

Zwanzig Jahre diagnostisches Hirschsprung- Kompetenzzentrum in Basel

Seit über 20 Jahren besteht in Basel ein Hirschsprung-Kompetenzzentrum. Zwei große Übersichtsarbeiten sind in den letzten Jahren publiziert worden. In diesen Publikationen wurden sowohl die Kriterien der Hirschsprung-Diagnostik als auch eine Reihe anderer Anomalien enteraler Innervation mit chronischer Obstipation dargestellt [2, 14].

Da ein Morbus Hirschsprung eine Resektion des aganglionären Kolon erfordert, ist eine fehlerfreie pathohistologische Diagnose unabdingbar. Die klassische Paraffintechnik und die Immunohistochemie arbeitet nicht mit der gleichen Zuverlässigkeit wie die Enzymhistochemie [8, 20]. Bereits 1968 wurde auf die Zuverlässigkeit der enzymhistochemischen Steigerung der Acetylcholinesterase-Aktivität in parasymphatischen Nervenfasern der Rektumschleimhaut für die Hirschsprung-Diagnose hingewiesen [10, 11]. Mehrere neuere Untersuchungen haben dies bestätigt [1, 9, 25].

Die meisten epidemiologischen Untersuchungen zur Häufigkeit des Morbus Hirschsprung basieren auf klinischen Studien und berechnen die Anzahl von Hirschsprung-Erkrankungen auf die Anzahl Lebendgeburten [7, 22, 23, 24]. Eine erste Übersicht zur Häufigkeit enzymhistochemisch, pathohistologisch diagnostizierter Aganglionosen des Rektosigmoid bei chronisch obstipierten Kindern wurde 1992 publiziert [13].

Vorliegende Publikation demonstriert die Resultate des Basler Hirschsprung Kompetenzzentrums der letzten 20 Jah-

re, in deren Verlauf über 19.365 Rektumschleimhautbiopsien untersucht wurden.

Methodik

Die vorliegende Zusammenstellung des Basler Hirschsprung-Kompetenzzentrums basiert auf nativen Biopsien der Rektumschleimhaut von Säuglingen und jungen Kindern. Das Gewebe wurde in der Regel von externen Kliniken auf Kohlensäureschnee (-80°C) per Intercity-Kuriergut oder DHL-Kurierdienst übersandt. Die Versandmodalitäten sind in ex-

tenso in einem Laborleitfaden dargestellt [17, 18].

Alle Biopsien wurden nativ in einem Kryostat 15 μm dick in Serie geschnitten. Diese Schnittdicke ist mit einem 4 μm Paraffinschnitt kompatibel, da ein Kryostatschnitt beim Aufziehen und Trocknen auf einem Objektträger 70% seiner Schnittdicke verliert [18]. Eine Schnittdicke von 15 μm ist für die Vergleichbarkeit der Kryostatschnitte mit 4 μm dicken Paraffinschnitten essenziell, vor allem bei morphometrischen Vergleichsuntersuchungen. In der Regel werden 3 Bi-

Tab. 1 Häufigkeit des klassischen Morbus Hirschsprung

Jahr	Männlich	Weiblich	Anzahl pro Jahr	(%)	Insgesamt untersuchte Kinder
1987	12	4	16	10,0	160
1988	14	2	16	12,5	128
1989	31	13	44	24,0	183
1990	26	13	39	19,3	202
1991	36	11	47	14,0	335
1992	33	5	38	11,1	343
1993	46	15	61	17,8	342
1994	51	8	59	14,4	408
1995	53	13	66	12,2	539
1996	38	5	43	7,8	545
1997	41	10	51	12,2	416
1998	35	9	44	15	293
1999	31	6	37	12,4	297
2000	33	6	39	13,0	300
2001	37	6	43	10,6	405
2002	26	3	29	6,1	473
2003	25	7	32	8,2	390
2004	18	7	25	10,7	233
2005	9	1	10	4,5	224
2006	28	2	30	7,5	399
Mittelwert	31,1	7,3	32	12,7	330
Gesamt	623	146	769	Mittel:11,6%	6615

opsien der Entnahmehöhe 1. Rektoanalgrenze (Linea dentata), 2. 2 cm und 3. 4 cm und 4. 8 cm oberhalb der Linea dentata in Eppendorfröhrchen verpackt auf Kohläsäureschnee eingesandt. Alle Biopsien wurden in Serienschritten aufgearbeitet und mit einer Acetylcholinesterase (AChE)-Reaktion zur Nervenfaserdarstellung gefärbt. Eine Lactat-Dehydrogenase (LDH)-, Succinat-Dehydrogenase (SDH)- und Nitroxid-Synthetase (NOS)-Reaktion diente zum Nervenzellnachweis des Plexus submucosus. Die Dehydrogenase-Darstellungen sind eine zweite, auf den Nervenzellnachweis des Plexus submucosus basierende Sicherung der Diagnose. Die Einführung von enzymhistochemischen Reaktions-Kits (Districhem, Hohlweg 25, CH 4104 Oberwil, E-Mail: districhem@bluewin.ch) haben zu einer erheblichen Reduzierung des Arbeitsaufwands geführt. Bei etwa einem Drittel der Hirschsprung-Diagnosen erhielten wir auch das Resektat des Rektosigmoids, welches kaudokranial aufgerollt geschnitten wurde [3].

Die Beurteilung der AChE-Reaktion erfolgte grundsätzlich am *nicht* mit Hämalun gegengefärbten Schnitt. Es wurden jeweils zwei AChE-Schnitte hergestellt, wobei einer der Schnitte mit einer Hämalun-Gegenfärbung nur der histologischen Orientierung diente.

Die zahlreichen konsiliarisch übersandten, in Paraffin eingebetteten Hirschsprung-Präparate wurden in der vorliegenden Statistik nicht berücksichtigt [19].

Ergebnisse

Die **Tab. 1, 2 und 3** zeigen die pro Jahr beobachteten Frequenzen einer Aganglionose. **Tab. 4** gibt eine Zusammenfassung der Ergebnisse. Es wurden pro Jahr im Mittel 330 Kinder mit einer therapieresistenten, chronischen Obstipation enzymhistochemisch mit einer AChE-Darstellung (**Abb. 1**) und 3 Dehydrogenase-Reaktionen anhand von Rektumschleimhautbiopsien untersucht. Die LDH-, SDH- und NOS-Reaktionen dienten der Nervenzelluntersuchung des Plexus submucosus bzw. der Bestätigung einer Aganglionose (**Abb. 2**). Andererseits können damit Anomalien des Plexus submucosus (neuronale Dysplasie, Gang-

Chirurg 2010 · 81:572–576 DOI 10.1007/s00104-010-1924-4
© Springer-Verlag 2010

E. Bruder · W. A. Meier-Ruge

Zwanzig Jahre diagnostisches Hirschsprung-Kompetenzzentrum in Basel

Zusammenfassung

Hintergrund. In vorliegendem Bericht werden die in 20 Jahren gesammelten Erfahrungen des Basler Hirschsprung-Kompetenzzentrums zusammengestellt.

Methodik. Zwischen 1987 und 2006 wurden 19.365 Rektumschleimhautbiopsien untersucht. Die Biopsien stammten von 6.615 Kindern mit chronischer Obstipation im Alter von einer Woche bis zu 4 Jahren. Die Biopsien wurden in Lehrkrankenhäusern in ganz Deutschland gewonnen und auf Trockeneis per Intercity-Kurierdienst nach Basel transportiert. Das gefrorene Gewebe wurde im Kryostaten in Serienschritten verarbeitet. An den Biopsien wurden enzymhistochemische Reaktionen durchgeführt.

Ergebnis. Insgesamt wurden in 20 Jahren 935 Morbus-Hirschsprung-Fälle (14%) diagnostiziert (769 klassische Hirschsprung-Erkrankungen, 68 totale Aganglionosen des Kolons, 98 ultrakurze Hirschsprung-Erkrankungen). Im Interesse einer Qualitätssicherung wurden alle Befunde durch einen zweiten unabhängigen Untersucher beurteilt. Es gab keine falsch-positiven oder falsch-nega-

tiven Diagnosen. Die Schnittpräparate waren innerhalb von 2 h nach Erhalt auswertbar. Eine Acetylcholinesterase-Reaktion diente der Darstellung der Nervenfasern, die bei Vorliegen eines Hirschsprungs charakteristisch erhöht ist. Succinat- und Lactat-Dehydrogenase sowie Nitroxid-Synthetase ermöglichten eine elektive Nervenzellfärbung des Plexus submucosus und dienten als zweite Bestätigung einer Aganglionose.

Schlussfolgerung. Von 100 chronisch obstitierten Kindern hatten im Mittel 12 eine Hirschsprung-Erkrankung. 2% der Kinder wiesen eine totale Kolonaganglionose oder einen ultrakurzen Hirschsprung auf. Die enzymhistochemische Hirschsprung-Diagnostik erwies sich als 100% zuverlässig und zeitsparend.

Schlüsselwörter

Morbus Hirschsprung · Epidemiologie · Acetylcholinesterase-Reaktion · Dehydrogenase-Reaktion · Enzymhistochemie · Histopathologie

Twenty years diagnostic competence center for Hirschsprung's disease in Basel

Abstract

Background. The experience gained by the Basel Hirschsprung Competence Center over 20 years is presented.

Materials and Methods. A total of 19,365 rectal mucosal biopsies were investigated in the 20 years between 1987 and 2006. All biopsies of rectal mucosa originated from 6,615 children aged between 1 week and 4 years. Biopsies were collected in teaching hospitals all over Germany and transported on dry ice by Intercity Courier Service. Serial sections of frozen tissue were made using a cryostat. Enzyme histochemical staining was performed.

Results. A total of 935 cases of Hirschsprung's disease (14%) were observed (769 cases of classical Hirschsprung's disease, 68 total colon aganglionosis, 98 ultrashort rectum aganglionosis). Total colon aganglionosis was found in 1.0% and the frequency of ultrashort Hirschsprung' disease was 1.4%. The quality of the histological results was confirmed by a second independent investigator. There were neither false positive nor

false negative diagnoses. Enzyme histochemical staining results were readable within 2 h. Acetylcholinesterase, which is significantly increased in Hirschsprung's disease, was used for nerve fiber staining. Succinic and lactic dehydrogenases and nitric oxide synthase served as confirmatory proof of aganglionosis (elective nerve cell staining of the submucous plexus).

Conclusion. Among 100 children with chronic constipation an average of 12 children were diagnosed with Hirschsprung's disease. Of these 2% showed total colon aganglionosis or ultrashort Hirschsprung's disease. Enzyme histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease proved 100% reliable and time saving.

Keywords

Hirschsprung's disease · Epidemiology · Acetylcholinesterase reaction · Dehydrogenase reaction · Enzyme histochemistry · Histopathology

Tab. 2 Häufigkeit einer totalen Kolonaganglionose

Jahr	Männlich	Weiblich	Anzahl pro Jahr	(%)	Insgesamt untersuchte Kinder
1987	1	2	3	1,8	160
1988	4	0	4	3,1	128
1989	0	2	2	1,1	183
1990	0	2	2	0,9	202
1991	1	3	4	1,1	335
1992	5	0	5	1,4	343
1993	2	1	3	0,8	342
1994	6	1	7	1,7	408
1995	1	1	2	0,4	539
1996	1	6	7	1,2	545
1997	1	1	2	0,4	416
1998	2	3	5	1,7	293
1999	4	0	4	1,3	297
2000	1	1	2	0,6	300
2001	4	1	5	1,2	405
2002	2	0	2	0,4	473
2003	0	1	1	0,2	390
2004	2	0	2	0,8	233
2005	1	1	2	0,9	224
2006	2	2	4	1,0	399
Mittelwert	2	1,4	3,4	0,91	330
Gesamt	40	28	68		6615

Tab. 3 Häufigkeit eines ultrakurzen Morbus Hirschsprung

Jahr	Männlich	Weiblich	Anzahl pro Jahr	(%)	Insgesamt untersuchte Kinder
1987	0	0	0	0	160
1988	2	0	2	1,6	128
1989	5	0	5	2,7	183
1990	5	1	6	2,9	202
1991	4	1	5	1,4	335
1992	7	4	11	3,2	343
1993	4	1	5	1,4	342
1994	1	7	8	1,9	408
1995	2	0	2	0,4	539
1996	7	7	14	2,5	545
1997	3	4	7	1,6	416
1998	2	1	3	1,0	293
1999	2	2	4	1,4	297
2000	4	1	5	1,6	300
2001	1	2	3	0,7	405
2002	3	1	4	0,8	473
2003	2	3	5	1,2	390
2004	4	2	6	2,5	233
2005	1	0	1	0,4	224
2006	1	1	2	0,5	399
Mittelwert	3	1,9	4,0	1,2	330
Gesamt	69	38	98		6615

lioneuromatose, Reifungsrückstand des Plexus submucosus) diagnostiziert werden. Die Anzahl der untersuchten Biopsien betrug pro Jahr 992.

Innerhalb von 20 Jahren wurden 19.365 Biopsien enzymhistochemisch beurteilt. 11,6% der untersuchten Kinder wiesen eine Aganglionose im Sinne eines klassischen Morbus Hirschsprung auf (■ Tab. 1), 3

Tab. 4 Zusammenfassung der im Zeitraum von 20 Jahren diagnostizierten Aganglionosen bei chronisch obstipierten Kindern

Insgesamt untersuchte Kinder mit therapieresistenter, chronischer Obstipation pro Jahr (entspricht 6615 Kinder in 20 Jahren)	330
Mittlere Anzahl untersuchter nativer Biopsien pro Jahr	992
Insgesamt diagnostizierte Hirschsprung-Erkrankungen	769 (11,6%)
Anzahl totaler Kolonaganglionosen	68 (1,0%)
Anzahl ultrakurzer Hirschsprung-Erkrankungen	98 (1,4%)
Insgesamt diagnostizierte Aganglionosen	935 (14,1%)

Patienten (0,9%) zeigten pro Jahr im Mittel eine totale Aganglionose des Kolons und 4 Patienten (1,2%) hatten im Mittel pro Jahr einen ultrakurzen Morbus Hirschsprung (■ Tab. 2, 3). Die Tabellen lassen die jährliche Variabilität von Kolonaganglionosen erkennen. Im Interesse einer institutsinternen Qualitätssicherung wurden alle Befunde durch einen zweiten unabhängigen Untersucher beurteilt.

Das charakteristische Bild einer Hirschsprung-Erkrankung in einer AChE-Reaktion zeigt ■ Abb. 1. Anhand von Dehydrogenase-Darstellungen des Plexus submucosus konnte die Diagnose einer Aganglionose des Plexus submucosus (■ Abb. 2) gesichert werden. Eine SDH-Reaktion erlaubt im Vergleich zur NOS- und LDH-Reaktion den Reifegrad der Nervenzellen des Plexus submucosus abzuschätzen.

Diskussion

Die Anzahl der diagnostizierten Hirschsprung-Erkrankungen ist von den diagnostischen Prinzipien der verschiedenen Kliniken abhängig. Es gibt Kliniken, die alle therapieresistenten Obstipationen bioptisch untersuchen lassen, während andere Kliniken nur Biopsien der Rektumschleimhaut entnehmen, wenn ein offensichtlicher Verdacht einer Hirschsprung-Erkrankung besteht. Trotzdem hat sich in unserem Einsendegut die jährlich Frequenz von 14% Aganglionosen als relativ konstant erwiesen (■ Tab. 1, 2, 3, 4).

Abb. 1 ▶ **a** Rektumschleimhaut bei Morbus Hirschsprung mit massiv gesteigerter Acetylcholinesterase-Aktivität in den Nervenfasernetzen der Lamina propria mucosae und Muscularis mucosae. **b** Rektumschleimhaut mit normaler Acetylcholinesterase-Aktivität der Nervenfasernetze der Kolonmukosa. AChE-Reaktion ohne Gegenfärbung, Vergr. 1:100

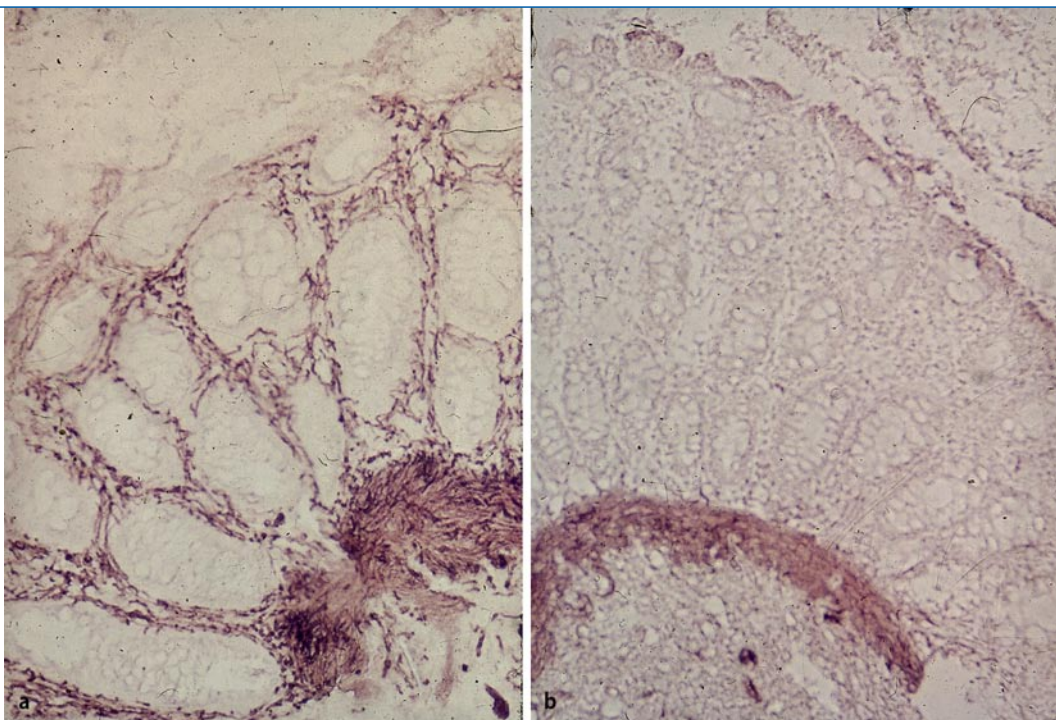
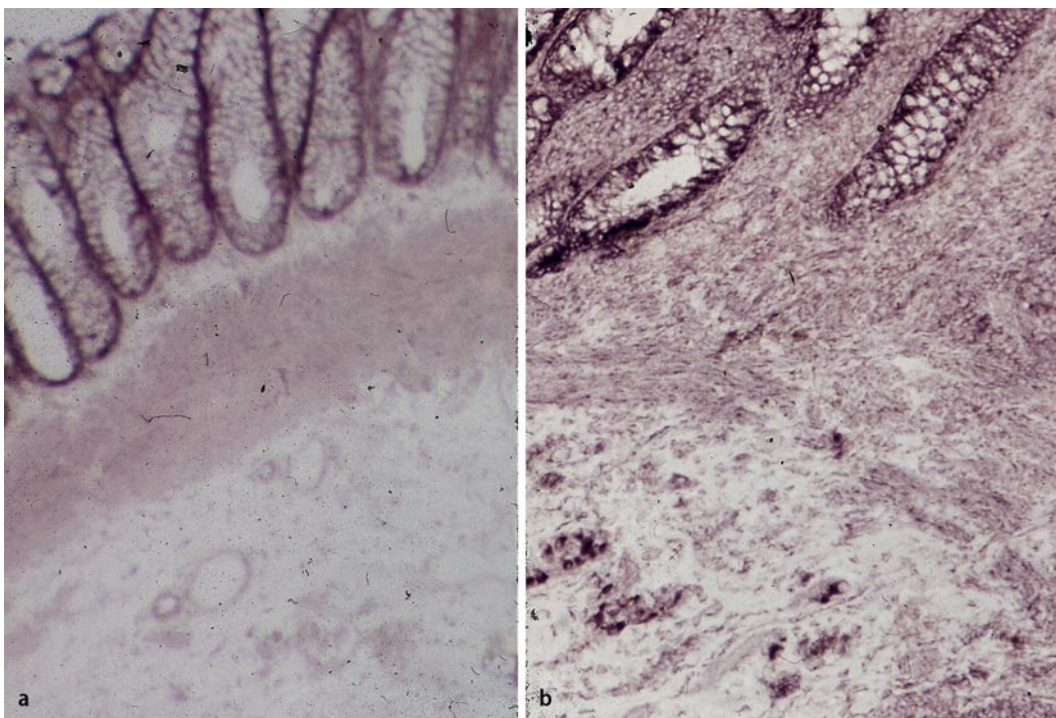


Abb. 2 ▶ **a** Aganglionose des Plexus submucosus. **b** Normaler ganglienreicher Plexus submucosus. Lactat-Dehydrogenase-Reaktion, Vergr. 1:150



In den Jahren 1965 bis 1974 lag die Frequenz diagnostizierter Aganglionosen, bei einer Anzahl von 354 untersuchten Kindern mit chronischer Obstipation, bei 28,8%. Diese Zahl reduzierte sich in der Dekade 1975 bis 1984 auf 20,7% [12]. Im Vergleich zu diesen Werten hat die Frequenz der Hirschsprung-Erkrankungen im vorliegenden Krankengut weiter abgenommen; dies dürfte aber sehr wahr-

scheinlich der aktuellen Realität entsprechen. Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass Hypoganglionosen [4, 25], intestinale neuronale Dysplasien [5, 16, 21] und Reifungsrückstände des enteralen Nervensystems [14] oft mit einem dem Hirschsprung ähnlichen Krankheitsbild einhergehen können und einen Teil der 86% Biopsien ohne Zeichen einer Aganglionose betreffen, aber an Schleim-

hautbiopsien (Hypoganglionose) [4] oft nicht diagnostisch beweisbar sind.

In diesem Zusammenhang muss erwähnt werden, dass der ultrakurze Morbus Hirschsprung mit der klassischen Paraffintechnik in der Hämalaun-/Eosinfärbung oder immunhistochemisch diagnostisch nicht an Schleimhautbiopsien ohne Weiteres zu erfassen ist [6, 12, 13, 14, 15]. Für die Diagnose eines ultrakurzen

Hirschsprung (1–4 cm proximal der Linea dentata) hat sich die Enzymhistochemie als diagnostische Methode der Wahl erwiesen.

Schlussfolgernd zeigt sich, dass in unserem untersuchten Krankengut 14 von 100 chronisch obstipierten Kindern eine Aganglionose des Kolons aufwiesen.

Fazit für die Praxis

Die enzymhistochemische Untersuchung nativer Biopsien der Rektummukosa bildet den Goldstandard in der histopathologischen Diagnostik des Morbus Hirschsprung. Mithilfe der Acetylcholinesterase-Reaktion lässt sich am *nicht* gefärbten Schnitt das charakteristische Bild der Aganglionose in der Rektumschleimhaut darstellen (Abb. 1). Mittels Succinat-Dehydrogenase-, Lactat-Dehydrogenase- und Nitroxid-Synthetase-Reaktionen wurde zusätzlich zur Sicherung der Diagnose eine Nervenzell Darstellung (bzw. Aganglionose) des Plexus submucosus (Abb. 2) durchgeführt. Letztere Reaktionen erlauben zusätzlich Anomalien des Plexus submucosus zu diagnostizieren (intestinale neuronale Dysplasie B, Ganglioneuromatose, Unreife der Nervenzellen). Mit enzymhistochemischen Reaktions-Kits (Districhem@bluewin.ch) lässt sich der Arbeitsaufwand massiv reduzieren.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. W. A. Meier-Ruge
 Institut für Pathologie, Hirschsprung Labor,
 Oberwilerstrasse 12,
 4103 Bottmingen/BL, Schweiz
 meier-ruge@bluewin.ch

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Bagdzevicius R, Vaicekaskas V, Bagdzeviciute S (2007) Experience of acetylcholinesterase histochemistry application in the diagnosis of chronic constipation in children. *Medicina (Kaunas)* 43:376–384
2. Bruder E (2007) Gastrointestinale Motilitätsstörungen. *Pathologie* 28(2):92–169
3. Bruder E, Knecht Y, Kasper M, Chaffard R et al (2007) Enzymhistochemische Diagnostik gastrointestinaler Motilitätsstörungen. Ein Laborleitfaden. *Pathologie* 28:93–100
4. Bruder E, Meier-Ruge WA (2007) Hypoganglionose als Ursache chronischer Obstipation. *Pathologie* 28:131–136
5. Bruder E, Meier-Ruge WA (2007) Intestinale neuronale Dysplasie Typ B. *Pathologie* 28:137–142
6. Bruder E, Terracciano LM, Passarge E, Meier-Ruge WA (2007) Enzymhistochemie des klassischen und des ultrakurzen Morbus Hirschsprung. *Pathologie* 28:105–112
7. Goldberg EL (1984) An epidemiological study of Hirschsprung's disease. *Int J Epidemiol* 13:479–485
8. Heitz PU, Komminoth P (1990) Biopsy diagnosis of Hirschsprung's disease and related disorders. *Curr Top Pathol* 81:257–275
9. Martucciello G, Pini Prato A, Puri P et al (2005) Controversies concerning diagnostic guidelines for anomalies of the enteric nervous system: a report from the fourth international symposium on hirschsprung's disease and related neurocristopathies. *J Pediatr Surg* 40:1527–1531
10. Meier-Ruge W (1968) Das Megacolon. Seine Diagnose und Pathophysiologie. *Virchows Arch Abt A Pathol Anat* 344:67–85
11. Meier-Ruge W (1974) Hirschsprung's disease: its aetiology, pathogenesis and differential diagnosis. *Curr Top Pathol* 59:131–179
12. Meier-Ruge W (1985) Der ultrakurze Morbus Hirschsprung. *Z Kinderchir* 40:146–150
13. Meier-Ruge W (1992) Epidemiology of congenital innervation defects of the distal colon. *Virchows Arch Abt A Pathol Anat* 420:171–177
14. Meier-Ruge WA, Bruder E (2005) Pathology of chronic constipation in pediatric and adult coloproctology. *Pathobiology* 72:1–106
15. Meier-Ruge WA, Bruder E (2005) Histopathology of ultrashort Hirschsprung's disease and aganglionic musculus corrugator cutis ani. *Pathobiology* 72:26–29
16. Meier-Ruge WA, Bruder E (2005) Intestinal dysplasia of submucous plexus. *Pathobiology* 72:49–58
17. Meier-Ruge WA, Bruder E (2005) Methodology of enzyme histochemistry in coloproctological motility disorders. *72:91–99*
18. Meier-Ruge WA, Bruder E (2005) Preparation of cryostat sections from biopsies and colorectal specimens. *Pathobiology* 72:93–94
19. Meier-Ruge WA, Bruder E (2007) Konventionelle histologische Diagnostik in der Koloproktologie. *Pathologie* 28:101–104
20. Meier-Ruge WA, Bruder E (2008) Current concepts of enzyme histochemistry in modern pathology. *Pathobiology* 75:233–243
21. Meier-Ruge WA, Bruder E, Kapur RP (2006) Intestinal neuronal dysplasia typ B. *Ped Develop Pathol* 9:444–452
22. Russell MB, Russell CA, Niebuhr E (1994) An epidemiological study of Hirschsprung's disease and additional anomalies. *Acta Paediatr* 83:68–71
23. Ryan ET, Ecker JL, Christakis NA, Folkman J (1992) Hirschsprung's disease: associated abnormalities and demography *J Pediatr Surg* 27:76–81
24. Suita S, Taguchi T, Teiri S, Nakatsuji T (2005) Hirschsprung's disease in Japan: analysis of 3852 patients based on a nationwide survey in 30 years. *J Pediatr Surg* 40:197–201
25. Tomita R, Munakata K, Howard ER, Fujisaki S (2004) Histological studies on Hirschsprung's disease and its allied disorders in childhood. *Hepatogastroenterology* 51:1042–1044

➤ Exklusiv für Abonnenten :

Nutzen Sie das Online-Archiv von Der Chirurg

Ihre Vorteile:

- Komfortable und schnelle Recherche nach Themen, Autoren, Suchbegriffen
- Ob unterwegs oder am eigenen PC: Zugriff überall und jederzeit
- Online First: Lesen Sie die aktuellsten Beiträge schon vor Erscheinen des gedruckten Heftes online



Foto: pressmaster, fotolia.com

Registrieren Sie sich jetzt unter

www.DerChirurg.de