóstico para dicha enfermedad hasta ahora en uso.

## SUMMARY

The biochemical basis of the histochemical method for the diagnosis of Hirschprung

disease are analysed. The visualization of the acetylcholinesterase in the rectum's mucosa is up to now the most accurate diagnostic method, which fidelity approximates to 100%.

#### REFERENCIAS

1. *Aaronson, J.; Nixon, H.*: Gut. 13: 138-146, 1972.
2. *Baumbarten, H.G.; Holstein, A.F.; Stelzner, F.* Virchows Arch. (Path. Anat.) 358: 113-136, 1973.
3. *Dalla Valla, A.*: Pediatria. 32: 568, 1924.
4. *Elema, J.D.*: Arch. Dis. Childh. 48: 160, 1973.
5. *Garrett, J.R.; Howard, E.R.; Nixon, H.* Arch. Dis. Childh. 44: 406-417, 1969.
6. *Handbuch der Histchemie.* Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, 1960.
7. *Hirschprung, H.*: Jahrd. Kinderh. 27: 1, 1888.
8. *Hoar, C. et al.* J. Physiol. (London) 218, 92, 1971.
9. *Howard, E.R.*: Am. Surg. 38: 11, 602, 1973.
10. *Kamijo, K.; Hiatt, R.B.; Koelle.* Gastroenterol. 24: 173-185, 1953.
11. *Meier-Ruge, W.*: Pädiat, Pädiol. Suppl. 2: 55-64, 1972.
12. *Meier-Ruge, W. et al.*: Beitr. Path. 144: 409-451, 1971.
13. *Meier-Ruge, W.*: Curr. Top. Pathol. 59: 132-172, 1974.
14. *Nissan, S.; Bar-Maor, J.A.* J. Ped. Surg. 6, 6: 738, 1971.
15. *Pearse.* Histochemistry. 3rd. Edition, 1972.
16. *Willich, E.* Roentgendiagnostik der Hirschsprung'schen Krankheit im Neugeborenenalter und bei atypischen Fällen. Pä.u.Pädiol. Suppl. 2 Springer-Verlag, Wien-N. York, 1972.
17. *Willital, G.H.* Klinischer Verlauf und Fortschritte in der Diagnostik bei Ileuszuständen in der Neugeborenen - und Säuglingsperiode infolge Aganglionose. Z. Kinderch., Suppl. Bd. 11, 1972.
18. *Weinberg, A.*: Am. J. Cli. Path. 54: 637-642, 1970.