

DEREGLĂRI ALE INERVAȚIEI COLONICE LA COPII

^{1,2}Sinițina L., ^{1,2}Petrovici V., ^{1,2}David V., ^{1,2}Boian V.

¹ IMSP Institutul Mamei și Copilului: Laboratorul științific de Morfopatologie, Serviciul Anatomie patologică, Laboratorul științific "Corecția viciilor congenitale", CNȘP de Chirurgie Pediatrică "Acad. Natalia Gheorghiu"

²Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "N. Testemițanu", Laboratorul Morfologie

e-mail: sinitinalilia@gmail.com

DEREGLĂRI ALE INERVAȚIEI COLONICE LA COPII DISORDERS OF THE COLONIC INERVATION IN CHILDREN

Rezumat

Actualitatea. Disglanglionozele intestinale reprezintă un grup de patologii severe la copii, reprezentate de afectarea congenitală a aparatului nervos enteral, ce condiționează un tranzit intestinal extrem de lent, fiind manifestate clinic prin constipații severe – problemă actuală și în RMoldova.

Material și metode. În calitate de material de studiu au servit probele tisulare prelevate intraoperator la diferite nivele: ampula rectală, porțiunile distală, medie și proximală ale colonului sigmoid, uneori ale colonului descendent și transvers și probe tisulare native prelevate prin biopsie de diagnostic și biopsie intraoperatorie. Evoluția metodologiei de cercetare a debutat în perioada anilor 1990-1991 prin utilizarea următoarelor metode de cercetare așa ca metoda clasică cu hematoxilină - eozină, colorația după van Gieson cu picrofuscină, metoda HCh prin impregnare argentică după Bielshowsky – Gross, microscopia electronică. Pe parcurs s-a perfectat metodologia de cercetare prin implementarea noilor metode cu privire la diagnosticul morfologic al disglanglionozelor intestinale la copii, fiind implementate metodele imunohistochimică (IHCh) și histochimice (HCh) după Masson și identificarea activității NADH-diaforazei.

Rezultate. Ca rezultat al investigației prin metodele menționate s-au detectat diverse disglanglionoze intestinale, așa ca aganglionoză, displazie neuronală intestinală B, hipoganglionoză și diverse tulburări morfo-funcționale neuronale. Un rol deosebit l-a avut detectarea acestor forme de patologii neuronale în biopsiile de diagnostic primar și intraoperatoriu, prin aprecierea activității NADPH- diaforazei.

Concluzii. În perioada de conlucrare a Serviciului morfopatologic de profil pediatric și Laboratorul științific "Corecția viciilor congenitale" în contextul evoluției și dezvoltării chirurgiei pediatrice autohtone s-au obținut rezultate importante ce au permis detectarea, clasificarea și stabilirea aspectului morfo-funcțional al particularităților vicioase în disglanglionozele intestinale la copii, având un impact major în diagnosticul și tratamentul acestei categorii de pacienți.

Cuvinte cheie. Disglanglionoze intestinale, metodă imunohistochimică, histochimică, hipoganglionoză, hiperganglionoză, imaturitate.

Summary

Background. Intestinal dysganglionoses represent a group of severe pathologies in children, represented by congenital damage to the enteric nervous system, which conditions an extremely slow intestinal transit, being clinically manifested by severe constipation – a current problem in Moldova as well.

Material and methods. The tissue samples taken intraoperatively at different levels served as study material from: the rectal ampulla, the distal, middle and proximal portions of the sigmoid colon, sometimes of the descending and transverse colon, and native tissue samples taken by diagnostic biopsy and intraoperative biopsy. The evolution of the research methodology started in the period of 1990-1991 by using the following research methods, such as the classical method with hematoxylin-eosin, van Gieson staining with picrofuscin, HCh method by silver impregnation according to Bielshowsky-Gross, electron microscopy. Along the way, the research methodology was perfected by implementing new methods regarding the morphological diagnosis

of intestinal dysganglionosis in children, the immunohistochemical (IHCh) and histochemical (HCh) methods according to Masson and the identification of NADH-diaphorase activity being implemented.

Results. As a result of the investigation by the mentioned methods, various intestinal dysganglionoses were detected, such as aganglionosis, intestinal neuronal dysplasia B, hypoganglionosis and various neuronal morpho-functional disorders. A special role was played by the detection of these forms of neuronal pathologies in the primary diagnostic and intraoperative biopsies, by assessing NADPH-diaphorase activity.

Conclusions. During the period of clinical-morphological collaboration within the IMSP Mother and Child Institute in the context of the evolution and development of pediatric surgeries, important results were obtained that allowed the detection, classification and establishment of the morpho-functional aspect of the vicious features in intestinal dysganglionosis in children, having a major impact in the diagnosis and treatment of this category of patients.

Keywords. Intestinal dysganglionosis, immunohistochemical, histochemical method, hypoganglionosis, hyperganglionosis, immaturity

Introducere. Disganglionozele intestinale reprezintă un grup de patologii severe la copii, reprezentate de afectarea congenitală a aparatului nervos enteral, ce condiționează un tranzit intestinal extrem de lent, fiind manifestate clinic prin constipații severe – problemă actuală și în RMoldova [1, 2, 3, 6, 12]. Există o gamă destul de variată de dereglări structurale ale rețelei nervoase, care în majoritate implică structurile ganglion-neuronale responsabile de motorica intestinală manifestându-se prin absența ganglionilor nervoși, *hipoplazia* sau *hiperplazia* acestora, devieri ale numărului de neuroni etc. [4, 5]. La problema abordată pe parcursul anilor au fost efectuate numeroase studii prin conlucrare dintre Laboratoarele științifice ”Corecția viciilor congenitale” și ”Morfofpatologie” ale IMSP Institutul Mamei și Copilului la compartimentul disganglionozelor intestinale la copii [7, 8, 9, 10, 11].

În acest context, stabilirea diagnosticului și rezolvarea obstrucției intestinale, necesită în continuare metode informative, rapide și calitative de diagnostic morfofpatologic.

Scopul studiului vizează metodele de investigație morfofpatologică utilizate pe parcursul anilor pentru stabilirea particularităților morfofpatologice ale inervației colonice la copii cu tulburări ale tranzitului intestinal.

Material și metode. În calitate de material de studiu au servit probele tisulare prelevate intraoperator la diferite nivele: ampula rectală, porțiunile distală, medie și proximală ale colonului sigmoid, uneori ale colonului descendent și transvers și probe tisulare native prelevate prin biopsie de diagnostic și biopsie intraoperatorie.

Evoluția metodologiei de cercetare a debutat în perioada anilor 1990-1991 prin utilizarea următoarelor metode de cercetare: metoda clasică cu hematoxilină-eozină, colorația după van Gieson cu picrofuschină, metoda HCh prin impregnare argentică după Bielshowsky – Gross, microscopia electronică.

Pe parcurs s-a perfectat metodologia de cercetare prin implementarea noilor metode cu privire la diagnosticul morfolologic al disganglionozelor intestinale la copii.

Astfel, în anul 2009 a fost lărgită gama de metode de investigație a materialului prelevat din colon prin implementarea metodei moderne de cercetare în morfofpatologie – metoda imunohistochimică (IHCh), cu utilizarea anticorpilor primari monoclonali *Neuron Specific Enolase (NSE)*, *Neurofilament Protein (NFP)*, *Synaptophysin (SYP)*, *Smooth Muscle Actin (SMA)*, *Bax și BCL2* și policlonal *Chromogranin A (CGA)*, gata de utilizare (Dako). Pentru identificarea colagenului în țesutul conjunctiv fibros în anul 2015 s-a implementat metoda HCh Masson. Accelerarea diagnosticului preoperator și intraoperator histopatologic la această categorie de pacienți, a devenit posibilă în anul 2016, odată cu implementarea metodei histochemice (HCh) pentru identificarea NADH-diaforazei (Biooptica).

Rezultate. Ca rezultat al investigației prin metodele menționate s-au detectat diverse disganglionoze intestinale, așa ca aganglionoză, displazie neuronală intestinală B, hipoganglionoză și diverse tulburări morfo-funcționale neuronale.

Investigația morfologică complexă a stabilit lipsa totală a structurilor ganglio-neuronale în submucoasă și tunica musculară, cu accentuarea fibrelor conjunctive, în special în submucoasă în segmentul intestinal spasmat, fiind stabilit diagnosticul de aganglionoză (Boala Hirschsprung).

O altă particularitate detectată în cadrul cercetărilor este devierea numerică a structurilor ganglio-neuronare, ce s-a manifestat în cercetările noastre prin hipoganglionoză, manifestându-se prin atestarea, în limita biopatului, a unor plexuri ganglio-neuronale solitare, rudimentare. De regulă, hipoganglionoză era însoțită de reducerea numărului de celule neurale (în normă 7-8 neuroni) sau puteau fi întâlnite plexuri nervoase de dimensiuni normale cu o reducere considerabilă a numărului de neuroni, aceștea fiind detectați solitar sau în grupuri. Un număr sporit de celule neurale (hiperneierie), atestându-se uneori în număr de 17-19. De regulă, hiperneieria era prezentă în structurile ganglio-neuronale gigante, care fiind atestate în submucoasă se interpretau ca și DNI. De rând cu aceste modificări s-au detectat particularități histopatologice caracteristice pentru displazii tisulare ganglio-neuronale care, însă, nu se includeau în clasificarea unităților nosologice definite. Nu în ultimul rând, erau prezente particularități ale dismaturității tisulare, ce s-au relevat prin prezența elementelor neurale imature, retardate, care la aplicarea anticorpului monoclonal neurotrop *NSE* a stabilit expresie redusă, ca rezultat al tulburărilor morfo-funcționale a neuronilor. Aplicarea anticorpului *Bcl-2* responsabil pentru detectarea celulelor imature a relevat expresie pozitivă, ceea ce pledează pentru rolul imaturității elementelor neurocelulare în tulburări de tranzit intestinal. Identificarea NADH-diaforazei (fig. 1, 2), a făcut posibilă vizualizarea rapidă, calitativă și informativă a tuturor elementelor neurocelulare ganglionare localizate în plexurile nervoase submucose și intermusculare ale peretelui intestinal.

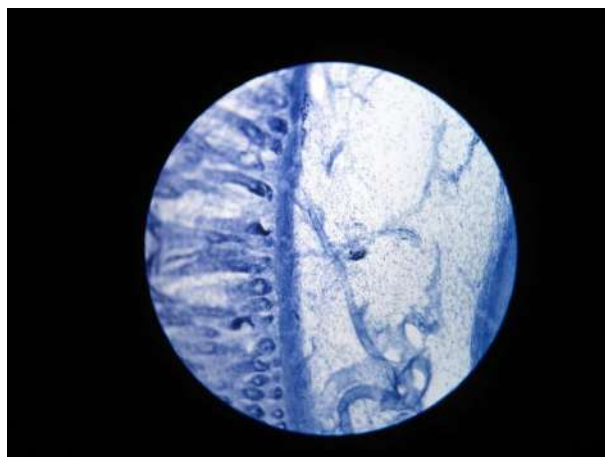


Fig. 1. Tulburări ale inervației colonice-hipoganglionoză. ←Ganglion nervos submucos superficial Meissner solitar la nivelul segmentului distal rectocolonic. Biopsie preoperatorie. Reacție HCh pentru identificarea NADH diaforazei. ×50

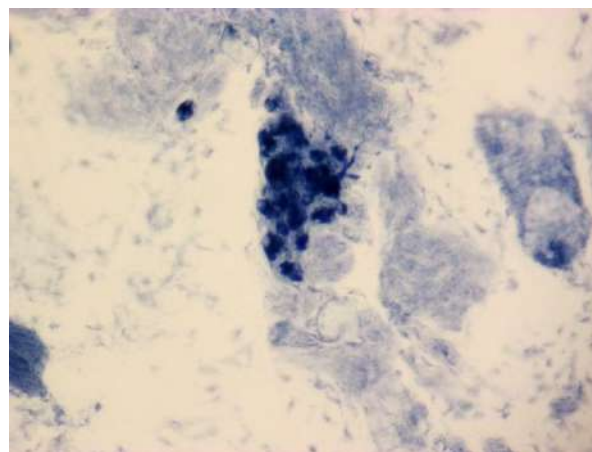


Fig. 2. Ganglion gigant cu hiperneierie (aproximativ 17). Biopsie preoperatorie. Reacție histochimică pentru identificarea NADH diaforazei. ×50

Printre modificările morfopatologice adiționale, care se atestau în biopate se înscriu modificările distrofice de diversă intensitate, adesea extrem de pronunțată, neoformarea țesutului fibroziv, procesul inflamatoriu, depleția limfocitară foliculară, adesea cu reducerea foliculilor limfatici și tulburări circulatorii acute.

Discuții. Rezultatele obținute prezintă un aport aplicativ în dezvoltarea diagnosticului și tratamentului patologiei pediatrice în cadrul conlucrării interdisciplinare cu implementare științifico-practică pentru un diagnostic cert în chirurgia pediatrică. Un rol deosebit l-a avut detectarea diferitelor forme de patologii neuronale în biopsiile de diagnostic primar și intraoperator, prin aprecierea activității NADPH - diaforazei, aceasta fiind considerată drept marker topochemic pentru neuronii recto-colonici.

Concluzii. În perioada de conlucrare clinico-morfologică în cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului în contextul evoluției și dezvoltării chirurgiei pediatrice autohtone s-au obținut rezultate importante ce au permis detectarea, clasificarea și stabilirea aspectului morfo-funcțional al particularităților vicioase în disganglionoză intestinală la copii, având un impact major în diagnosticul și tratamentul acestei categorii de pacienți.

Bibliografie

1. Meier-Ruge W. A., Ammann K., Bruder E. et al Updated results on intestinal neuronal dysplasia (IND B). In: *Eur J Pediatr Surg*. 2004, 14(6), 384-91.
2. Montedonico S., Caceres P., Munoz N., et al. In: Histochemical staining for intestinal dysganglionosis: over 30 years experience with more than 1,500 biopsies. *Pediatr Surg Int*. 2011, 27 (5), 479-86.
3. Boian G., Fuior I., Macari V. et al. Leziunile ultrastructurale de colon și valoarea lor informativ-diagnostică în sindromul de colostază cronică la copii. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale*. 2006, 3, 167-175. ISSN 1857-0011.
4. Boian G., Fuior I., Boian V. Paralele clinico-morfologice în sindromul de colostază la copii. În: *Buletin de perinatologie*. 2006, 1, 45-48. ISSN 1810-5289.
5. Boian G., Fuior I., Boian V., Bacalim M. Displazia neuronală intestinală (DNI) adițional la alte malformații congenitale (MC)-opțiuni de diagnostic și tratament la nou-născuți. În: *Buletin de perinatologie*. 2007, 1, 19-23. ISSN 1810-5289.
6. Krammer H. J., Zhang, Kuhnel W. Distribution of NADPH-diaphorase positive neurons in the enteric nervous system of the human colon. *Ann Anat*. 1994, 176(2):137-41.
7. Синицына Л. А., Давид В. Б., Боян Г. М. и др. Роль иммуногистохимического метода в определении нарушений иннервации толстого кишечника у детей с хроническим колостазом. Сб.: *Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии*. Волгоград, 2010, с. 317-321.
8. Синицына Л. А., Давид В. Б., Боян Г. М. Использование иммуногистохимического метода в определении нарушений иннервации толстого кишечника у детей. Сб.: *Морфология XXI столетия*. Киев, 2010, с. 214-218.
9. Синицына Л.А.; Давид В.Б.; Боян Г.М.; Боян В.Г.; Вахромеев А.В. Определение нарушений иннервации толстой кишки у детей с хроническим колостазом. В: *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. Чернівці, 2010, том 9, 3(33), с. 55-57. ISSN 1727-0847. ISSN 1993-5897.
10. Синицына Л.А., Давид В.Б., Боян Г.М., Боян В.Г., Вахромеев, А.В. Морфопатологическое исследование иннервации толстого кишечника у детей с мегаколон. В: *Материалы международной конференции «Морфология на рубеже тысячелетий»*, посвященной 110-летию со дня рождения академика В.Г.Касьяненко, 17-18 ноября 2011. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Київ, 2011. Вып. 167, ч. 2, с. 173-178.
11. Sinițina L., David V., Petrovici V., Samciuc Șt., Boian G., Boian V. Actualități în evaluarea particularităților structural-funcționale ale sistemului nervos enteral la copii. În: *Buletin de perinatologie*, 2017, 4(76), 14-18. ISSN 1810-5289.
12. Terra Simona A., Lourencao Pedro L., Silvia Marcia G. Et al. A critical appraisal of the morphological criteria for diagnosing intestinal neuronal dysplasia type B. *Modern pathology*. 2017, 30, 978-985.