

## Artículo de revisión

# Problemas en el diagnóstico histopatológico de la enfermedad de Hirschsprung

Dra. Cecilia Ridaura Sanz

### Introducción

La mayoría de las consultas externas de biopsias de colon y recto que se reciben en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Pediatría se refieren a problemas en el diagnóstico histopatológico de enfermedad de Hirschsprung (EH). Dado que este método es el que se considera indispensable para comprobar o descartar esta entidad, existe una gran preocupación tanto entre cirujanos pediatras como entre patólogos de que el diagnóstico sea confiable y cierto. Hay varias situaciones que dificultan la precisión en el diagnóstico histopatológico y es preciso conocer aquellas condiciones que entorpecen la adecuada interpretación de la biopsia así como conocer las condiciones ideales para su estudio.

### Antecedentes

El diagnóstico de enfermedad de Hirschsprung se inicia con la sospecha clínica de la enfermedad ante un paciente con constipación crónica neonatal que progresa hacia la dilatación del intestino afectado con una zona distal de constricción demostrada a través de estudios radiológicos. El diagnóstico se confirma con el estudio histopatológico.

Este procedimiento permite excluir la enfermedad o confirmarla y constituye el "estándar de oro" requerido antes de practicar una cirugía correctiva. Histológicamente la EH se caracteriza por ausencia localizada y continua de células ganglionares parasimpáticas en los plexos nerviosos entéricos del intestino distal, frecuentemente acompañada de troncos nerviosos grandes hipertróficos y tortuosos.

\* Especialista en Anatomía Patológica. Investigador Titular "C". Instituto Nacional de Pediatría

Correspondencia: Dra. Cecilia Ridaura Sanz. Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700-C. Col. Insurgentes Cuicuilco. México D.F. 04530

Recibido: marzo, 2003. Aceptado: abril, 2003.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

El sistema nervioso enteral comprende tres plexos nerviosos:

- el de Meissner situado inmediatamente por debajo de la mucosa (submucoso superficial);
- el de Henle situado en las cercanías de la capa muscular (submucoso profundo);
- el de Auerbach situado entre las dos capas del músculo (longitudinal y circular) de la muscularis propia.

Los plexos nerviosos son estructuras fibrilares formadas por células ganglionares (neuronas) y células gliales especializadas de sostén. Existen dos técnicas histomorfológicas para evaluar la patología de los plexos mientéricos: 1. Histología con técnica de rutina. 2. Histoquímica.

1. La técnica histológica de rutina es la técnica tradicional y requiere una muestra adecuada, bien orientada y sobre todo, experiencia del patólogo para identificar las células ganglionares. El tejido se fija en formol, se incluye en parafina y los cortes se tiñen con hematoxilina y eosina; en ocasiones se apoya con técnicas tricómicas. Esta técnica es la más usada y al alcance de cualquier laboratorio de patología institucional o privado.

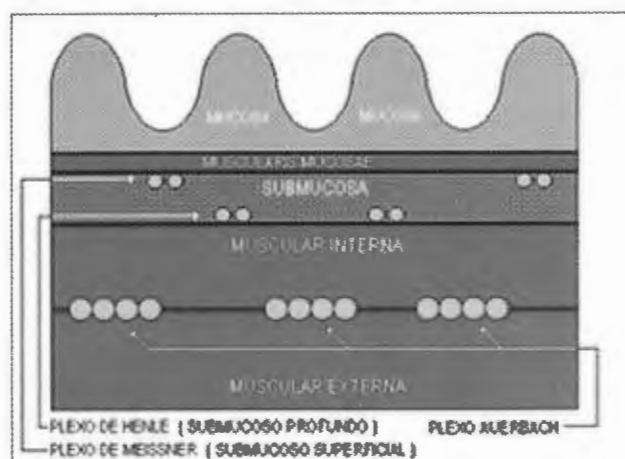


Figura 1. Esquema de la pared intestinal que muestra la ubicación y denominación de los plexos mientéricos.

2. Las técnicas histoquímicas son de dos tipos, las que se utilizan para facilitar la identificación de las células ganglionares y la histoquímica enzimática para detección de acetilcolinesterasa. Los marcadores específicos para células ganglionares más usados son neurofilamentos, proteína S-100 y enolasa neurona-específica. Estas técnicas pueden utilizarse complementando el estudio histológico de rutina mencionado anteriormente; sin embargo, los resultados con estas tinciones no siempre son claros; incrementan considerablemente los costos y en la mayoría de las ocasiones son innecesarias. La reacción histoquímica para acetilcolinesterasa requiere tejido congelado, por lo que a pesar de su indiscutible valor su uso está limitado. Esta enzima se encuentra aumentada en el colon agangliónico en forma de fibras gruesas tanto en la muscularis mucosae como en la lámina propia. Tiene la ventaja de que es un indicador funcional de la actividad neuronal, requiere menos tejido y no es necesaria la identificación de las neuronas. La principal desventaja son las dificultades técnicas que limitan su aplicación. Este estudio puede dar falsos negativos particularmente en recién nacidos, por lo que siempre debe acompañarse de procedimientos histológicos de rutina con tinciones de hematoxilina y eosina que sigue siendo el mejor recurso.

**Problemas en el diagnóstico de la enfermedad de Hirschsprung**

**I. Características de la muestra**

El fragmento de tejido para el diagnóstico histológico de EH puede obtenerse a través de:

- a) biopsia incisional transmural de recto por vía anal,
- b) biopsia incisional transmural de recto por laparotomía,
- c) biopsia submucosa por succión con pistola,
- d) biopsia submucosa con pinza por endoscopia.

La biopsia de espesor total o transmural (a y b) incluye tanto los plexos submucosos como los plexos mientéricos y tiene las siguientes ventajas:

1ª El fragmento es grande, de 0.5 a 1 cm de largo, lo cual facilita la orientación en cortes perpendiculares a la mucosa y puede evaluarse un número mayor de plexos tanto submucosos como en el espesor de la capa muscular.

2ª La mayoría de los patólogos están más familiarizados con el análisis de estas secciones que con las obtenidas por la biopsia por succión.

3ª Las células ganglionares de los plexos mientéricos son más grandes, más maduras y más numerosas que las de los plexos submucosos.

La desventaja es que requiere anestesia general y hay un poco más de morbilidad.

La biopsia submucosa tiene las siguientes ventajas:

1ª Es un procedimiento sencillo, indoloro; se puede hacer con las mismas instalaciones para cualquier examen endoscópico.

2ª No requiere anestesia general.

3ª Las complicaciones son prácticamente inexistentes.

4ª Se pueden obtener varios fragmentos a diferentes niveles.

5ª Puede repetirse cuantas veces sea necesario.

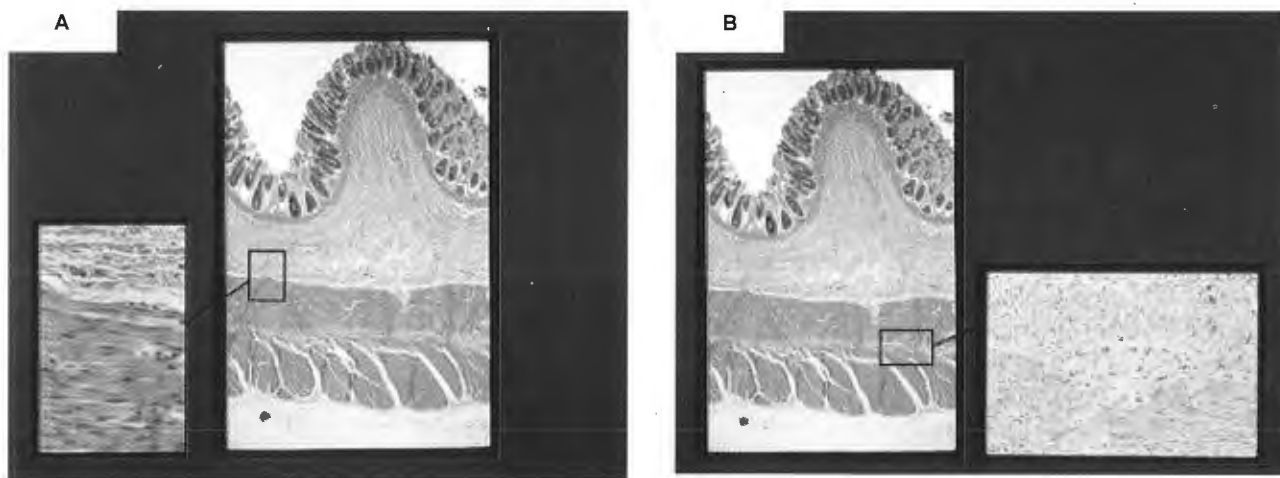


Figura 2. Corte histológico de la pared del colon normal (biopsia transmural). A. Inserto: Neuronas del plexo submucoso profundo. B. Inserto: Neuronas del plexo de Auerbach.



**Figura 3.** Plexo mientérico de Auerbach normogangliónico.

Tiene las siguientes desventajas:

1ª Es un fragmento pequeño (2 a 3 mm de longitud) y solamente los plexos submucosos están disponibles para evaluar.

2ª Es frecuente que la biopsia sea muy superficial y no contenga submucosa.

3ª La orientación es difícil, lo que ocasiona cortes oblicuos o paralelos a la mucosa.

4ª Los plexos submucosos son más espaciados y la presencia de folículos linfoides reduce considerablemente el área a evaluar.

5ª Las células ganglionares en los plexos submucosos son más escasas, pequeñas y más difíciles de identificar.

A pesar de eso y con el conocimiento de sus limitaciones, en la actualidad la gran mayoría de los gastroenterólogos y cirujanos pediatras utilizan la biopsia endoscópica por succión. Para lograr los mejores resultados se recomienda la siguiente técnica:

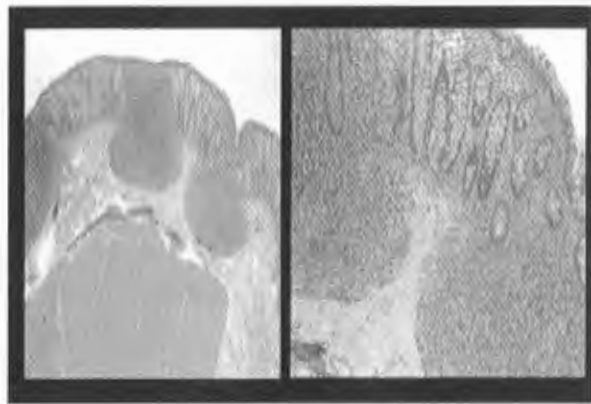
a) Tomar por lo menos dos fragmentos de mucosa y submucosa colónica (por succión o por pellizcamiento) de la zona de constricción y siempre por arriba de la línea pectínea.

b) Colocar los fragmentos en cartón con la mucosa hacia arriba para facilitar la orientación ulterior.

c) Congelar uno de los fragmentos para permitir estudio ulterior con acetilcolinesterasa.

d) Fijar otro fragmento en formol e incluirlo en parafina orientado de tal suerte que los cortes sean perpendiculares a la superficie mucosa.

e) Preparar cortes seriados y examinar uno de cada 5 o 10 en busca de células ganglionares en los plexos submucosos.



**Figura 4.** Biopsia submucosa con nódulos linfoides hipertróficos que interfieren con la visualización de los plexos.

## II. Manejo de la biopsia

Como se señaló anteriormente, el estándar de oro y la técnica habitual es el examen histológico de cortes en parafina y teñidos con hematoxilina y eosina. Sin embargo, las técnicas auxiliares pueden complementar este estudio y en ocasiones son indispensables para establecer un diagnóstico preciso. Esto es particularmente importante en el diagnóstico de displasia neuronal, hipoganglionosis, etc.

El uso de acetilcolinesterasa en el protocolo diagnóstico de la EH es tema de controversia. La mayoría de las opiniones coincide en señalar que esta técnica NO es indispensable para el diagnóstico de gran parte de los casos con constipación crónica y en particular en casos obvios de enfermedad de Hirschsprung. Nadie niega su utilidad para casos muy especiales como los trastornos de la motilidad intestinal No-Hirschsprung. La demostración de acetilcolinesterasa requiere al menos hasta este momento, tejidos frescos. Es una técnica histoquímica que tiñe las fibras colinérgicas. Su actividad está aumentada en la EH expresándose en fibras gruesas y tortuosas en la muscularis mucosae que se extienden a la lámina propia. Esta morfología permite sugerir el diagnóstico aun en biopsias muy pequeñas y superficiales y no es necesario visualizar los plexos. Estas características han propiciado, indebidamente, que el diagnóstico sea realizado por técnicos en histoquímica y no por patólogos, ya que consideran que no son necesarios para la interpretación histológica. A pesar de su indiscutible utilidad sólo se usa en algunos centros hospitalarios por las siguientes razones:

1ª El tejido debe procesarse en congelación casi inmediatamente después de su obtención, lo cual requiere que sea un procedimiento programado con la coordinación del médico tratante y el patólogo.

2ª Es difícil estandarizar la técnica y no es confiable en los laboratorios que la realizan en forma esporádica porque además de experiencia técnica se requieren controles actualizados dado que la actividad de la enzima se pierde.

3ª La interpretación de los patrones de inervación es subjetiva y requiere experiencia.

4ª Existen falsos positivos como sucede en casos de inflamación en los que puede haber un patrón de inervación "exagerado".

5ª Existen falsos negativos: en recién nacidos prematuros con EH, la actividad de acetilcolinesterasa no está incrementada y lo mismo sucede en la EH de segmento largo o en los casos raros donde la actividad de acetilcolinesterasa es focal.

### III. Interpretación de la biopsia

El diagnóstico histológico de EH se basa en la ausencia de células ganglionares en los plexos submucosos frecuentemente acompañada de troncos nerviosos hipertróficos. El diagnóstico definitivo debe realizarse cuando se cuenta con todos los marcadores morfológicos. Por supuesto que se requiere que el examen histológico sea practicado por patólogos familiarizados con esta patología y dentro de un grupo multidisciplinario que conozca las bondades y limitaciones de la técnica y la ubica-

ción de la misma dentro del protocolo diagnóstico del niño con constipación.

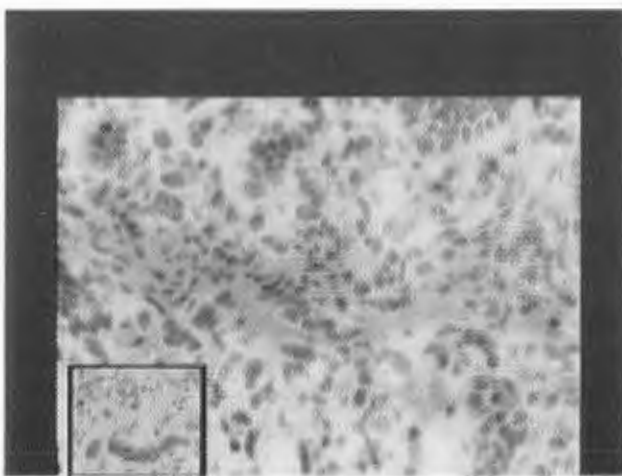
El informe del patólogo debe señalar las características del tejido en cuanto al tamaño, espesor de la submucosa, orientación y número de secciones examinadas, para ponderar el valor del diagnóstico presunto.

#### *Errores de interpretación.*

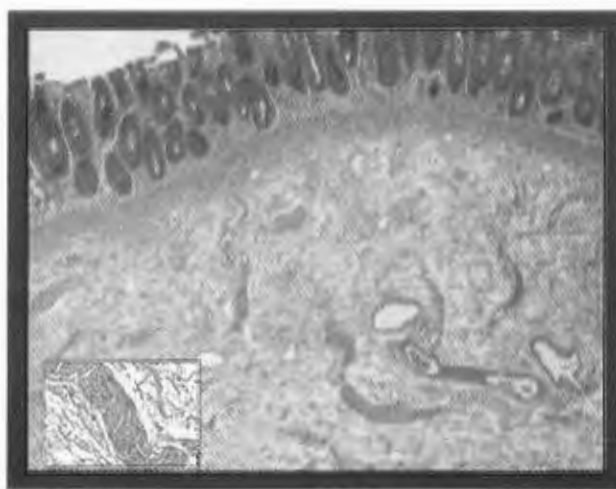
**Falsos positivos.** Se diagnostica enfermedad de Hirschsprung cuando No es. Esto ocurre cuando hay células ganglionares y el patólogo no las reconoce o son muy escasas. Puede presentarse en hipoganglioneosis o cuando la muestra es pequeña y el muestreo ha sido insuficiente o en recién nacidos con células inmaduras o plexos poco celulares. En estos casos debe cortarse el tejido hasta agotarlo; se puede recurrir a técnicas histoquímicas para identificar las células ganglionares y se debe prestar atención a la presencia o no de troncos nerviosos hipertróficos. En caso de que se considere el material inadecuado o insuficiente se debe solicitar una nueva biopsia. Recordar siempre que es más fácil descartar enfermedad de Hirschsprung que diagnosticarla.

**RIESGO.** Que el cirujano efectúe cirugía correctiva sin tener la confirmación del diagnóstico.

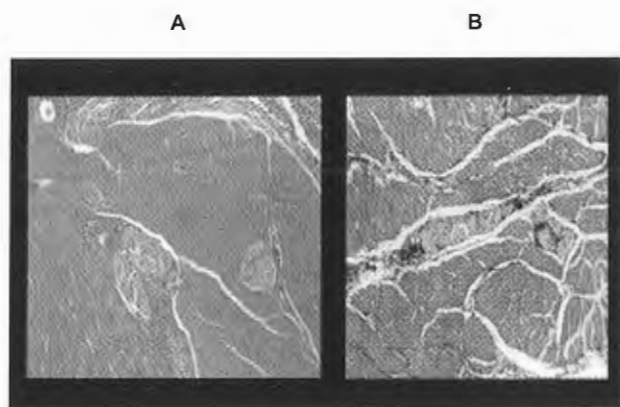
**Falsos negativos.** Se dice que No es enfermedad de Hirschsprung cuando Sí es. Esta situación es menos frecuente y ocurre cuando el patólogo confunde células del estroma o endoteliales con células ganglionares y cuando no se encuentran troncos nerviosos prominentes. La consecuencia de este error es que demora el tratamiento adecuado.



**Figura 5.** Enfermedad de Hirschsprung. Acetilcolinesterasa fibras teñidas de color café en submucosa y lamina propia. Inserto: Fibra gruesa con incremento de actividad de acetilcolinesterasa.



**Figura 6.** Enfermedad de Hirschsprung. Troncos nerviosos tortuosos hipertróficos en la submucosa.



**Figura 7.** Enfermedad de Hirschsprung. Troncos hipertróficos en la muscular. A. Hematoxilina y Eosina B. Tricrómico de Masson.

#### IV. Formas especiales de EH

Algunas variantes de la EH tienen características histológicas diferentes a la forma clásica.

**EH de segmento ultracorto.** En este tipo de enfermedad están afectados el tercio distal del recto y el canal anal. El diagnóstico se establece por la clínica y los estudios de manometría. No se requiere el diagnóstico histológico en casos de EH de segmento ultracorto ya que normalmente las células ganglionares son escasas por debajo de la línea pectínea. Sin embargo, en los casos que no tienen este tipo de EH, siempre es posible encontrar células ganglionares a una distancia de 1 a 1.5 cm de la línea pectínea. Es importante que antes del tratamiento quirúrgico se haya descartado por biopsias el diagnóstico de EH clásica con muestreo de recto sigmoides. El tejido debe considerarse inadecuado si hay epitelio plano estratificado escamoso que corresponde a la mucosa anal.

**EH de segmento largo.** En esta variedad, cuando sólo se examina la porción rectal, no se encuentran troncos hipertróficos.

**EH en recién nacidos prematuros.** Estos casos requieren mucha experiencia ya que la morfología de las neuronas puede ocasionar errores de interpretación diagnóstica. En este grupo de edad, las células ganglionares son formas intermedias entre los neuroblastos apolares y las formas maduras de neuronas ganglionares bipolares. Son pequeñas, ovoides con ocasionales pequeños nucléolos y muy escaso citoplasma; pueden confundirse con células endoteliales, células musculares y aun células inflamatorias. En estos casos, es conveniente utilizar de téc-

nicas histoquímicas con S-100 y marcadores neuronales para identificarlas en caso de duda.

#### V. El diagnóstico transoperatorio

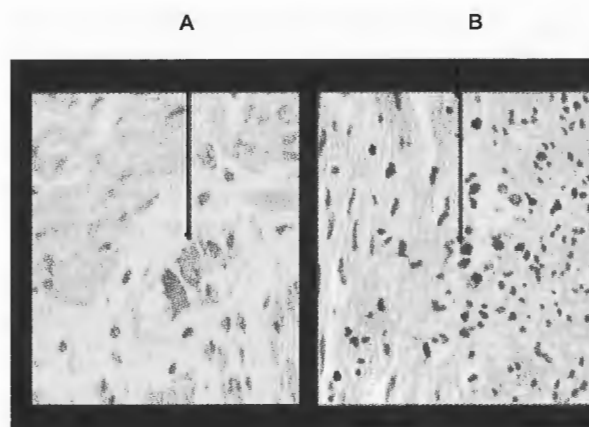
Este estudio debe limitarse a casos de EH corroborados para decidir el sitio de la colostomía o para corroborar el sitio normogangliónico durante la cirugía correctiva.

El diagnóstico de EH en tejidos obtenidos durante el acto quirúrgico y procesados en técnicas de congelación no debe realizarse como procedimiento primario, ya que las secciones que se obtienen en tejidos congelados son más gruesas, con artificios de corte y tinción y nunca tienen la misma calidad que los procesados fijados en formol e incluidos en parafina. Los cortes suelen teñirse con HE o con azul de Toluidina. Debe tenerse precaución con las zonas hipogangliónicas cercanas a las áreas agangliónicas, lo cual puede repercutir ulteriormente en el funcionamiento del segmento descendido. Se ha recomendado el uso de técnicas rápidas de acetilcolinesterasa para evitar este problema.

Los estudios transoperatorios por congelación en biopsias endoscópicas por succión no están indicados y son innecesarios dadas las ventajas señaladas anteriormente en el estudio tradicional de tejidos incluidos en parafina.

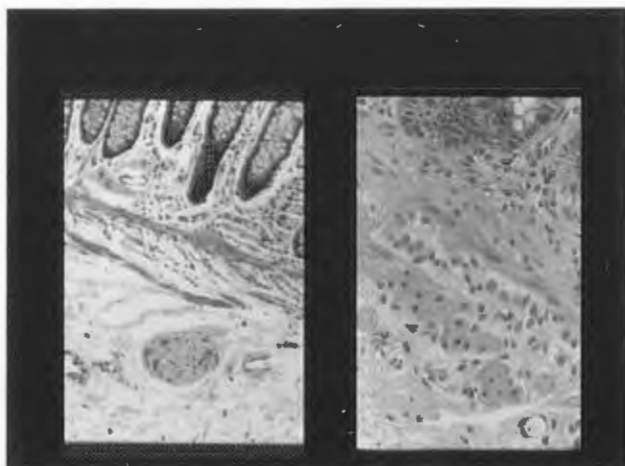
#### VI. El diagnóstico de otros problemas de motilidad intestinal No-Hirschsprung

Existe otro tipo de alteraciones de la inervación y motilidad intestinal que pueden simular y coexistir con la EH. Las más comunes, dentro de su rareza, son la hipoganglionosis y la displasia neuronal intestinal.



**Figura 8.** Neuronas de los plexos mientéricos. A. Neuronas maduras con abundante citoplasma y núcleo excéntrico con nucléolo prominente. B. Neuronas inmaduras pequeñas de núcleo central con cromatina densa.





**Figura 9.** Displasia neuronal intestinal. Ganglios grandes hipergangliónicos y neuronas ectópicas en lámina propia.

**Hipoganglioneosis.** Existe escasa información de esta entidad dada la dificultad diagnóstica. El cuadro clínico es muy similar a EH: constipación desde el nacimiento y distensión progresiva del colon. Muchos casos de hipoganglioneosis están asociados a EH clásica y otros a displasia neuronal intestinal. La forma pura es muy rara. El diagnóstico requiere biopsia transmural de espesor total. Los plexos mientéricos son escasos, pequeños con una o dos neuronas. Hay hipertrofia de la muscularis mucosae y de la circular interna. A diferencia de la EH la actividad de la acetilcolinesterasa en lámina propia es baja o ausente.

**Displasia neuronal intestinal (DNI).** Se han descrito dos formas. Tipo A, muy rara; ocurre en menos del 5% de los casos. Se caracteriza por aplasia congénita de la inervación simpática intestinal. Se presenta en forma aguda en el recién nacido con episodios de obstrucción intestinal, diarrea y enterorragia.

**Tipo B.** Tiene un cuadro clínico similar a la EH y es una malformación de los plexos parasimpáticos submucosos y mientéricos. Los criterios histológicos para diagnosticar esta enfermedad son: hiperplasia del plexo submucoso con aumento en el número de neuronas por plexo (>7) y aumento en el número de plexos (hiperganglioneosis); aumento de la actividad de acetilcolinesterasa con fibras positivas gruesas alrededor de los vasos de la submucosa y en lámina

propia y heterotopia neuronal ya sea en el espesor de la lámina propia o en la muscularis mucosae. La displasia neuronal intestinal suele asociarse a otras anomalías (30% de los casos) y las más frecuentes son malformaciones gastrointestinales tales como malrotación, intestino corto congénito, estenosis del píloro, atresia intestinal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Reyes-Múgica M, Ponce Camacho MA. Enfermedad de Hirschsprung: diagnóstico anatomopatológico y patogenia. *Patología* 1998;36:157-63
2. De la Torre Mondragón L, Ridaura Sanz C, Gutiérrez Castellón P. Enfermedad de Hirschsprung. Factores que influyen en la evolución postoperatoria. *Acta Pediatr Mex* 1999;20:82-7
3. Smith VV. Intestinal neuronal density in childhood: a baseline for objective assessment of hypo and hyperganglioneosis. *Pediatr Pathol* 1993;13:225-33
4. Qualman SF, Murria R. Aganglioneosis and related disorders. *Hum Pathol* 1994;25:1141-9
5. Qualman SF, Psyche T, Scahuer G. Hirschsprung disease: differential diagnosis and sequelae. *Perspec Pediatr Pathol* 1997;20:111-26
6. Galvis DA, Yunis EJ. Comparison of neuropeptide Y, protein gene product 9.5 and acetylcholinesterase in the diagnosis of Hirschsprung disease. *Pediatr Pathol Lab Med* 1997;17:413-25
7. Abu-Alfa AK, Juanm S, West AB, Reyes Múgica M. Cathepsin D in intestinal ganglion cells: a potential aid to diagnosis in suspected Hirschsprung disease. *Am J Surg Pathol* 1997;21:201-5
8. Kobayashi H, Obriab S, Hirakawa Puri P. A rapid technique of acetylcholinesterase staining. *Pathol Lab Med* 1994;118:1127-9
9. Schofield DE, Yunis EJ. What is intestinal neuronal dysplasia? *Pathol Ann* 1991;21:249-62
10. Csury L, Peña A. Intestinal neuronal dysplasia. Myth or reality? *Literature Review Pediatr Suer Int* 1995;10:441-6
11. Athow AC, Drake DP. Problems and advantages of acetylcholinesterase histochemistry of rectal suction biopsies in the diagnosis of Hirschsprung disease. *J Pediatr Surg* 1990;25:520-6
12. Ure BM, Holschneider M, Meier-Ruge W. Neuronal intestinal malformation: A retro and prospective study on 203 patients. *Eur J Pediatr Surg* 1994;4:279-86
13. Scharli AF, Sossai R. Hypoganglioneosis *Seminars in Pediatric Surgery*. 1998;7:187-91
14. Gillick J, Tazawa H, Puri P. Intestinal neuronal dysplasia: Results of treatment in 33 patients. *J Ped Surg* 2001;26:777-9
15. Martucciello G, Torre M, Pini Prato A, y cols. Associated anomalies in intestinal neuronal dysplasia. *J Pediatr Surg* 2002;37:219-23