

·综述·

先天性巨结肠术中快速诊断研究进展

陈锐源 综述 李建宏 审校

先天性巨结肠(HD)是小儿常见病之一,临床表现为顽固性便秘、腹胀等,主要病理特征是病变肠段神经节细胞缺如、乙酰胆碱能神经纤维增生。首选手术治疗,但仍有少数病例术后复发便秘,术中病变肠管切除不足是复发的主要原因^[1-3]。术中如何快速准确判断病变肠管的范围是亟待解决的问题。现就近年来 HD 术中快速诊断研究进展综述如下。

一、术中快速诊断的必要性

HD 根治术很大程度上依赖于术中准确判定病变肠管的位置和范围。如病变肠管切除不够,术后势必产生持续肠梗阻症状,导致手术失败;如切除过多,则易造成不必要的损伤,引起患儿术后稀便、排便次数增多及水电解质平衡紊乱等。以往单靠术中对肠管外观的经验性判断,如肠管粗细、色泽、质地、蠕动等,具有一定的主观随意性,且病变肠管肉眼所见和显微镜下所见往往不一致^[4]。单靠术中对肠管外观的判断来决定手术切除肠管范围并不可靠。

钡灌肠是目前 HD 诊断较常用、准确率较高的一种方法,其有助于手术方式的选择已得到共识,但在术中确定切除病变肠管范围上仍有争议。Proctor 报告^[5],钡灌肠对判断常见型 HD 病变肠管范围与病理诊断符合率为 89%;但对于长段型或全结肠型 HD,其符合率只有 13%。Jamieson^[6]报道,HD 常见型符合率为 62.5%,长段型仅 25%。国内也有不少关于钡灌肠与手术所见以及病理检查一致性的评估报告^[7-8]。目前国内多数小儿外科医师认为,对于钡灌肠检查显示典型征象的 HD,可依此判定切除肠管的范围,也可辅助术中组织活检;但对于钡灌肠征象不典型者,术中组织活检有必要。有学者认为:无论钡灌肠 X 线征象典型与否,都应术中活检。

目前术中快速诊断主要依靠组织病理学检查,它能为手术医师提供重要的客观依据,从而提高手术治愈率,减少术后症状复发,因此在 HD 根治术中至关重要,HD 手术时术中活检是必需的。

二、术中组织取材

HD 移行段的位置直接关系到手术方式的选择,也影响术中取材的途径。如术前钡灌肠提示移行段位于直肠乙状结肠,宜选择一期经肛门拖出术,将结肠拖出后再行活检,决定切断肠管的位置。如移行段位于直肠乙状结肠之上,宜选择经腹会阴根治术,为减少手术时程,开腹后宜先行活检。对于新生儿 HD,钡灌肠难以显示移行段,多数外科医生在进行肛门分离前,先行腹腔内结肠活检来判定移行段的位置。对活检标本采取单盲随机方式标记,即在病理医师不清楚标本来源肠段的情况下,可避免病理医师诊断的主观随意性,从而提高术中活检结果的客观性与可靠性。

三、冰冻切片 HE 染色

冰冻切片 HE 染色的目的在于观察肠壁黏膜下层有无神经节细胞。如果全部切片黏膜下层未见神经节细胞,则可诊断为 HD。此方法简单易行,花费时间不多,准确率较高,Maia^[9]报道,HD 患儿冰冻切片与石蜡切片符合率为 89%。Shayan^[10]报道,304 例 HD 患儿作了 700 余次术中冰冻切片,诊断不符合率为 3%。

小儿神经节细胞的发育是一个逐渐成熟的过程,特别是新生儿期发育更不成熟。HE 染色用于判定发育未成熟、结构不典型的神经节细胞有一定难度,对病理医师的技术及经验要求很高,难以在基层医院推广,且术中冰冻切片 HE 染色仅能观察神经节细胞存在情况,难以观察神经节细胞的功能、成熟度及神经纤维异常增生情况。肠神经元性发育异常(IND)者病变神经节细胞可能增多,因此,即使冰冻切片中看见神经节细胞也不能确定该段肠管完全正常。

四、组织化学染色

1. 乙酰胆碱酯酶(AChE)染色:正常人肠壁黏膜的固有膜内不能显示 AChE 阳性神经,但 HD 病变肠壁经过染色可显示 AChE 活性增高,这已在临床广泛应用。Martucciello 等^[11]使用新方法,使染色时间缩短至 8 min,从而使术中快速诊断成为可能,

AChE 染色不仅能清晰观察神经节细胞数目、分布及增生情况,而且能较好显示增生的胆碱能神经。刘云建等^[12]研究表明,术中快速 AChE 染色还可以清楚显示孤立的神经节细胞和异位神经节细胞,对诊断 IND 有明显优势,但假阳性率高(AChE 既存在于胆碱能神经元,也存在于非胆碱能神经元),特别是新生儿更易出现假阳性。目前 HD 手术方式趋向于经肛 Soave 拖出术,术中送检肠管病变段多为缺乏浆肌层的远端黏膜下组织,由于黏膜下神经丛比肌间神经丛稀疏,体积小,所含神经节细胞数目少,术中误诊率较高。基于快速 AChE 染色的不足,周峻等^[13]联合应用快速 AChE 染色和冰冻切片 HE 染色,提高了术中 HD 及 IND 诊断的可信度。

2. 乳酸脱氢酶(LDH)染色:LDH 染色可清晰显示神经节细胞,且能显示其成熟度,区别发育良好和发育不良的神经节细胞,但无法显示神经纤维异常增生的情况。普通的 LDH 染色方法孵育时间长,达不到术中快速诊断的要求。向磊等^[14]改良了 LDH 染色方法,20 min 内在神经节细胞处产生蓝紫色的颗粒状沉淀物,可满足术中快速诊断的要求,且诊断结果与术后病理结果较吻合;结合 AChE 染色方法能准确快速地判断出无神经节细胞肠段的范围,且对结肠同源病(HAD),特别是 IND 的术中诊断准确率也大为提高。LDH 染色还能很好地显示巨神经丛,这是术中冰冻切片 HE 染色无法做到的。但 LDH 染色对神经节细胞减少症的诊断有一定缺陷,缺乏强阳性的特征,仍需进一步积累经验。

五、免疫组织化学染色

此方法是目前国内 HD 诊断研究中较为活跃的领域,主要利用神经特异性抗体染色,特异性及敏感性较高。无论神经节细胞成熟与否,都能清晰显示,易与炎性细胞、淋巴细胞、雪旺细胞、巨噬细胞和血管内皮细胞等区别。采用此种方法的标记物有很多,目前研究较多的有神经元特异性烯醇酶(NSE)、S-100 蛋白、蛋白基因产物 9.5(PGP9.5)、组织蛋白酶 D(CAD)、外周蛋白(PR)、Hu 蛋白等。但这些标记物或因染色时间过长,或缺乏术中冰冻组织切片的染色特征,均不能满足术中快速诊断的要求。

Cajal 间质细胞(ICCs)的出现为免疫组织化学快速诊断 HD 带来了希望。采用 c-kit 标记 ICCs 后发现,无神经节细胞肠管的肌间神经丛周围 ICCs 数量明显减少,环肌、纵肌内的 ICCs 也减少甚至缺如,仅有少许 ICCs 分布在环肌内表面,ICCs 网络呈断续及紊乱状态。最近 Bettoli 等^[15]改进 c-kit 免疫组

织化学染色,准确率高,所需时间约 1 h。建议此方法联合冰冻切片 HE 染色,能在术中快速、全面而准确地诊断 HD。虽然相对于冰冻切片 HE 染色(30 min)时间较长,但仍在 HD 根治术术程范围内,符合快速诊断的要求,是目前免疫组织化学染色在 HD 术中快速诊断中很有前景的一种标记物。

六、特殊类型 HD 的术中诊断

对 HD 同源病(HAD)的研究发现,虽然 HAD 和 HD 同为肠神经系统异常,临床表现也相似,但治疗方法截然不同。病理研究发现,HAD 肠道神经系统的病变比 HD 更广泛,并非像 HD 那样病变多局限于结肠远端,近端为继发性扩张。传统 HD 根治术要求彻底切除狭窄段肠管和继发扩张的肠管,但 HAD 患者有时继发扩张并不明显,若术中未能行病理活检,靠医生的肉眼观察和经验判断往往无法彻底切除病变,易导致复发。有不少研究表明,HAD 或合并 HD 者近端肠管 IND 病变肠管残留是引起术后便秘、小肠结肠炎的主要原因^[16-18]。因此,术中如何正确识别病变肠管,鉴别 HAD,是减少术后复发和并发症的关键。直肠、结肠多处全层活检,HE 染色结合免疫组织化学染色可以确诊 HAD^[19]。但 HAD 术中快速诊断目前仍无法做到。

对于超短段型及短段型 HD,术中取点活检确定病变范围较为容易。但对长段型及全结肠型 HD,术中应注意全面探查肠管,包括全结肠及回肠末段,提倡采用多处活检,即切取直肠乙状结肠连接处、横结肠、升结肠、阑尾及末端回肠全层做快速冰冻切片检查,以明确诊断。如术中发现有多处痉挛性狭窄肠段,应想到有节段型 HD 的可能,并于狭窄长段多处取活组织送检^[20]。

对于目前广泛使用的腹腔镜辅助 HD 根治术,入腹后即可对腹腔肠管进行广泛而清晰的探查,并分别取点活检,送检后可继续游离肠管,不会因等待冰冻报告而拖延手术时间。由于腹腔镜手术腹腔操作时间一般为 1~2 h,在不明显延长手术时程的前提下,可进行多次冰冻活检,也适用于需要时间较长而特异性高的免疫组化检查。Yamataka 等^[19]报道 12 例采用经肛门 Soave 术治疗的 HD 患儿,认为术中结合腹腔镜进行结肠活检,经 AChE 染色确定病变肠管范围,可提高手术的精确性。

参考文献

- 1 Chandra SV, Agrawal CS, Adhikary S. Initial experience

- with Soave's transabdominal pull-through: an observational study[J]. *Int J Surg*. 2010,8(3):225-228.
- 2 Niramis R, Watanatittan S, Anuntkosol M, et al. Quality of life of patients with Hirschsprung's disease at 5-20 years post pull-through operations[J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2008, 18(1):38-43.
- 3 魏明发, 吴晓娟, 易斌, 等. 巨结肠根治术后便秘复发原因的探讨[J]. *临床外科杂志*, 2008, 16(5):324-326.
- 4 钊金法, 钱云忠, 熊启星, 等. 324 例肠神经元发育异常患儿病理特点与术后并发症关系分析[J]. *中华外科杂志*, 2006, 44(7):463-466.
- 5 Proctor ML, Toaubici J, Langer JC, et al. Correlation between radiographic transition zone and level of aganglionosis in Hirschsprung's disease: Implications for surgical approach[J]. *J Pediatr Surg*, 2003, 38(5):775-778.
- 6 Jamieson DH, Dundas SE, Beluahis A, et al. Does the transition zone reliably delineate aganglionic bowel in Hirschsprung's disease[J]. *Pediatr Radiol*, 2004, 34(10):811-815.
- 7 王海, 黄文雅, 李晓明, 等. 114 例小儿先天性巨结肠钡灌肠影像与手术对照分析[J]. *医学临床研究*, 2006, 23(1):69-71.
- 8 张晓胡, 金安, 周海, 等. 先天性巨结肠钡灌肠 X 线表现与手术病理对照分析[J]. *河北医药*, 2003, 25(8):590.
- 9 Maia DM. The Reliability of Frozen-Section diagnosis in the pathologic evaluation of Hirschsprung's disease[J]. *Am Surgical Pathology*, 2000, 24(12):1675-1677.
- 10 Shayan K, Smith C, Langer JC. Reliability of intraoperative frozen sections in the management of Hirschsprung's disease[J]. *Pediatr Surg*, 2004, 39(9):1345-1348.
- 11 Martucciello G, Favre A, Torre M, et al. A new rapid acetylcholinesterase histochemical method for the intraoperative diagnosis of Hirschsprung's disease and intestinal neuronal dysplasia[J]. *Pediatr Surg*, 2001, 11(5):300-304.
- 12 刘云建, 刘钧澄, 潘翠玲, 等. 快速乙酰胆碱酯酶染色诊断先天性巨结肠和肠神经元性发育异常的评价[J]. *滨州医学院报*, 2005, 28(3):163-164.
- 13 周峻, 魏明发, 冯杰雄等. 先天性巨结肠的一种术中快速诊断方法[J]. *临床小儿外科杂志*, 2004, 3(1):5-8.
- 14 向磊, 柴成伟, 吴晓娟, 等. 快速乳酸脱氢酶染色在先天性巨结肠及肠神经元发育异常术中诊断的应用[J]. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24(3):227-228.
- 15 Bettolli M, Rubin SZ, Staines W, et al. The use of rapid assessment of enteric ICC and neuronal morphology may improve patient management in pediatric surgery: a new clinical pathological protocol[J]. *Pediatr Surg*, 2006, 22(1):78-83.
- 16 Puri P, RoUe U. Variant Hirschsprung's disease[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2004, 13(4):293-299.
- 17 Estevao-Costa J, Fragoso AC, Campos M, et al. An approach to minimize postoperative enterocolitis in Hirschsprung's disease[J]. *J Pediatr Surg*, 2006, 41(10):1704-1707.
- 18 吴晓娟, 冯杰雄, 魏明发, 等. 先天性巨结肠术后小肠结肠炎发生与合并神经节细胞减少症的相关性分析[J]. *中华小儿外科杂志*, 2007, 28(12):627-629.
- 19 Yamataka A, Yoshida R, Kobayashi H, et al. Laparoscopy-assisted suction colonic biopsy and intraoperative rapid acetylcholinesterase staining during transanal pull-through for Hirschsprung's disease[J]. *J Pediatr Surg*, 2002, 37:1661-1663.
- 20 杨合英, 刘秋亮, 王家祥, 等. 多发性节段型肠无神经节细胞症的临床分析[J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(39):2772-2774.

• 消息 •

《中国小儿急救医学》2012 年征稿征订

《中国小儿急救医学》是由中华人民共和国卫生部主管, 中华医学会和中国医科大学主办的中华医学会系列杂志之一, 是国内儿科领域中惟一一本反映危重症急救方面的国家级专业学术期刊。为中国科技论文统计源期刊, 中国科技类核心期刊, 美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI)、波兰《哥白尼索引》(IC)、美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich's Periodicals Directory)、WHO 西太平洋地区医学索引 (Western Pacific region Index Medicus, WPRIM) 收录期刊, 主要读者对象为全国各级医院的儿科医生, 尤其是 PICU、NICU 或急诊室的儿科医生。为双月刊, 国内外公开发行, 刊号为 CN11-5454/R, ISSN1673-4912。每期定价 10 元, 全年 60 元。邮发代号 8-72。欢迎广大读者订阅。联系地址: 沈阳市和平区三好街 36 号, 邮编: 110004。网上投稿系统网址: <http://www.cma.org.cn/ywzx/ywzx.asp>, 联系电话: 024-23926295/024-96615 转 13729, E-mail: xejjyxzzh@yahoo.com.cn