

Hirschsprung sykdom

En standardisert prosedyre for suspekterte colonbiopsier

Hirschsprung sykdom er en sjelden barnesykdom forårsaket av manglende ganglioceller i tarmen. På OUS Ullevål benyttes en standardisert prosedyre for prosessering av Hirschsprung-suspekterte colonbiopsier.

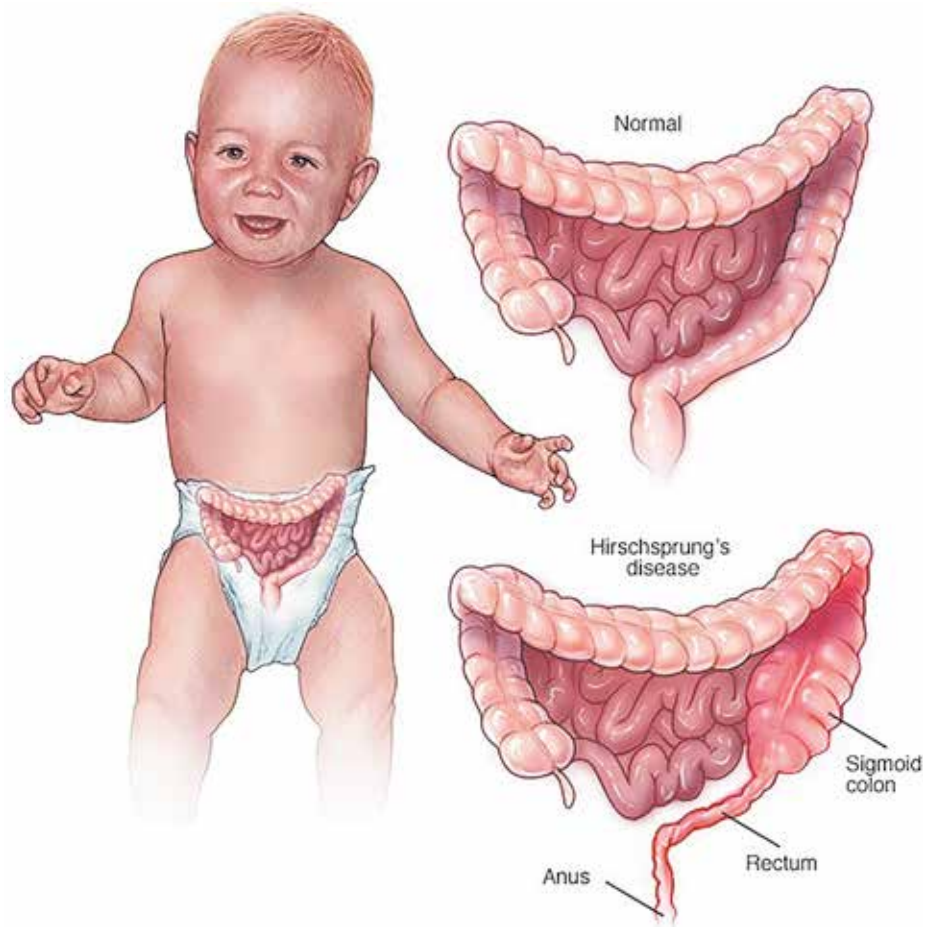
Av Amalie Kristiansen

Bioingeniør, Fish Vet Group (Oslo), tidligere patologiasistent ved Avdeling for patologi, Oslo universitetssykehus Ullevål

Hirschsprung sykdom (Hirschsprung Disease, HD) er en sykdom hos barn som er forårsaket av total mangel på ganglioceller i deler av tarmen (rectum og colon sigmoideum). Funksjonelt styrer ganglioceller sammentrekningen av tarmen (peristaltikken), og når disse cellene mangler fører det til manglende tarmkontraksjon og en avslappet tarm med maksimal tarmutvidelse, også kalt megacolon (figur 1). Dette fører til symptomer med obstruksjon (oppsamling av avføring i tarmen), oppkast, dårlig væskebalanse/elektrolyttopptak og i verste fall død, hvis man ikke får behandling (1).

Sykdommen er medfødt og rammer cirka 1:5000 barn, forekomsten er hyppigere hos gutter enn jenter. Sykdommen oppstår på grunn av en embryologisk migrasjonsforstyrrelse, antakelig forårsaket av mutasjoner i for eksempel genene for reseptor tyrosin kinase, endotelin-3

Artikkelen bygger på et foredrag som forfatteren presenterte på IFBLS-kongressen i Firenze i 2018



FIGUR 1. Hos barn med Hirschsprung sykdom vil manglende tarmkontraksjon forårsaket av fravær av ganglioceller føre til oppblåst, utvidet tykktarm (megacolon). Bildet er gjengitt med tillatelse fra Mayo Foundation for Medical Education and Research (5) (all rights reserved).

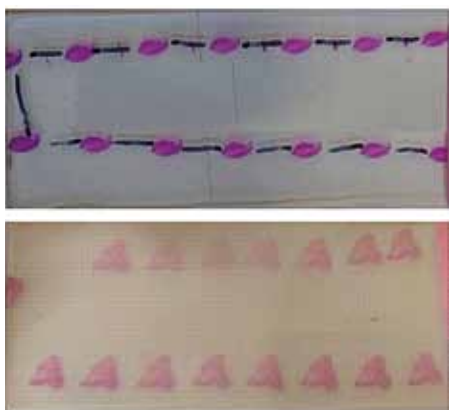
og endotelin reseptor (2, 3).

En standardisert prosedyre for behandling og videre prosessering av Hirschsprung-mistenkte vevsprøver er viktig for å kunne stille riktig diagnose, og er i tillegg essensiell for den kirurgiske behandlingen hvor aganglionær tarm (tarm uten ganglioceller) fjernes. Den er

også viktig for den videre oppfølgingen.

Diagnostikk

Ved spørsmål om Hirschsprung kan det tas vevsprøve som frysesnitt under en operasjon for å bekrefte eller avkrefte om det er ganglioceller tilstede. Dersom det påvises ganglioceller avsluttes operasjo-



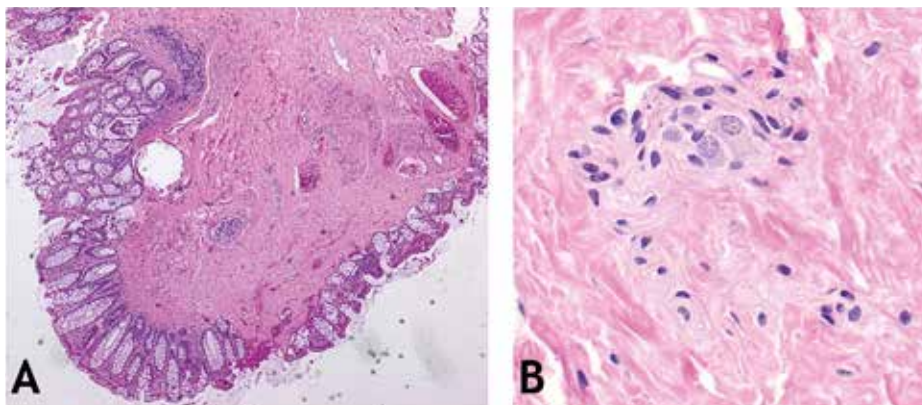
FIGUR 2. To objektglass med seriesnitt av en Hirschsprung-suspekt colonbiopsi som er rutinefarget med HE.

nen. Uansett tas det en colonbiopsi av barnets tarm, som sendes til avdeling for patologi. Der blir den registrert, makrobeskåret og (etter snitting) histologisk undersøkt med et standardisert opplegg av seriesnitt.

Snittene blir så farget med hematoksylin og eosin (HE). Hematoksylin (mørkeblå/fiolett) er positivt ladet og farger cellekjernene, mens eosin (rød/rosa) er negativt ladet og farger cytoplasma. Er det få gangliaceller kan de være vanskelig å oppdage i HE-snitt. Da går prøven videre til immunfarging med Calretinin og S100.

Det er patologens vurdering som bestemmer diagnosen og om kirurgen må fjerne mer tarmvev. Svaret blir formidlet til klinikken på telefon umiddelbart

Kun to patologilaboratorier i Norge diagnostiserer Hirschsprung; OUS Ullevål og St. Olavs hospital. Hensikten med denne artikkelen er å presentere den



FIGUR 3. HE-farget snitt. a: Histologisk oversiktsbilde som viser colonslimhinne. b: Detaljbilde av gangliaceller i slimhinnen.

standardiserte prosedyren som er utviklet av og benyttes ved Avdeling for patologi på OUS Ullevål.

Standardisert prosedyre ved OUS Ullevål

Når en prøve med spørsmål om Hirschsprung sykdom blir sendt til prøvemottak på patologiavdelingen OUS Ullevål, er kirurgene ute etter å bekrefte eller avkrefte tilstedeværelsen av gangliaceller i tarmregionen.

■ **Makrobeskjæring.** Den suspekta colonbiopsien blir registrert som CITO (høy prioritering). Prøven kommer på fikseringsmiddelet formalin, ofte orientert på en korkplate med slimhinnen (mucosa) opp. Under makrobeskjæring blir biopsien målt og deretter tørket for å absorbere formalin slik at serosa-siden kan tusjes. Dersom biopsien er større enn 4 mm blir den delt i to.

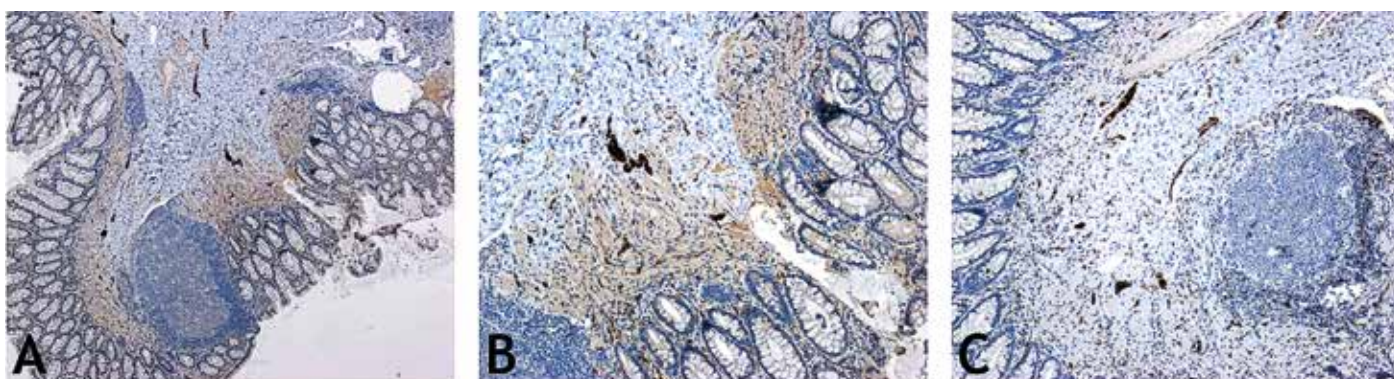
■ **Orientering.** Biopsiene blir så orientert i hver sin brikett slik at både mucosa og

serosa ligger ned mot brikettens bunn.

I hver brikett legges det en lapp merket med Hirschsprung, til påminnelse og hjelp for videre behandling av biopsien.

■ **Fremføring.** Biopsien blir så fremført i en fremføringsmaskin, ved Ullevål benyttes Tissue-Tek VIP 6 AI Vakuuminfiltreringsprosessor. Under fremføringen blir vevet dehydrert, slik at all væske fjernes og erstattes med parafin. Dette fører til at vevet får en fastere struktur, noe som er viktig for videre prosessering.

■ **Støpning.** Etter fremføring blir biopsien støpt, noe som i praksis betyr at den plasseres i en støpeform med smeltet parafin. Under størkningen blir biopsien orientert av bioingeniøren. Det er viktig at prøven blir støpt på kant slik at både mucosa og serosa er tydelig fremstilt ned i støpeformens bunn. Dette er helt essensielt for diagnostisering av prøven, og siden briketten er merket med Hirschsprung blir bioingeniøren påminnet om dette. ▶



FIGUR 4. a: Colonslimhinnen immunfarget med Calretinin (brunt), som markerer gangliaceller. b: Forstørret utsnitt av 5a. c: Colonslimhinne immunfarget med S-100 (brunt), som også markerer gangliaceller.

■ **Snitting og farging.** Biopsien blir avkjølt og deretter snittet ved bruk av seriesnitt. Det tas cirka 50 seriesnitt av hver brikket og det blir lagt cirka 10-15 opplegg på hvert objektglass (figur 2). Snittene blir så farget med HE og levert til patologen (figur 3a og b). Snittene legges i kontinuerlig rekkefølge med nummererte objektglass slik at patologen kan holde seg orientert om hvor i biopsien snittene kommer fra.

Hvis HE-snittene ikke viser ganglioceller, er dette et signal til kirurgen om at det må fjernes mer tarmvev, helt til en finner ganglioceller. For å unngå unødvendig fjerning av tarm, benyttes immunhistokjemisk analyse med antistoffer mot Calretinin og S-100, som synliggjør ganglioceller (figur 4a, b og c) (4).

Betydningen av en standardisert prosedyre

En standardisert prosedyre for Hirschsprung-mistenkte colonbiopsier er viktig for kvalitetssikring og reproduserbarhet av prosessen og håndtering av vevet.

Siden sykdommen er sjelden er en lett tilgjengelig standardisert prosedyre spesielt viktig. Standardiseringen har ført til at behandlingen og prosesseringen er lik for alle prøver med spørsmål om Hirschsprung sykdom. Det har også ført til at bioingeniørene som jobber med disse prøvene har fått økt forståelse og mer kunnskap om hva patologen ser etter.

Ved prosessering av Hirschsprung-suspekterte colonbiopsier er det støpingen på kant og seriesnittingen som er de to mest essensielle stegene for deteksjon av ganglioceller og videre diagnostisering av sykdom.

Konklusjon

En standardisert prosedyre for Hirschsprung-suspekterte biopsier øker kvaliteten av patologens diagnose, som er viktig for pasientens kirurgiske behandling.

Videre er standardiserte prosesser fundamentet i basalutdanning, videreutdanning, forskning og kvalitetssikring, noe som er til pasientens beste. Når alle prøver gjennomgår en standardisert prosess

blir sammenlikning av prøvene enklere.

Takk

Takk til min mentor og tidligere kollega Gitta Turowski (MD, PhD, leder for barne- og svangerskapsrelatert patologi OUS-Ullevål) for veiledning. ■

Referanser

1. William A, Meier-Ruge EB. Pathology of chronic constipation in pediatric and adult coloproctology. Basel: Karger; 2005.
2. Netter FF, Böttcher T, Engelhardt S, Kortenhaus M. Netter's Pädiatrie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2001.
3. Norsk helseinformatikk (NHI). Hirschsprung sykdom: <https://nhi.no/sykdommer/barn/magetarm/hirschsprungs-sykdom/> (16.6.2018).
4. Guinard-Samuel V, Bonnard A, De Lagausie P, Philippe-Chomette P, Alberti C, El Ghoneimi A, et al. Calretinin immunohistochemistry: a simple and efficient tool to diagnose Hirschsprung disease. Mod Pathol. 2009;22(10):1379-84.
5. Mayo Clinic. Hirschsprung's disease: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/hirschsprung/s-disease/symptoms-causes/syc-20351556> (18.1.2019).



Forsikringsfordeler for NITO-medlemmer

- 30 % rabatt på alle private skadeforsikringer hos Tryg
- Skreddersydde forsikringer med unike fordeler
- Fordelsprogrammet **Tryg Pluss** fra første private forsikring

Tryg Pluss gir tilgang til:

- Tryg Bolighjelp – hjelp til boligspørsmål fra fagpersoner
- Tryg Omsorg – opptil 10 timers psykologhjelp
- Tryg ID – hjelp hvis noen misbruker identiteten din

Det lønner seg å være NITO-medlem

Les mer på tryg.no/nito

**30 %
rabatt**

Tryg |