

Hoe slimme kleuringen een zeldzame darmziekte bij baby's zichtbaar maken

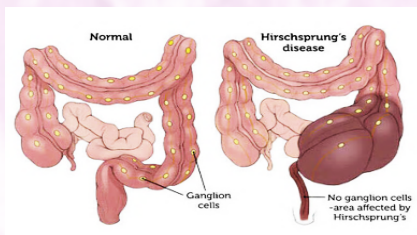


Ramshah Sabir Hussain, Bachelorstudent Biomedische Laboratoriumtechnologie, ontdekt hoe microscopische technieken de diagnose van de ziekte van Hirschsprung kunnen verbeteren.

Elke ouder herinnert zich de eerste dagen van hun pasgeborene. Maar stel je voor dat je baby in die cruciale eerste dagen geen ontlasting produceert. Wat voor velen een onbekend symptoom lijkt, kan wijzen op een zeldzame aandoening: de ziekte van Hirschsprung. Laboratorium Technoloog, Ramshah Sabir Hussain, dook diep in deze complexe aandoening en onderzocht welke microscopische technieken artsen het meest kunnen helpen bij het stellen van een correcte diagnose. Haar bevindingen tonen aan dat de juiste combinatie van kleuringen letterlijk het verschil kan maken tussen een snelle behandeling en levenslange klachten.

Een 'stilgevalen' darm

De ziekte van Hirschsprung is een aangeboren aandoening waarbij een deel van de dikke darm geen zenuwcellen, ook wel ganglioncellen genoemd, bevat. Deze ganglioncellen zijn essentieel, omdat ze de beweging van de darmwand aansturen, waardoor voedsel en afvalstoffen door de darm worden getransporteerd. Wanneer deze cellen ontbreken, werkt de darm als het ware niet meer: de peristaltiek raakt verstoord, ontlasting hoopt zich op en dit kan leiden tot een megacolon.



LINKS: normale darm met ganglioncellen. RECHTS: een verstopte darm bij HD (Boston Children's Hospital, z.d.).

Ongeveer 1 op 5.000 baby's wordt met deze aandoening geboren. In 80% van de gevallen is slechts een kort stukje van de darm aangetast, maar bij anderen kan de hele dikke darm, of zelfs een deel van de dunne darm, verlamd zijn. De diagnose is moeilijk, zeker bij pasgeborenen, waar zenuwstructuren nog onrijp zijn. Het missen van zelfs maar één zenuwcel kan de diagnose veranderen.

Onderzoek in het hart van het ziekenhuis

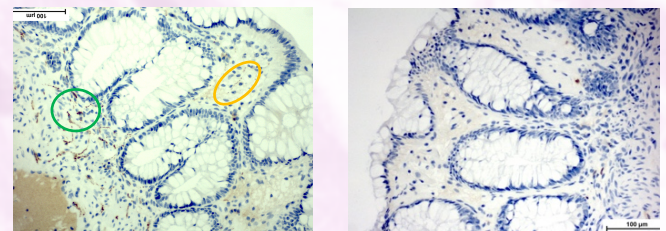
Tijdens haar stage in het CHU Brugmann ziekenhuis in Brussel kreeg Ramshah de kans om vijf echte patiëntencasussen te analyseren. Bij elk van hen werd een stukje darmweefsel, een rectumbiopt, afgenomen en onderzocht met drie verschillende laboratoriumtechnieken:

- Hematoxyline-Eosine-Saffraan (HES)-kleuring: een klassieke kleuring die de algemene structuur van het weefsel toont.
- Acetylcholinesterase (AChE): een histochemische techniek die bepaalde zenuwvezels aankleurt.
- Calretinine-immunohistochemie: een modernere methode die specifiek zenuwcellen en hun uitlopers zichtbaar maakt met behulp van antilichamen.

"De vraag was: welke techniek levert het duidelijkste antwoord op, vooral bij jonge baby's waarbij het weefsel nog niet volgroeid is?"

Wat bleek? Calretinine is koning

De resultaten waren helder. De calretinine-kleuring gaf in vier van de vijf casussen een duidelijke indicatie over de aanwezigheid of afwezigheid van zenuwcellen. Vooral bij moeilijk interpreteerbare of technisch beperkte stalen bleef deze techniek het meest betrouwbaar. De (-)kleuring bleek nuttig als eerste screening, maar bood zelden voldoende informatie om een diagnose op zich te dragen. De AChE-methode gaf in sommige gevallen correcte resultaten, maar faalde ook twee keer, wat kan leiden tot foutieve beslissingen.



LINKS: calretinine-kleuring met zenuwvezels (oranje) en ganglioncellen (groen). RECHTS: calretinine-kleuring zonder zenuwvezels en/of ganglioncellen.

"Calretinine werkt op paraffinecoupes die makkelijker te verwerken zijn dan vriescoupes, zoals nodig voor AChE. Dat maakt het ook logistiek aantrekkelijker in ziekenhuizen", zegt Ramshah.

De praktijk: kleine details, grote gevolgen

Wat dit onderzoek vooral duidelijk maakt, is dat een correcte diagnose afhangt van een keten van cruciale keuzes en precisie: van de juiste plaats van staalname tot het correct snijden en kleuren van coupes. Een biopsie dat nét te dicht bij de anus is genomen, kan bijvoorbeeld van nature minder zenuwcellen bevatten, wat leidt tot een vals-positieve diagnose van HD. En bij een pasgeboren kind met onrijpe zenuwcellen, kunnen onervaren ogen deze structuren gemakkelijk missen.

Ramshah pleit dan ook voor een gestandaardiseerde aanpak in de laboratoria. “Een vaste beoordelingsschaal en combinatietechnieken zouden fouten kunnen verminderen. Eén techniek is bijna nooit genoeg. Maar calretinine-IHC als basis, aangevuld met HES of AChE, is een krachtige combinatie.”

Waarom een juiste diagnose levensbelangrijk is...

Een foutieve of laattijdige diagnose van Hirschsprung kan verstrekkende gevolgen hebben. Kinderen kunnen te maken krijgen met jarenlange obstipatie, darmontstekingen, groei problemen of zelfs levensbedreigende darmperforaties. Een juiste en snelle diagnose opent de deur naar een chirurgische ingreep waarbij het aangetaste deel van de darm wordt verwijderd, en het kind weer normaal kan functioneren.

Bovendien wijst het onderzoek op het belang van samenwerking tussen laboranten, pathologen en chirurgen. “Wat in het lab gebeurt, beïnvloedt direct de keuzes van de arts en dus het leven van het kind,” benadrukt Ramshah.

“Een verkeerd genomen biopsie kan alles op z'n kop zetten,” waarschuwt een ervaren patholoog in het CHU Brugmann.

Toekomstperspectieven:

eenvoud, betrouwbaarheid en betaalbaarheid

Naast de medische waarde, heeft het onderzoek ook implicaties voor de organisatie van laboratoria. Calretinine-kleuring is minder afhankelijk van dure infrastructuur en nachtelijke beschikbaarheid van gespecialiseerd personeel, zoals bij AChE wel het geval is. In ziekenhuizen met beperkte middelen of in spoedsituaties biedt deze methode een haalbaar alternatief.

Als we laboranten kunnen trainen in het correct uitvoeren en interpreteren van calretinine-IHC, dan kunnen we de diagnostiek van HD wereldwijd toegankelijker en betrouwbaarder maken. Zeker in neonatale settings, waar snelheid en nauwkeurigheid letterlijk levens kunnen redden.



Slotwoord

Met dit bacheloronderzoek toont Ramshah Sabir Hussain aan dat de toekomst van de diagnostiek bij zeldzame kinderziekten ligt in een slimme, gecombineerde aanpak van klassieke en moderne laboratoriumtechnieken. Dankzij haar inzet en die van het team van CHU Brugmann wordt de weg geëffend voor een snellere, betrouwbaardere en menselijkere diagnose van een stille maar ernstige aandoening.

Bronnen:

Agrawal, R.K., Kakkar, N., Vasishta, R.K., Kumari, V., Samujh, R., & Rao, K.L.N. (2015). *Acetylcholinesterase histochemistry (AChE) - A helpful technique in the diagnosis and in aiding the operative procedures of Hirschsprung disease*. *Diagnostic Pathology*, 10-208. <https://doi.org/10.1186/s13000-015-0443-5>

Banu, S.G., & Islam, T. (2020). *Diagnosis of Hirschsprung Disease by Frozen Section Biopsy Using Routine Hematoxylin-Eosin (HE) Stain: A Year's Study*. *Journal of Histopathology and Cytopathology*, 4(2), 95-100. <https://www.bapath.org/wp-content/uploads/2021/03/04-jhc-81-original-gulshana-diagnosis-of-hirschsprung.pdf>

Batrouney, A. (2022). *Automation and Robotics with the Roche Ventana BenchMark ULTRA*. In Cambridge University Press eBooks (p.85-119). <https://doi.org/10.1017/9781009106924.005>

Bhatia, A., Shatanof, R. A., & Bordoni, B. (2023). *Embryology, gastrointestinal*. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537172/>

Dakewe. (z.d.). *Total Pathology Solution*. <http://en.dakewemedical.com/products/histology-solutions/6250-Cryostat-Microtome>

DiseasesDic. (2022). *Hirschsprung's disease- Types, pathophysiology, and Treatment*. *Disease Treatments Dictionary*. <https://diseasesdic.com/hirschsprungs-disease-types-pathophysiology-and-treatment/>

Illustratie overgenomen uit Passei Direto (z.d.). PCR e RCP – neonato e criança

Rakhshani, N., Araste, M., Imanzade, F., Panahi, M., Safarnezhad Tameshkel, F., Sohrabi, M. R., Karbalaie Niya, M. H., & Zamani, F. (2016). *Hirschsprung Disease Diagnosis: Calretinin Marker Role in Determining the Presence or Absence of Ganglion Cells*. *Iranian journal of pathology*, 11(4), 409–415. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5563939/>

