

ELIZABETH SCHNEIDER GUGELMIN

**DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG
(AGANGLIOSE INTESTINAL CONGÊNITA):
Estudo Diagnóstico Comparativo entre a
Histoquímica Enzimática pela Acetilcolinesterase
e o Exame Anátomo-Patológico do Espécime
Cirúrgico de Colectomia.**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Bleggi Torres
Co-Orientador: Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles

CURITIBA
2000

GUGELMIN, ELIZABETH SCHNEIDER

Doença de Hirschsprung (Aganglionose Intestinal Congênita): Estudo
Diagnóstico Comparativo entre a Histoquímica Enzimática pela
Acetilcolinesterase e o Exame Anátomo-Patológico do Espécime Cirúrgico de
Colectomia/Elizabeth Schneider Gugelmin

Curitiba, 2000

128p., tabs ; il, color

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Bleggi Torres

Co-Orientador: Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles

Dissertação (Mestrado)/ Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da
Saúde



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

**PARECER CONJUNTO DA COMISSÃO EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DE
TESE/DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Aluna: *ELIZABETH SCHNEIDER GUGELMIN*
Título da Dissertação: "DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG
(AGANGLIOSE INTESTINAL CONGÊNITA)"

CONCEITOS EMITIDOS:

<i>Prof. Dra. Marlene de Almeida</i>	- Conceito emitido <i>A</i>	Equivalência <i>10</i>
<i>Prof. Dr. Carlos José Serapião</i>	- Conceito emitido <i>A</i>	Equivalência <i>10</i>
<i>Prof. Dr. Osvaldo Malafaia</i>	- Conceito emitido <i>A</i>	Equivalência <i>10</i>

Conceito Final de Avaliação:

Aprovada com conceito final A e equivalência 10 (dez)
Curitiba, 10 de fevereiro de 2000

Marlene de Almeida

Prof. Dra. Marlene de Almeida

Carlos José Serapião

Prof. Dr. Carlos José Serapião

Osvaldo Malafaia

Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

Dedico este trabalho ao Alceu e aos meus filhos Bruno, Bianca e Gabriela. São vocês que dão sentido à minha vida. Este trabalho só vem comprovar o quanto vocês compartilham dela permitindo torná-lo realidade. Aos meus pais que sempre me apoiaram e incentivaram em todos os momentos da minha vida de estudos e trabalho.

Nem sempre o que mais corre a meta alcança,
Nem sempre o mais forte mais longe o disco lança,
Mas sim aquele que vai firme em frente,
Com a decisão firmada em sua mente.

(A Vitória da Vida. Amado Nervo)

AGRADECIMENTOS

Ao PROF. BRIAN DERECK LAKE,

meu grande mestre, introduziu-me na histoquímica para interpretação da biópsia de reto por sucção e diagnóstico da doença de Hirschsprung durante estágio de especialização em patologia pediátrica no “The Hospital for Sick Children”, em Londres, de setembro de 1986 a dezembro de 1987.

À Mrs. VIRPIE SMITH,

Técnica do laboratório de histoquímica do “The Hospital for Sick Children”, Londres, por todos os ensinamentos técnicos na manipulação das biópsias de reto por sucção e coloração pelo método da acetilcolinesterase.

Ao PROF. DR. LUIZ FERNANDO BLEGGI TORRES,

por sua orientação, leitura e correção desta dissertação.

Aos CLÍNICOS E CIRURGIÕES,

que encaminharam seus pacientes para realização da biópsia de reto por sucção como complementação de sua investigação clínica

Aos TÉCNICOS DE HISTOLOGIA DO CENTRO DE PATOLOGIA DE CURITIBA – HOSPITAL NOSSA SENHORA DAS GRAÇAS,

pela confecção dos preparados histológicos.

Às BIÓLOGAS DO SETOR DE HISTOQUÍMICA DO CENTRO DE PATOLOGIA DE CURITIBA – HOSPITAL NOSSA SENHORA DAS GRAÇAS,

pela qualidade técnica dos cortes em criostato e da histoquímica pelo método da acetilcolinesterase.

Às BIÓLOGAS DO SETOR DE MACROSCOPIA DO CENTRO DE PATOLOGIA DE CURITIBA – HOSPITAL NOSSA SENHORA DAS GRAÇAS,

pela orientação adequada dos espécimes cirúrgicos e documentação fotográfica macroscópica.

Ao ALCEU GUGELMIN JUNIOR,

pela execução da formatação, dos gráficos, das tabelas e por toda a orientação técnica para a execução dos procedimentos informatizados.

À MÁRCIA OLANDOSKI e ARI SABBAG,

professores de estatística da Universidade Federal do Paraná, pela execução da avaliação estatística.

Ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA,

pela oportunidade de realizar esta complementação universitária.

Ao HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE,

pela oportunidade de fazer parte de seu corpo clínico e obter o consentimento da direção médica para realizar este trabalho

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE QUADROS.....	xiii
LISTA DE SIGLAS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3.1 ANATOMIA, HISTOLOGIA E FISILOGIA DA INERVAÇÃO NORMAL DO CÓLON E RETO.....	4
3.2 EVOLUÇÃO HISTÓRICA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (AGANGLIONOSE INTESTINAL CONGÊNITA).....	6
3.3 TEORIAS SOBRE A ETIOPATOGENIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (AGANGLIONOSE INTESTINAL CONGÊNITA).....	10
3.3.1 Teoria do distúrbio de migração neuronal.....	11
3.3.2 Teoria da infecção viral.....	13
3.3.3 Teoria do distúrbio vascular.....	13
3.3.4 Teoria da origem genética.....	14
3.4 INCIDÊNCIA.....	17
3.5 DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	18
3.5.1 Exame clínico.....	18
3.5.2 Achados radiológicos.....	19
3.5.3 Eletromanometria anorretal.....	20
3.6 ACHADOS ANÁTOMO-PATOLÓGICOS.....	21
3.6.1 Diagnóstico anátomo-patológico da doença de Hirschsprung através da biópsia de reto.....	23

3.7	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (AGANGLIOSE INTESTINAL CONGÊNITA).....	27
4	CASUÍSTICA E MÉTODO	35
4.1	CASUÍSTICA.....	35
4.2	MÉTODO	36
4.3	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	38
4.4	TÉCNICA HISTOQUÍMICA PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ACETILCOLINESTERASE	39
4.5	AVALIAÇÃO DAS COLECTOMIAS.....	41
4.6	AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA.....	43
4.7	AVALIAÇÃO FOTOGRÁFICA.....	43
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5	RESULTADOS	45
5.1	AVALIAÇÃO DAS BIÓPSIAS DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	45
5.1.1	Resultados epidemiológicos	45
5.1.2	Resultados qualitativos	48
5.1.3	Resultados quantitativos	53
5.2	AVALIAÇÃO DOS ESPÉCIMES CIRÚRGICOS PROVENIENTES DAS CIRURGIAS DE ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON (COLECTOMIAS)	62
5.2.1	Resultados epidemiológicos	62
5.2.2	Resultados qualitativos	64
5.2.3	Resultados quantitativos	68
6	DISCUSSÃO.....	73
7	CONCLUSÕES.....	84
	ANEXO – LISTA DOS PACIENTES ESTUDADOS ENTRE 1988 E 1999 NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE.....	85
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Desenho esquemático da inervação normal do intestino e seus distúrbios.....	34
Figura 2 - Pinça de biópsia por sucção com controle manométrico (modelo Noblett) utilizada para a obtenção das amostras de mucosa retal nos 445 pacientes estudados	37
Figura 3 - Fragmentos de mucosa retal obtidos pela pinça de sucção	37
Figura 4 - Fotomicrografia panorâmica para demonstrar a orientação e satisfatoriedade das amostras obtidas através da biópsia de reto por sucção	39
Figura 5 – Demonstra a técnica de amostragem do espécime cirúrgico proveniente de colectomia.....	42
Figuras 6 e 7 – Fotomicrografias de biópsia de reto por sucção em paciente normal demonstrando a presença de grupamento de células ganglionares na submucosa.	49
Figura 8 - Fotomicrografia de biópsia retal de paciente normal corada pelo método da acetilcolinesterase e contra-corada com hematoxilina.....	50
Figura 9 - Fotomicrografia demonstrando um grupamento de células ganglionares na submucosa corado pela técnica da acetilcolinesterase	50
Figuras 10 e 11 – Fotomicrografias de biópsia de reto por sucção demonstrando a hiperplasia e hipertrofia de filetes nervosos na submucosa do reto em paciente portador da doença de Hirschsprung.....	51
Figuras 12 e 13 – Fotomicrografias de biópsia retal de paciente portador da doença de Hirschsprung.....	52
Figura 14 – Fotomicrografia de biópsia retal de paciente portador da doença de Hirschsprung.....	53
Figura 15 – Fotografia macroscópica de segmento colônico fechado	65
Figura 16 – Fotografia macroscópica de espécime cirúrgico aberto.....	65

Figuras 17 e 18 – Fotomicrografias demonstrando a presença de tronco nervoso hipertrófico no plexo mioentérico em espécime cirúrgico de colectomia com abaixamento de reto em paciente portador da doença de Hirschsprung 66

Figura 19 – Fotomicrografia demonstrando a presença de tronco nervoso hipertrófico no plexo mioentérico em espécime cirúrgico de colectomia de paciente portador da doença de Hirschsprung. 67

Figuras 20 e 21 – Fotomicrografias demonstrando a ausência do plexo mioentérico com justaposição das túnicas musculares circular e longitudinal em espécime cirúrgico de colectomia total com abaixamento ileo-anal em paciente portador da doença de Hirschsprung na forma de Aganglionose Total do Cólon 68

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – RELAÇÃO ENTRE SEXO MASCULINO E FEMININO NOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	46
GRÁFICO 2 – DEMONSTRAÇÃO DOS GRUPOS ETÁRIOS DOS 363 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA ENZIMÁTICA PELA ACETILCOLINESTERASE	48
GRÁFICO 3 - RESULTADO DA AVALIAÇÃO DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO	54
GRÁFICO 4 – PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA NOS 363 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	58
GRÁFICO 5 - PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM O SEXO NOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	60
GRÁFICO 6 – DEMONSTRA O PREDOMÍNIO DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NO SEXO MASCULINO EM 125 DE 151 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE SE COMPARADO COM AS 26 PACIENTES DO SEXO FEMININO COM O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA.....	61
GRÁFICO 7 – GRUPOS ETÁRIOS DOS 64 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A COLECTOMIA COM ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON.....	64
GRÁFICO 8 - DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DEFINITIVO DO ESPÉCIME CIRÚRGICO DE COLECTOMIA NOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON	69

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DE ACORDO COM O SEXO DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	45
TABELA 2 – GRUPOS ETÁRIOS DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA ENZIMÁTICA PELA ACETILCOLINESTERASE	47
TABELA 3 – RESULTADO DA AVALIAÇÃO DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO.....	54
TABELA 4 – CAUSAS DE RESULTADOS INCONCLUSIVOS.....	55
TABELA 5 – MOTIVOS DE RE-BIÓPSIA NOS 28 PACIENTES SUBMETIDOS A UMA SEGUNDA AVALIAÇÃO ATRAVÉS DA BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA ENZIMÁTICA PELA ACETILCOLINESTERASE	56
TABELA 6 – RESULTADO DAS RE-BIÓPSIAS DE RETO POR SUCÇÃO NOS 28 PACIENTES RE-BIÓPSIADOS DE UM TOTAL DE 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	56
TABELA 7 - PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA NOS 363 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	57
TABELA 8 - PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM O SEXO NOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE	59
TABELA 9 – RELAÇÃO ENTRE SEXO FEMININO E MASCULINO DOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A COLECTOMIA	62
TABELA 10 - GRUPOS ETÁRIOS DOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A COLECTOMIA	63
TABELA 11 – DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DEFINITIVO NOS ESPÉCIMES CIRÚRGICOS DE COLECTOMIA.....	69

TABELA 12 – RELAÇÃO ENTRE FAIXA ETÁRIA E DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DE DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NAS COLECTOMIAS..... 70

TABELA 13 – RELAÇÃO ENTRE SEXO E DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DE DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NAS COLECTOMIAS..... 70

TABELA 14 – CORRELAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DE DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NOS ESPÉCIMES CIRÚRGICOS DE COLECTOMIA COM O DIAGNÓSTICO PRÉVIO DA BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE 71

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - MIGRAÇÃO DOS NEUROBLASTOS NO TRATO GASTRINTESTINAL, SEGUNDO A IDADE GESTACIONAL	12
---	----

LISTA DE SIGLAS

ACHE - ACETILCOLINESTERASE

HE - HEMATOXILINA-EOSINA

RESUMO

GUGELMIN, E. S. Doença de Hirschsprung (Aganglionose Intestinal Congênita). Curitiba, 2000. 130p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

A biópsia de reto por sucção associada à histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase, desde os relatos de MEIER-RUGE et al. em 1972, vem ganhando grande aceitação como um meio de diagnóstico definitivo da doença de Hirschsprung, bem como na exclusão deste diagnóstico quando se avaliam crianças portadoras de constipação crônica ou pseudo-obstrução intestinal ao nascimento. No Brasil há poucos relatos do uso da biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase. O presente estudo retrospectivo representa uma das maiores casuísticas nacionais. No Hospital Infantil Pequeno Príncipe, Curitiba, durante 11 anos - 1988 a 1999 – 445 crianças portadoras de obstipação intestinal crônica ou pseudo-obstrução intestinal ao nascimento foram avaliadas. Destas, 151 crianças foram diagnosticadas como portadoras da doença de Hirschsprung. O diagnóstico desta doença foi feito através da biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pelo método da acetilcolinesterase. A presente série de pacientes incluiu crianças com idades variando entre 2 dias e 15 anos e uma paciente adulta com 30 anos. A prevalência da doença de Hirschsprung nesta série de pacientes foi de 33,93%, com 4 pacientes masculinos: 1 feminino, e 46,97% dos

pacientes na faixa etária de 0 a 1 ano. Todos os 151 pacientes com diagnóstico de doença de Hirschsprung apresentaram ausência de células ganglionares na submucosa e a presença de fibras colinérgicas proliferadas na muscular da mucosa e na submucosa detectados por reações positivas pelo método da acetilcolinesterase. As biópsias das crianças normais demonstraram reações negativas e 1 paciente apresentou reação falso-negativa, não ocorrendo nenhum resultado falso-positivo. O resultado da biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase foi comparado com os resultados de 68 espécimes cirúrgicos provenientes de cirurgias de abaixamento de reto obtendo-se um índice de acurácia diagnóstica de 95,59%. O método obteve ainda alto índice de sensibilidade (96,97%) e alto valor preditivo positivo (100%).

ABSTRACT

GUGELMIN, E. S. **Hirschsprung's disease (Congenital Aganglionosis)**. Curitiba, 2000. 130p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná.

Suction rectal biopsy and the histochemical method for demonstrating acetylcholinesterase-positive nerve fibers have gained great acceptance as a mean to establish the diagnosis of Hirschsprung's disease, as well as for excluding this diagnosis when evaluating children with intestinal pseudo-obstruction since birth and chronic constipation. This has been shown since 1972 by MEIER-RUGE et al. In Brazil there are few reports regarding the use of suction rectal biopsy and the demonstration of acetylcholinesterase activity in the diagnosis of Hirschsprung's disease. The present retrospective study represents the largest national series. In the Hospital Infantil Pequeno Príncipe, Curitiba-PR, during 11 years, 1988 to 1999, 445 children with intestinal pseudo-obstruction in the neonate period or chronic constipation were investigated. Hirschsprung's disease was diagnosed in 151 children. The diagnosis of Hirschsprung's disease by suction rectal biopsy and acetylcholinesterase staining was straightforward in most cases. The studied series included children 2 days to 13 years old and one adult patient 30 years old. The prevalence of Hirschsprung's disease in this series was 33.93% with a 4 to 1 male/female ratio, and 46.97% were diagnosed under one year of age. All patients with Hirschsprung's disease (151 patients) presented absence of submucosal ganglion cells and an increased acetylcholinesterase activity within the hypertrophic para-sympathetic nerve fibers of the muscularis mucosae and submucosa. The

biopsies on normal children were acetylcholinesterase negative. There was one false-negative result, and there were no false-positives. The results of rectal suction biopsy and acetylcholinesterase activity were then compared with the results of 68 resected bowel segment from pull-through operations (gold standard), resulting an accuracy rate of 95.59%. The method had a positive predictive value of 100% (sensitivity 96,97%; specificity 50%).

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Hirschsprung é uma afecção congênita encontrada na população infantil em todo o mundo. Embora já seja conhecida há mais de cem anos, esta doença ainda desafia os estudiosos no que diz respeito aos seus aspectos etiológicos, diagnósticos e terapêuticos. Ela se caracteriza pela ausência de células ganglionares nos plexos mioentéricos e submucosos do cólon e reto e sua presença nas porções mais proximais, levando à obstrução funcional do segmento agangliônico. A doença foi observada pela primeira vez em 1691 por Ruysch que relatou um caso de dilatação congênita do cólon (citado por EHRENPREIS, 1946).

Em 1886 Harald Hirschsprung apresentou a afecção como uma entidade clínica no Congresso de Pediatria de Berlim, chamando-a de Dilatação Congênita do Cólon, uma vez que desde o nascimento havia obstipação severa com dilatação do cólon. Descreveu os achados de necrópsia de duas crianças que apresentavam um cólon dilatado e hipertrofiado, sem nenhum processo obstrutivo ou mecânico que justificasse os sintomas ou as alterações anátomo-patológicas (citado por EHRENPREIS, 1946). Seu trabalho foi publicado em 1887 como “Constipação no recém-nascido devido a dilatação e hipertrofia do cólon” (HIRSCHSPRUNG, 1887).

Mya em 1894, interpretou a dilatação colônica como sendo a causa do problema e a denominou Megacólon Congênito (citado por SIEBER, 1986). Alguns anos mais tarde, a afecção foi denominada com o epônimo de Moléstia de Hirschsprung. Atualmente tem sido designada como Megacólon Congênito,

Aganglionose Congênita e Megacólon Agangliônico, entretanto segundo SIEBER (1986) o termo mais apropriado parece ser Aganglionose Intestinal Congênita, uma vez que a doença pode comprometer outros segmentos intestinais além do cólon.

A etiopatogenia da doença de Hirschsprung é desconhecida. Existem várias teorias incluindo a parada de migração neuronal, infecção viral ou distúrbio vascular. A existência de formas familiares desta doença e a associação com outras anomalias congênitas, como a Síndrome de Down, têm levado a muitas investigações genéticas com identificação de genes que podem contribuir para a compreensão do mecanismo fisiopatológico.

Desde o reconhecimento da patologia básica da doença de Hirschsprung no final da década de 1940, os meios diagnósticos mudaram com o advento do criostato e das técnicas histoquímicas.

Este trabalho tem como finalidade apresentar a casuística do Hospital Infantil Pequeno Príncipe de pacientes que foram investigados por pseudo-obstrução intestinal no período neonatal ou obstipação intestinal crônica na infância, no sentido de averiguar a utilidade da biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase como método diagnóstico na doença de Hirschsprung.

2 OBJETIVOS

1 - Avaliar a prevalência da doença de Hirschsprung em 445 pacientes submetidos a biópsia de reto por sucção e histoquímica pelo método da acetilcolinesterase como complementação da investigação de obstipação intestinal crônica ou pseudo-obstrução intestinal no período neonatal realizadas no período de 1988-1999 no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Infantil Pequeno Príncipe.

2 - Avaliar o perfil epidemiológico dos pacientes portadores da doença de Hirschsprung em comparação com a população normal na presente série.

3 - Avaliar o grau de acurácia, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, sensibilidade, especificidade, número de falsos-negativos e de falsos-positivos da biópsia de reto por sucção associada à histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase como método diagnóstico da doença de Hirschsprung em nossa casuística, correlacionando com o diagnóstico definitivo após cirurgia de abaixamento do reto/cólon (padrão ouro).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ANATOMIA, HISTOLOGIA E FISILOGIA DA INERVAÇÃO NORMAL DO CÓLON E RETO

O funcionamento mecânico normal do intestino depende de um suprimento nervoso integrado interagindo com a musculatura lisa das túnicas musculares próprias do intestino. A inervação do cólon é realizada pelo Sistema Nervoso Autônomo, com componentes do sistema simpático, parassimpático e purinérgico. O cólon ascendente e o intestino delgado são supridos por fibras nervosas simpáticas pós-gangliônicas derivadas do plexo celíaco, enquanto que o cólon descendente e reto são supridos por fibras nervosas simpáticas pré-gangliônicas derivadas dos segmentos lombares (L1-L3) da medula espinhal. A inervação parassimpática do cólon ascendente deriva do Nervo Vago Direito, porém não há evidências claras de que esta inervação alcance o reto. Um suprimento adicional de fibras nervosas parassimpáticas provenientes do plexo sacral (S2-S4) inervam o reto e o cólon descendente e há evidências de que a densidade de fibras é maior no reto e mínima na flexura esplênica do cólon, com decréscimo exponencial. A inervação purinérgica parece ser intrínseca com comunicação entre as células ganglionares dos três plexos, com pouca ou nenhuma conexão extrínseca (BURNSTOCK, 1972).

Do ponto de vista histológico o intestino normal contém três plexos nervosos que consistem de neurônios, fibras nervosas e células de sustentação (células de Schwann). O plexo mioentérico (de Auerbach) está situado entre as túnicas musculares circular e longitudinal, enquanto que os plexos submucosos estão

presentes abaixo da muscular da mucosa (plexo de Meissner) e acima da túnica muscular circular (plexo de Henle). As fibras nervosas que correm paralelas às fibras musculares nas túnicas musculares longitudinal e circular da parede colônica formam uma rede interconectada com neurônios e fibras nervosas dos plexos submucosos e mioentérico.

NORBERG (1964 e 1971) e BAUMGARTEN (1967), entre outros, demonstraram que as fibras nervosas simpáticas entram no intestino grosso junto com os vasos e terminam numa rede sináptica em torno das células ganglionares do sistema nervoso parassimpático no plexo mioentérico. Portanto assume-se que as fibras nervosas simpáticas também estão envolvidas na inibição da estimulação colinérgica.

Enquanto que a inervação simpática do intestino delgado e do cólon é similar, a inervação parassimpática do cólon, distal à flexura esplênica, apresenta peculiaridades que podem explicar uma série de características fisiológicas e patológicas deste segmento do intestino. Esta inervação parassimpática extramural adicional, originária do plexo sacral, aumenta a força contrátil do músculo circular, órgão efector do sistema nervoso parassimpático extramural, produzindo o endurecimento e amoldamento do bolo fecal.

No cólon normal de uma criança após os 6 meses de idade as células ganglionares do plexo de Meissner ocorrem a cada 1 mm em grupamentos de 1 a 5 células numa densidade estimada de 17 células/mm². No reto há uma zona normal hipogangliônica que se estende desde a linha pectínea, também denominada linha denteada ou junção muco-cutânea, a uma distância que varia conforme o plexo que se está considerando e a idade da criança. A distância da zona hipogangliônica para

o plexo mioentérico é de cerca de 4 mm, para o plexo de Meissner é de cerca de 10 mm, e para o plexo de Henle é de 7 mm. No plexo de Meissner as células ganglionares acham-se distribuídas de forma esparsa nesta zona hipogangliônica, e podem não ser vistas a não ser que se examinem muitos cortes histológicos seriados. A densidade de células ganglionares torna-se normal 2 a 3 cm acima da linha pectínea e não varia muito além deste ponto (ALDRIDGE & CAMPBELL, 1968).

Nos neonatos e crianças até 6 meses de idade pode haver imaturidade dos plexos submucosos e ao invés de células ganglionares com citoplasma amplo e núcleo contendo nucléolo proeminente, as unidades neurais aparecem como grupamentos de células pequenas, com núcleos hipercromáticos desprovidos de nucléolos, dispostas num arranjo em ferradura e centradas por escassa matriz fibrilar (SMITH, 1968).

A motilidade colônica propulsiva envolve uma onda de contração precedida de uma onda de relaxamento. Esta atividade muscular é regulada pela inervação intrínseca do intestino, que inclui fibras colinérgicas excitatórias e fibras adrenérgicas inibitórias. Ainda fazendo parte da inervação intrínseca há fibras não-colinérgicas excitatórias e fibras não-adrenérgicas inibitórias, denominadas de purinérgicas sendo que o neurotransmissor destes nervos purinérgicos é a adenosina trifosfato (BURNSTOCK, 1972).

3.2 EVOLUÇÃO HISTÓRICA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (AGANGLIOSE INTESTINAL CONGÊNITA)

Desde o início deste século vários pesquisadores vêm tentando estabelecer o substrato anátomo-patológico desta entidade. Tittel em 1901 relatou, em um caso

de Megacólon Congênito, que as células ganglionares do plexo mioentérico colônico estavam diminuídas em número e com alterações degenerativas, porém no íleo estas células tinham aspecto normal. Concluiu que tais alterações do plexo mioentérico colônico eram decorrentes de um peristaltismo anormal na criança (citado por TIFFIN et al., 1940).

Dalla-Valle em 1920 e 1924 relatou a ocorrência da doença de Hirschsprung em dois irmãos. Estudou o plexo mioentérico de ambos os casos e descobriu a ausência de células ganglionares no intestino distal ao megacólon. Nos demais segmentos do cólon os plexos mioentéricos tinham aspecto normal (citado por TIFFIN et al., 1940).

ALVAREZ em 1922 num estudo da motilidade do trato digestivo demonstrou que o segmento espástico, desprovido de células ganglionares e distal à dilatação, poderia ser a causa da doença de Hirschsprung.

Ishikawa em 1923 demonstrou a ausência de fibras parassimpáticas no cólon distal de uma menina de 4 anos portadora de megacólon e atribuiu a este achado a causa da doença (citado por EHRENPREIS, 1946).

ROBERTSON & KERNOHAN em 1938 descreveram o exame de necrópsia de um menino que apresentou o aspecto clássico da doença de Hirschsprung. No exame histológico, utilizando métodos de coloração pela prata, cresil violeta e hematoxilina-eosina, observaram que as células ganglionares do plexo mioentérico eram menores do que as normais, vacuolizadas e às vezes estavam ausentes. Concluíram que tais alterações não poderiam ser explicadas por agressão tóxica ao plexo nervoso.

TIFFIN et al. em 1940 relataram o achado de necropsia de um menino com 1 ano e 8 meses, portador de megacólon congênito. O estudo histopatológico revelou a ausência das células ganglionares no plexo mioentérico em uma área de 5 a 7 cm no cólon sigmóide. Nas porções acima e abaixo deste segmento a população neuronal estava presente, sendo de aspecto normal. Concluíram que neste paciente o distúrbio motor intestinal estava associado à ausência de células ganglionares e denominaram a doença de megacólon idiopático.

Por outro lado, Bretano (1904), Finney (1908), Schmidt (1909), Retzlaff (1920) e Passler (1938), relataram que as células ganglionares estavam presentes nos casos de megacólon. Entretanto estes autores pesquisaram a parte hipertrofiada e dilatada do cólon, ou seja a região normalmente povoada pelas células ganglionares (citados por BODIAN et al., 1949).

Em 1946 EHRENPREIS defendeu tese de doutoramento sobre Megacólon Congênito no Recém-Nascido. Na primeira parte fez extensa revisão bibliográfica onde reconheceu os trabalhos de Tittel, Ishikawa e Dalla-Valle, citando também os trabalhos de outros autores sobre a doença. A parte prática constou de um estudo radiológico contrastado comparando 107 neonatos normais com 10 portadores da moléstia de Hirschsprung. Demonstrou, por meio de enema opaco, que havia um segmento distal estreitado seguido de uma dilatação proximal. Concluiu que o megacólon poderia ser definido como uma alteração do esvaziamento colônico, de origem desconhecida, sem causas morfológicas ou mecânicas, sendo a dilatação da alça um fenômeno secundário.

ZUELZER & WILSON em 1948 descreveram onze casos de obstrução intestinal funcional que tiveram início no período neonatal. Um dos casos estava

relacionado à incidência familiar. Instituíram tratamento cirúrgico que compreendeu laparotomia e colostomia, porém como não detectaram lesão orgânica fecharam a colostomia. Oito crianças foram a óbito e em sete casos o exame histológico do cólon distal mostrou ausência das células ganglionares no plexo mioentérico. Estes autores concluíram que o distúrbio de motilidade funcional de tais casos estava relacionado à ausência congênita das células nervosas do sistema nervoso entérico. Reconheceram que houve erro na conduta cirúrgica deste grupo de crianças e sugeriram que o tratamento correto deveria ser a ressecção do segmento agangliônico sem peristaltismo.

A tese de Whitehouse publicada em 1948 avaliou a etiopatogenia do megacólon congênito em 11 necropsias de pacientes portadores de tal moléstia. O autor observou em todos os casos a ausência de células ganglionares no plexo mioentérico na área estreitada do cólon. Em 80% dos casos encontrou uma área de transição entre o cólon proximal dilatado e a região distal estreitada, onde havia uma menor quantidade de células ganglionares.

Outra observação importante do estudo de WHITEHOUSE & KERNOHAN (1948) foi a identificação de troncos nervosos não-mielinizados entre a camada circular e longitudinal do cólon distal estreitado em todos os casos de megacólon.

BODIAN et al. em 1949 descreveram o aspecto histológico neuroentérico de quinze crianças portadoras da doença de Hirschsprung. Após ampla revisão da literatura encontraram observações contraditórias nas investigações histológicas tais como: presença das células ganglionares no segmento dilatado e hipertrofiado, alterações degenerativas no plexo mioentérico, ausência de células ganglionares no cólon sigmóide sem menção ao aspecto do plexo nervoso no reto distal, aplasia

localizada das células ganglionares no cólon sigmóide. O achado principal na sua amostra foi a ausência completa dos plexos submucosos e mioentérico em todo o segmento estreitado, ou seja, abaixo da zona de transição. Na porção distal do intestino, ou seja na área agangliônica, os plexos nervosos consistiam de filetes nervosos e células intersticiais. Não foi encontrado nenhum tipo de processo inflamatório associado conforme as observações de Cameron (citado por WHITEHOUSE & KERNOHAN, 1948). Os autores concluíram que a ausência de células ganglionares era o fator responsável pela falta de atividade do sistema parassimpático em sua função de coordenar o movimento propulsivo do segmento distal, que se mantinha em constante espasmo. Esta aperistalse distal levaria à dilatação e hipertrofia do cólon proximal. Sugeriram que a ausência de células ganglionares poderia ser de origem congênita.

3.3 TEORIAS SOBRE A ETIOPATOGENIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (AGANGLIONOSE INTESTINAL CONGÊNITA)

A etiopatogenia da doença de Hirschsprung é desconhecida. Existem várias teorias na tentativa de esclarecê-la, tais como a teoria da parada de migração neuronal, infecção viral ou distúrbio vascular. De que maneira as células derivadas da crista neural diferenciam-se em diferentes locais no embrião dos vertebrados ainda é um assunto intrigante. Muitos estudos têm sido feitos no sentido de tentar explicar sob que mecanismos as células da crista neural escolhem os diferentes caminhos a serem tomados em sua migração durante a embriogênese. Embora a maioria dos casos de doença de Hirschsprung seja de ocorrência esporádica, a existência de formas familiares da doença (cerca de 10% dos casos) e a associação

com outras anomalias congênitas, como a Síndrome de Down (cerca de 10% dos casos), têm levado a muitas investigações genéticas com identificação de genes que representam algum papel na sua etiopatogenia.

3.3.1 Teoria do distúrbio de migração neuronal

OKAMOTO & UEDA (1967) realizaram um estudo em embriões humanos com o objetivo de investigar o desenvolvimento embriológico da inervação parassimpática do tubo digestivo, visando correlacionar seus resultados com a patogênese da doença de Hirschsprung. O estudo constou de 18 embriões humanos, cujo período gestacional variou entre 5 e 36 semanas. Os cortes histológicos do tubo digestivo foram corados pelo método de impregnação pela prata. Um dos achados importantes deste estudo foi a grande quantidade de neuroblastos encontrados no terço médio e inferior do esôfago na sexta semana de idade gestacional. Isto sugeriu a hipótese de que a migração dos neuroblastos seria no sentido crânio-caudal (Quadro 1). Este estudo constituiu a base para a interpretação de que a parada de migração dos neuroblastos antes da décima segunda semana de gestação poderia ser a causa da aganglionose em extensões variáveis do tubo digestivo. Entretanto o fator causal desta interrupção não foi encontrado.

QUADRO 1 - MIGRAÇÃO DOS NEUROBLASTOS NO TRATO GASTRINTESTINAL, SEGUNDO A IDADE GESTACIONAL (ADAPTADO DE OKAMOTO & UEDA, 1967)

IDADE GESTACIONAL	LOCAL
5ª Semana	Porção superior do esôfago
6ª Semana	Todo o esôfago
7ª Semana	Esôfago, estômago, duodeno até íleo proximal
8ª Semana	Intestino delgado, cólon ascendente e porção mediana do cólon transverso
12ª Semana	Reto e canal anal

A extensão do segmento agangliônico dependeria do período embrionário em que se estabeleceu a lesão:

7ª Semana: Aganglionose Total do Cólon e Íleo distal

8ª Semana: Aganglionose do Cólon

9ª Semana: Aganglionose do Cólon Descendente e Reto-Sigmóide

10ª/12ª Semanas: Aganglionose do Sigmóide/Reto.

Desta forma se ocorrer uma parada de migração neuronal entre a sexta e a décima-segunda semana do desenvolvimento embrionário, as fibras nervosas do sistema parassimpático extramural provenientes do plexo sacral, que já estão desenvolvidas nesta fase, produzirão um estado de contração permanente (espasticidade) da túnica muscular circular do intestino.

TAM (1986) demonstrou em embriões humanos, que a população neuronal do trato gastrointestinal apresentava dupla origem no seu desenvolvimento. As células ganglionares originavam-se das extremidades e migravam em direção ao meio do trato gastrointestinal. Esta pesquisa compreendeu embriões de 9 a 21 semanas, onde foram estudadas a diferenciação e a maturação dos neurônios

entéricos com técnica imunohistoquímica utilizando anticorpo monoclonal anti-enolase neurônio específica (ENE). O autor concluiu que uma alteração no meio ambiente dos neurônios entéricos poderia levar a um defeito na diferenciação e como conseqüência à aganglionose intestinal. KAPUR (1993) sugere que o defeito possa estar relacionado com componentes da matrix extracelular, possivelmente a ausência de um ou mais fatores de crescimento, mais do que um defeito intrínseco dos neuroblastos em migração.

3.3.2 Teoria da infecção viral

HERSHLAG et al. (1984) relataram um caso de recém-nascido portador da doença de Hirschsprung associado à infecção pelo citomegalovírus. Tal fato já havia sido descrito por HAGMANN et al. (1969), CHOW et al. (1977) e DIMMICK (1981). A infecção pelo citomegalovírus na criança ocorre por via transplacentária ou adquirida. A presença deste agente no trato gastrintestinal do recém-nascido foi confirmada pelo exame histológico, e foi apontada como sendo a causa da destruição das células ganglionares.

3.3.3 Teoria do distúrbio vascular

LISTER (1966) relatou alterações arteriais na parede intestinal nos casos de megacólon congênito. Tais alterações foram caracterizadas como lesões hamartomatosas ou endarterites. Foram detectadas na zona de transição do megacólon. Portanto a migração neuronal poderia ter sido bloqueada devido às

alterações isquêmicas nesta região, levando a aganglionose. EARLAM (1972) propôs que o evento isquêmico poderia ser decorrente da rotação intestinal que ocorre de maneira fisiológica durante a embriogênese. Este mecanismo de rotação, se inadequado, poderia produzir isquemia da porção distal do intestino levando a aganglionose.

TAGUCHI et al. (1985) descreveram 8 casos de doença de Hirschsprung onde foram observadas alterações morfológicas vasculares no cólon, caracterizadas como displasia fibromuscular com proliferação das células musculares lisas na adventícia. Sugeriram que esta alteração vascular poderia levar à isquemia do cólon durante a embriogênese, com interrupção na migração dos neuroblastos no sentido crânio-caudal.

3.3.4 Teoria da origem genética

Inúmeros trabalhos sugerem a existência de um fator genético responsável por algumas formas da doença de Hirschsprung. A incidência familiar da doença tem sido descrita em numerosos estudos. Esta incidência varia de 2,4 a 7,8% em diferentes casuísticas como a de BODIAN & CARTER (1963), KLEINHAUS et al. (1979) e IKEDA & GOTO (1984). REYNOLDS et al. (1983) realizaram um estudo genealógico, e o padrão foi compatível com herança recessiva ligada ao cromossomo X, embora não pudessem excluir o modo autossômico dominante de penetrância incompleta nas meninas.

STANNARD et al. (1991) descreveram três pacientes portadores de doença de Hirschsprung com antecedentes familiares. Analisando a árvore genealógica

sugeriram que a herança poderia ser tanto uma condição recessiva ligada ao cromossomo X como uma herança autossômica dominante. A transmissão materna está implicada pelo fato de que mães com doença de Hirschsprung mais provavelmente terão crianças afetadas do que quando os pais é que são acometidos pela doença. Em 5 a 10% dos casos existe um irmão afetado. Há um aumento na incidência de doença de Hirschsprung em pacientes portadores da Síndrome de Down e uma grande variedade de outras lesões neurológicas sérias (OMENN et al. 1979).

Em 1990 BADNER et al. em uma revisão de casos familiares de Aganglionose Intestinal Congênita, propuseram que os casos de segmento curto eram decorrentes de herança genética autossômica recessiva e os casos de segmento longo eram autossômicos dominantes. Posteriormente MARTUCIELLO et al. (1992), descreveram a deleção de uma área do braço longo do cromossomo 10 em um caso de aganglionose acometendo cólon e intestino delgado.

Em 1993 LYONNET et al. realizaram mapeamento do cromossomo 10 de um paciente com aganglionose e observaram que no local da deleção do cromossomo estava localizado um gene autossômico dominante, o proto-oncogene RET (Receptor de Tirosinoquinase). Mutações no proto-oncogene RET têm sido hoje encontradas em até 50% das formas familiares da doença de Hirschsprung e em até 15-20% dos casos esporádicos. Estas mutações no proto-oncogene RET são idênticas às encontradas na síndrome de neoplasia endócrina múltipla tipo 2A (MEN2A). Alguns pacientes com doença de Hirschsprung podem, portanto, estar expostos a um risco maior de desenvolver tumores (SIJMONS et al., 1998).

Em 1994 ROMEO et al. identificaram vários tipos de mutações no proto-oncogene RET em pacientes com megacólon congênito familiar. Estas mutações levam à alteração estrutural da proteína RET.

Numa tentativa de maior compreensão da etiologia da doença de Hirschsprung tem se desenvolvido nos últimos anos inúmeros estudos moleculares demonstrando a associação da doença de Hirschsprung com a falta de expressão da molécula de adesão da célula ganglionar e do óxido nítrico nas porções agangliônicas do intestino. Parece que a perda da molécula de adesão do neurônio possa ser a causa da falha de migração, e que a perda de óxido nítrico explicaria a espasticidade nas regiões agangliônicas do intestino (TEITELBAUM, 1995).

Um segundo gene relacionado à doença de Hirschsprung foi localizado recentemente no cromossomo 13 denominado receptor de endotelina beta (EDNRB) e um terceiro gene identificado pelos mesmos autores, o gene de ligação endotelina 3 (EDN3) (ATTIÉ et al, 1996). Outros autores observaram que a perda da função de EDNRB e de EDN3 poderia estar envolvida nas alterações de diferenciação e maturação de células derivadas da crista neural, causando doença de Hirschsprung em muitos pacientes (OUE & PURI, 1999). Ambos os genes também têm sido responsabilizados por algumas formas familiares da doença de Hirschsprung, e a homoziguidade para mutações nestes dois genes foi indicada como a causa da rara associação entre a doença de Hirschsprung e a Síndrome de Waardenburg (WS) (OMENN & McKUSICK, 1979)

Além destas, têm sido descritas mutações no gene que codifica o fator neurotrópico derivado da célula glial (GDNF), que é um gene de ligação do RET (WARTIOVAARA et al, 1998). Com isso a doença de Hirschsprung tem sido

considerada por alguns autores como uma Neurocristopatia Multigênica e o estudo da etiologia genética da doença de Hirschsprung poderá proporcionar uma rara oportunidade de se distinguir doenças poligênicas de doenças geneticamente heterogêneas, ajudando na compreensão de outras doenças complexas e malformações congênitas consideradas de origem multifatorial (SALOMON et al. 1998).

Finalmente, o estudo das bases moleculares da doença de Hirschsprung também representa um passo a mais no sentido do entendimento do desenvolvimento genético do sistema nervoso intestinal, através da compreensão do papel da tirosinoquinase, da endotelina e do micro-ambiente na sinalização do caminho a ser percorrido pelos neurônios intestinais derivados da crista neural. Acredita-se que estudos moleculares virão facilitar o diagnóstico pré-natal ou pós-natal da doença de Hirschsprung, porém para o presente e um futuro próximo, a histopatologia ainda permanece como o método "gold standard" para o diagnóstico da doença de Hirschsprung.

3.4 INCIDÊNCIA

A Doença de Hirschsprung é uma das malformações intestinais mais comuns e afeta 1 a cada 5000 nascidos vivos. Acomete o recém-nascido, porém crianças, jovens e adultos podem apresentar aganglionose intestinal congênita. O sexo masculino é afetado em 70-80% dos casos (KAISER et al., 1982), porém esta incidência no sexo masculino diminui conforme a extensão do segmento afetado aumenta (BODIAN et al., 1963), e alguns autores relatam uma incidência de 1:1

entre o sexo masculino e feminino quando há aganglionose total do cólon. Cerca de 10% dos casos ocorrem em crianças portadoras da Síndrome de Down (Trissomia 21).

3.5 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

A avaliação clínica dos recém-nascidos ou crianças com obstipação intestinal inclui o exame clínico, a radiografia abdominal, o enema opaco, a eletromanometria retal e a biópsia retal.

3.5.1 Exame clínico

Os sinais e sintomas mais freqüentes são os de obstipação intestinal, que no período neonatal poderá se traduzir por ausência de eliminação de mecônio nas primeiras 48 horas de vida com distensão abdominal. Pode ocorrer ainda diarreia no período neonatal ou a primeira manifestação da doença poderá ser a perfuração do cólon ou do apêndice vermiforme. Numa fase mais tardia poderá se traduzir por obstipação intestinal crônica, geralmente desde o nascimento, com períodos de agravamento associados à distensão abdominal, formação de fecalomas e um quadro clínico que lembra a síndrome de má absorção intestinal com déficit pondero-estatural. Não existe uma correlação entre a extensão do segmento agangliônico e a severidade dos sintomas.

O exame clínico do reto em crianças portadoras da doença de Hirschsprung revela um reto vazio e estreito, associado à história clínica de problemas intestinais

desde o nascimento ou logo após o nascimento. Entretanto nas crianças portadoras de obstipação intestinal crônica de causa funcional, principal diagnóstico diferencial com a doença de Hirschsprung, o reto fica distendido e cheio de fezes, associado a encoprese ou a incontinência fecal, e observam-se ainda, distúrbios psicológicos perceptíveis na criança e/ou nos familiares (SIEBER, 1986).

3.5.2 Achados radiológicos

Os achados radiológicos são de importância na correlação anátomo-clínica dos pacientes em investigação de obstipação intestinal crônica. O RX simples demonstra a distensão do cólon, níveis hidroaéreos e ausência de ar no reto. O RX contrastado demonstra uma zona de estreitamento com dilatação intestinal proximal. Entre as duas zonas descritas, de estreitamento e de dilatação, há uma zona chamada de zona de transição, em forma de cone ou funil.

O enema opaco para o diagnóstico da doença de Hirschsprung foi utilizado pela primeira vez por EHRENPREIS (1946), e vem sendo realizado desde 1949, como triagem inicial na avaliação das crianças com suspeita de aganglionose intestinal congênita (SWENSON et al., 1949). A visualização da zona de transição no enema opaco é o sinal radiológico mais fidedigno para o diagnóstico da aganglionose intestinal congênita. Entretanto, a ausência deste sinal não descarta a possibilidade do paciente ser portador da doença (MCDONALD & EVANS, 1954; BERMAN, 1956; EVANS & WILLIS, 1957; HOPE et al., 1965; BERDON & BAKER, 1965). A retenção de bário no cólon por 2 a 3 dias pode ser o único sinal sugestivo da doença em recém-nascidos. O estudo radiográfico é o único meio de investigação

pelo qual se pode acessar a extensão do segmento agangliônico. Na aganglionose total do cólon o enema opaco tem pouco valor diagnóstico. Nas formas curta e ultracurta a zona de transição freqüentemente não é visualizada, necessitando diagnóstico diferencial com outras causas de constipação intestinal crônica através do auxílio de outros métodos diagnósticos. A acurácia do enema opaco varia de 60 a 80%, com 5% de resultados falsos-negativos e mais de 25% de resultados falsos-positivos (SWENSON et al., 1973, ROSENFELD et al., 1984 e TAXMAN et al., 1986)

3.5.3 Eletromanometria anorretal

Com o intuito de melhorar a confiabilidade do diagnóstico pré-operatório da aganglionose intestinal congênita, LAWSON & NIXON (1967) introduziram a eletromanometria anorretal. Este método consiste em avaliar o relaxamento do esfíncter anal interno após a distensão da ampola retal por meio de uma sonda com um balão de látex na extremidade e um segundo balão localizado 1 ou 2 cm do balão retal. Esta sonda é conectada ao transdutor de pressão e este ao polígrafo ou microcomputador, registrando o exame manométrico. A ausência de reflexo esfíncteriano é um valioso elemento na investigação de um paciente com suspeita de doença de Hirschsprung.

A eletromanometria é, portanto, outro exame de grande importância na investigação de pacientes com obstipação intestinal crônica e produz um registro gráfico das pressões de repouso do canal anal e do reflexo retoesfíncteriano. Os pacientes portadores da doença de Hirschsprung apresentam ausência de atividade

propulsiva no segmento agangliônico e ausência do reflexo retoesfincteriano. A acurácia da eletromanometria para diagnóstico da doença de Hirschsprung varia entre 80 e 95% (HOLSCHNEIDER & KRAEFT, 1981; LOENING-BAUKE, 1983; IWAI et al., 1987; MISHALANY et al., 1989; MAFFEI et al., 1994).

3.6 ACHADOS ANÁTOMO-PATOLÓGICOS

A doença de Hirschsprung se caracteriza por um cólon proximal dilatado e hipertrofiado, sem nenhum processo obstrutivo mecânico, extrínseco ou intrínseco, e uma área distal estreitada. A passagem da área dilatada para a área estreitada assume formato de cone, denominada zona de transição (WHITEHOUSE & KERNOHAN, 1948). Esta zona de transição pode medir desde 1 até 15 cm. Na zona de transição as células ganglionares são menores e ocorrem mais esparsamente do que no intestino normal. LISTER & TAM (1990) citam que, em alguns casos, a zona de transição pode ser abrupta ou até mesmo estar ausente.

A doença de Hirschsprung se caracteriza pela ausência de neurônios (células ganglionares) no segmento distal do cólon e sua presença nas porções mais proximais, além de hipertrofia de filetes nervosos na muscular da mucosa, submucosa e no plexo mioentérico. Dependendo da extensão do segmento agangliônico, a doença de Hirschsprung pode ser dividida em 4 categorias principais:

Segmento Curto: o segmento agangliônico não ultrapassa o cólon sigmóide. De acordo com os estudos de EHRENPREIS (1970) esta é a forma mais freqüente (60-75%) e ocorre mais no sexo masculino (4:1).

Segmento Longo: o segmento agangliônico se estende além do cólon sigmóide e compromete extensões variáveis do cólon, porém sem alcançar o ceco. Representa 15-20% dos casos.

Aganglionose Total do Cólon (ZUELZER & WILSON, 1948): todo o cólon está envolvido, junto com extensões variáveis do íleo, jejuno ou até do estômago. A incidência desta forma de aganglionose representa 1 a 6%. É a forma que apresenta o maior número de desafios no que diz respeito ao diagnóstico, prognóstico e tratamento. Na aganglionose total do cólon podem ocorrer algumas áreas contendo células ganglionares, assim como pode faltar a neuro-hipertrofia, ou o padrão histoquímico da coloração pela acetilcolinesterase observados nos casos clássicos de Aganglionose Intestinal Congênita.

Segmento Ultra-Curto: foi descrito por DUHAMEL (1963), inicialmente chamado de "forma anal". É a forma mais rara de aganglionose do reto e segundo alguns autores deve se estender até 4,0 cm acima da linha pectínea (BALLARD, 1996). Seu diagnóstico é difícil e deve estar baseado no mapeamento detalhado da região através de biópsias de reto por sucção e coloração pelo método da acetilcolinesterase (BALLARD, 1996). Esta avaliação permite a distinção entre esta forma rara de aganglionose da zona de hipoganglionose e neuro-hipertrofia fisiológicas dos primeiros 2,0 cm acima da linha pectínea, e também com distúrbios funcionais (acalasia) do esfíncter anal interno cujo diagnóstico não pode ser feito em bases histológicas, e sim através da manometria anorretal.

Outras categorias mais raras de aganglionose também estão descritas na literatura: aganglionose segmentar ou zonal com áreas gangliônicas de permeio ("skip lesion") (McIVER & WHITEHEAD, 1972), algumas vezes questionada (YUNIS

et al., 1983) e outras vezes descrita em casos de aganglionose total do cólon (LAKE, 1989; DE CHADARÉVIAN et al., 1982). Parece que a incidência da aganglionose zonal é tão baixa que não afeta os critérios definidos para o diagnóstico da doença de Hirschsprung. É possível que esta entidade tenha uma etiologia diferente, entretanto a sua existência levanta questões com relação ao conceito de migração crânio-caudal dos neuroblastos para o intestino (OKAMOTO & UEDA, 1967). Talvez outros níveis do sistema nervoso contribuam para a inervação do intestino para justificar áreas gangliônicas no interior de segmentos agangliônicos.

3.6.1 Diagnóstico anátomo-patológico da doença de Hirschsprung através da biópsia de reto

SWENSON et al., 1959 reportaram o diagnóstico da doença de Hirschsprung através de biópsia de reto transmural. Os achados desta investigação foram a presença de troncos nervosos grosseiros no plexo mioentérico e na submucosa, e a ausência de células ganglionares, mesmo em cortes seriados realizados em material fixado em formalina e incluído em parafina. Esta biópsia grande tornava o trabalho do patologista simples, porém causava danos cirúrgicos sérios especialmente nos neonatos, levando à estenoses, sangramentos, perfurações ou fístulas, que poderiam interferir na cirurgia corretiva de abaixamento do cólon. Além disso, a realização da biópsia transmural envolvia o internamento do paciente e a necessidade de anestesia geral.

BODIAN em 1960 recomendou uma biópsia mucosa, na qual era retirada uma tira de mucosa, incluindo a submucosa, medindo 2,0 x 0,5 cm, a qual era

submetida ao processamento histológico em parafina com cortes seriados corados em HE. Entretanto a área biopsiada era ampla e necessitava sutura sob anestesia geral. No mesmo ano GHERARDI (1960) demonstrou que a junção entre o cólon gangliônico e o agangliônico na doença de Hirschsprung estava no mesmo nível, tanto para o plexo submucoso como para o plexo mioentérico, havendo apenas mínimas variações. Com isto o autor indicou que o exame isolado do plexo submucoso era suficiente para o diagnóstico da doença de Hirschsprung.

DOBBINS & BILL (1965) introduziram a técnica de biópsia de reto por sucção para excluir pacientes portadores da doença de Hirschsprung, através de um instrumento de biópsia conjugado a manômetro, e nos casos suspeitos de doença de Hirschsprung recomendavam a confirmação do diagnóstico através de biópsia de reto transmural. Entretanto somente com o trabalho de CAMPBELL & NOBLETT (1969) a biópsia por sucção passou a ser reconhecida como método diagnóstico na doença de Hirschsprung, uma vez que é facilmente obtida através de pinça especial, sendo o paciente atendido a nível ambulatorial, sem necessidade de anestesia e com raras complicações.

A identificação do método de coloração pela tiocolina por KARNOVSKY & ROOTS (1964) contribuiu para que MÉIER-RUGE et al. (1968) recomendassem a aplicação deste método histoquímico, em material congelado a fresco e obtido por biópsia de sucção, para demonstração da atividade enzimática da acetilcolinesterase nas fibras nervosas parassimpáticas da mucosa e submucosa do reto em casos suspeitos de doença de Hirschsprung. Estes autores observaram que havia aumento na quantidade e espessura de fibras nervosas acetilcolinesterase-positivas na lâmina própria e na muscular da mucosa em pacientes portadores da

doença de Hirschsprung. Desta forma esta técnica combinada de biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase em material congelado passou a ser utilizado como método diagnóstico simples e confiável da doença de Hirschsprung (MEIER-RUGE et al., 1972; ELEMA et al., 1973; CHOW et al., 1977; LAKE et al., 1978; WAKELY & McADAMS, 1984; GOTO et al., 1984).

Nos indivíduos normais a atividade da acetilcolinesterase pode estar ausente ou é mínima nas amostras, tanto na lâmina própria como na muscular da mucosa e na submucosa. Pelo contrário, nos pacientes portadores da doença de Hirschsprung, nota-se grande aumento no número e espessura das fibras nervosas acetilcolinesterase-positivas na submucosa, muscular da mucosa e lâmina própria da mucosa nos casos clássicos de segmento curto e longo. A presença de fibras nervosas acetilcolinesterase-positivas na lâmina própria nos casos de doença de Hirschsprung é observada freqüentemente apenas após os 6 meses de idade. No recém-nascido os filetes nervosos grosseiros, acetilcolinesterase-positivos são observados apenas na submucosa e na muscular da mucosa (BRITO & MAKSOUD, 1987). Pacientes portadores de Aganglionose Total do Cólon freqüentemente não apresentam hipertrofia e hiperplasia dos filetes nervosos acetilcolinesterase-positivos na submucosa e no plexo mioentérico, fazendo com que o testemunho da ausência de células ganglionares seja fundamental para o diagnóstico. De acordo com BALLARD, 1996, as formas de aganglionose intestinal congênita interpretadas clinicamente como de segmento ultra-curto devem se estender até 4,0 cm da linha pectínea, caso contrário deverão ser interpretados como distúrbios funcionais (acalasia) do esfíncter anal interno, cujo diagnóstico não pode ser feito histologicamente, e cujo tratamento é a anorretomiectomia.

Outros métodos histoquímicos também estão descritos na literatura, como a visualização de fibras nervosas catecolamina-positivas na área de aganglionose colônica (BENNETT et al., 1968; GANNON et al., 1969; MEIER-RUGE, 1968; MEIER-RUGE & MORGER, 1968).

Os métodos imunohistoquímicos utilizando anticorpos mono e policlonais para diagnóstico da doença de Hirschsprung servem apenas para evidenciar a presença de células ganglionares. A enolase neurônio específica (ENE) e a proteína S100 não recapitulam o padrão de positividade observado com o método da acetilcolinesterase (HALL & LAMPERT, 1985). São métodos que complementam a análise de casos em que há imaturidade dos plexos nervosos e dificuldade em se identificar as células ganglionares, e o reconhecimento da presença destes plexos imaturos facilita a exclusão do diagnóstico da doença de Hirschsprung. As células ganglionares podem permanecer imaturas por algum tempo durante o primeiro ano de vida (VENUGOPAL et al., 1981). Dois novos anticorpos permitem a caracterização histopatológica da Aganglionose Intestinal Congênita: peripherin – um filamento intermediário dito específico para neurônios periféricos, incluindo as células ganglionares do intestino (SZABOLES et al., 1996), e o anticorpo monoclonal 171B5 – o qual detecta vesículas sinápticas (YAMATAKA et al., 1992). Entretanto nenhum destes marcadores é utilizado de rotina no diagnóstico da doença de Hirschsprung.

Alguns autores têm sugerido ainda que tanto os pacientes portadores de doença de Hirschsprung como os outros pacientes portadores de pseudo-obstrução intestinal apresentam anormalidades num sistema de inervação intestinal não-adrenérgico e não-colinérgico, e que tem sido caracterizado como VIP-érgico (FREUND et al., 1981; DUPONT et al., 1980; LARSSON et al., 1983, 1987, 1988).

Estes investigadores têm sugerido que o VIP (Peptídeo Intestinal Vasoativo) atua como inibidor da neurotransmissão neste sistema VIP-érgico, sendo responsável pelo relaxamento intestinal, e portanto, no segmento agangliônico da Doença de Hirschsprung o VIP não foi detectado imunohistoquimicamente, enquanto que sua imunopositividade é muito alta nas células ganglionares e nervos nas doenças denominadas clinicamente de pseudo-Hirschsprung. Entretanto o estudo imunohistoquímico para detectar a inervação VIP-érgica do intestino não tem sido utilizada como método diagnóstico seletivo para pacientes portadores de doença de Hirschsprung ou pseudo-obstrução intestinal (pseudo-Hirschsprung).

3.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (AGANGLIOSE INTESTINAL CONGÊNITA)

Esta categoria de doenças tem sido denominada, em bases clínicas, pseudo-Hirschsprung, e inclui dois grupos principais: doenças que afetam os nervos e doenças que afetam a musculatura própria da parede intestinal. O diagnóstico em ambos os grupos está baseado na histologia, histoquímica e microscopia eletrônica.

Nos casos de doenças da musculatura própria da parede intestinal, também chamadas miopatias viscerais, a apresentação clínica geralmente se revela por sinais e sintomas de obstrução do intestino delgado e o desfecho é quase sempre fatal. Nestes casos as células ganglionares estão presentes e não demonstram qualquer anormalidade. As túnicas musculares circular e longitudinal, ao contrário, apresentam uma variedade de alterações histológicas que incluem fibrose, vacuolização citoplasmática ou alterações degenerativas. Para exemplificar citamos a Síndrome de Megabexiga-Microcólon-Hipoperistaltismo Intestinal (PURI et al.,

1983). Nesta e em outras condições, onde o distúrbio primário é muscular, a histologia de rotina deverá ser complementada com a microscopia eletrônica, onde as alterações musculares são mais bem analisadas. Uma mutação no DNA mitocondrial tem sido sugerida como a lesão molecular causadora deste tipo de miopatia intestinal (LOWSKI et al., 1993).

As doenças neurais do intestino são denominadas displasias neuronais, das quais a doença de Hirschsprung é um exemplo especial. Excluindo portanto deste grupo a doença de Hirschsprung, há outros dois grupos de displasias neuronais, a hipoganglionose e a hiperganglionose, esta última também denominada de displasia neuronal intestinal, descrita por MEIER-RUGE (1971), as quais também se apresentam com quadros de pseudo-obstrução intestinal.

A hipoganglionose pode ser congênita, por falha no desenvolvimento do plexo mioentérico, e nestes casos as células ganglionares são reduzidas de tamanho, consistindo de neuroblastos imaturos presentes nos plexos submucosos e mioentérico (ERDOHAZI, 1974). Esta aparência se estende por todo o trato gastrointestinal. Em casos relatados na literatura o desfecho foi sempre fatal (ERDOHAZI, 1974; MUNAKATA et al., 1978; PURI et al., 1977). Podem ocorrer graus mais leves de hipoganglionose, com uma redução de tamanho e escassez das células ganglionares apenas no plexo mioentérico com plexos submucosos normais (MUNAKATA, 1974; ARIEL et al., 1985).

Outras formas de hipoganglionose também têm sido descritas, como a hipoganglionose segmentar (MATSUI et al. 1987) ou a hipoganglionose associada à doença de Hirschsprung fazendo parte de uma longa zona de transição (GHERARDI, 1960; WALKER et al., 1966; GARRET et al, 1969; MEIER-RUGE,

1969; HOWARD & GARRET, 1970; MEIER-RUGE et al., 1970). A hipoganglionose pode ainda ser adquirida, secundária a doenças infecciosas tais como a colite ulcerativa e a doença de Chagas onde ocorre a degeneração das células ganglionares (SMITH, 1982). A hipoganglionose pode ocorrer também nas áreas de transição da doença de Hirschsprung e também tem sido relatada como doença adquirida após operações de abaixamento do cólon (DAJANI et al., 1986).

O diagnóstico de hipoganglionose não pode ser feito em biópsias de reto obtidas por sucção, sendo necessária uma biópsia de toda a espessura da parede para avaliação do plexo mioentérico. O diagnóstico adequado só pode ser feito através de métodos morfométricos.

A hiperganglionose (GARRET & HOWARD, 1981), também denominada de Displasia Neuronal Intestinal (MEIER-RUGE, 1971; MEIER-RUGE, 1974; REIFFERSCHIED & FLACH, 1982), pode ser dividida em dois tipos, um se apresentando logo após o nascimento com sintomas agudos de obstrução intestinal e enterocolite com contrações espásticas do cólon (tipo A), o outro se apresentando em torno dos 6 meses de idade com sintomas de obstrução intestinal associado a megacólon, porém não apresentando um segmento estreito distal (tipo B) (FADDA et al., 1983). Na série de Fadda, de um total de 61 pacientes, 60-70% pertenciam ao segundo grupo, 10-15% pertenciam ao primeiro grupo, e 15-20% apresentavam características de ambos os grupos. Neste trabalho os autores relataram que a incidência de hiperganglionose era semelhante à da doença de Hirschsprung, porém esta não é a experiência de outros autores que relatam uma incidência bem mais baixa da hiperganglionose em relação à da doença de Hirschsprung (GARRET & HOWARD, 1981) ou ainda outros que negaram a sua existência como uma entidade

isolada (SCHOFIELD & YUNIS, 1990; SMITH, 1992). Outras séries significativas de pacientes portadores deste distúrbio continuaram a ser publicadas (MARTUCCIELLO et al., 1994; QUALMAN & MURRAY, 1994; HOLSCHNEIDER & MEIER-RUGE, 1994). Entretanto, mesmo MEIER-RUGE et al. (1994) concluíram que a displasia neuronal intestinal tipo B é a forma mais leve de uma anomalia do desenvolvimento do sistema nervoso autônomo e que evolui com a normalização espontânea da motilidade intestinal na maioria dos casos. Acrescentaram ainda que o aspecto histológico da displasia neuronal intestinal na sua forma isolada é idêntico ao encontrado na região proximal à área de aganglionose na doença de Hirschsprung. PURI & WESTER (1998) concluíram que a maioria dos pacientes portadores de displasia neuronal intestinal podem ser tratados conservadoramente através de laxativos e enemas, e se os sintomas intestinais persistem após pelo menos 6 meses de tratamento conservador, deve-se considerar a realização de miectomia do esfíncter anal interno.

Na hiperganglionose ocorre histologicamente uma leve hiperplasia do plexo submucoso, porém este elemento dificilmente é reconhecido em cortes de rotina de biópsias obtidas através de sucção, a não ser que se façam múltiplas biópsias a uma distância de 2 a 10 cm da linha pectínea e que estas biópsias contenham uma boa amostragem da submucosa, porém poderá ser observado mais facilmente em preparações coradas para evidenciar a atividade da acetilcolinesterase (SCHMITTENBECHER et al., 1995) ou através de métodos de determinação morfométrica (MEIER-RUGE & LONGO BAUER, 1997). Neste caso observa-se um aumento dos filetes nervosos acetilcolinesterase-positivos na lâmina própria, sem neuro-hiperplasia na muscular da mucosa, em contraste com a doença de

Hirschsprung. Nas biópsias trans-murais observa-se um aumento das fibras nervosas acetilcolinesterase-positivas na túnica muscular circular, e hiperplasia do plexo mioentérico que se torna quase contínuo e às vezes se projetando em direção à túnica muscular circular. O reto e o cólon podem estar envolvidos em extensões variáveis, algumas vezes sendo necessária colectomia subtotal para o tratamento dos sintomas (FADDA et al., 1983). O número aumentado de células ganglionares nos plexos submucosos e mioentérico constituem gânglios nervosos gigantes, caracterizados por conter mais de 7 células ganglionares (10 +/- 3 células ganglionares), e algumas vezes há também células ganglionares ectópicas. Todos estão de acordo que nos casos floridos, seja de displasia neuronal intestinal na sua forma isolada ou combinada com a doença de Hirschsprung, o diagnóstico histológico pode ser óbvio, porém como não está descrito na literatura um limite inferior para a anormalidade ou um limite superior para a normalidade que, associados à aplicação um pouco variável dos critérios histológicos, podem explicar as diferenças de incidência, de 0,3% a 80%, em diferentes trabalhos e em diferentes países. Este problema se torna ainda mais complicado pela total falta de biópsias colônicas de controle, nos diversos grupos etários, de crianças com função intestinal normal, até por questões éticas. MEIER-RUGE et al. (1995) numa série de 773 crianças portadoras de obstipação intestinal crônica encontraram 209 crianças portadoras de displasia neuronal intestinal (hiperganglionose), das quais 64 eram portadoras da doença de Hirschsprung associada. E concluíram que devido à freqüente combinação de hiperganglionose, hipoganglionose e aganglionose, estas doenças provavelmente representam diferentes manifestações da mesma anomalia de desenvolvimento, e que os recentes estudos em suas séries de pacientes

demonstram que o diagnóstico de displasia neuronal intestinal não é um diagnóstico qualitativo, como é o da doença de Hirschsprung, mas sim um diagnóstico quantitativo (MEIER-RUGE & LONGO BAUER, 1997). KOBAYASHI et al. (1995) encontraram a associação entre displasia neuronal intestinal e aganglionose em 35% dos espécimes cirúrgicos de abaixamento de cólon por doença de Hirschsprung examinados.

Portanto a hiperganglionose também ocorre em associação com a doença de Hirschsprung, na região entre o intestino normal e a área de aganglionose (SCHÄRLI & MEIER-RUGE, 1981; KOBAYASHI et al., 1995). E esta associação pode responder pela manutenção de sintomas residuais em alguns pacientes submetidos ao abaixamento do cólon, algumas vezes sendo necessária nova ressecção cirúrgica para aliviar sintomas de obstrução (PURI et al., 1977; FADDA et al., 1987; LUGO VICENTE, 1995; BANANI et al, 1996; PURI & WESTER, 1998). HANIMANN et al. em 1992 relataram, numa série de 47 pacientes portadores de doença de Hirschsprung, 11 casos de associação com displasia neuronal intestinal que foram submetidos a cirurgia de abaixamento de reto com ressecção do segmento agangliônico porém sem ressecção do segmento de hiperganglionose, e afirmaram que não houve diferença significativa na evolução pós-operatória recente ou tardia (5 anos) entre estes pacientes e o outro grupo operado por doença de Hirschsprung isolada.

A hiperganglionose pode ser observada em pacientes com Carcinoma Medular da Tireóide como parte da Síndrome de Neoplasias Endócrinas Múltiplas (MEN) tipo 2B, em Neurofibromatose tipo 1, em pacientes com Feocromocitoma e em portadores de malformações anorretais (NAVARRO et al., 1980). SACHER et

al., 1993, encontraram a associação de displasia neuronal intestinal em pacientes com malformações intestinais, pacientes com peritonite meconial, em pacientes com estenose retal após tratamento conservativo de enterocolite necrotizante e em pacientes com obstrução intestinal no período neonatal, e sugeriram que a displasia neuronal intestinal é um processo reacional do sistema nervoso intestinal causado por fatores obstrutivos ou doenças inflamatórias.

Está claro que os termos clínicos de pseudo-Hirschsprung, síndrome do cólon adinâmico, pseudo-obstrução intestinal crônica, bem como os achados histológicos da hipo e da hiperganglionose se tornarão obsoletos assim que a causa destas doenças seja esclarecida.

A Figura 1 ilustra a inervação normal do intestino e seus principais distúrbios de inervação (adaptado de HEITZ & KOMMINOTH, 1990)

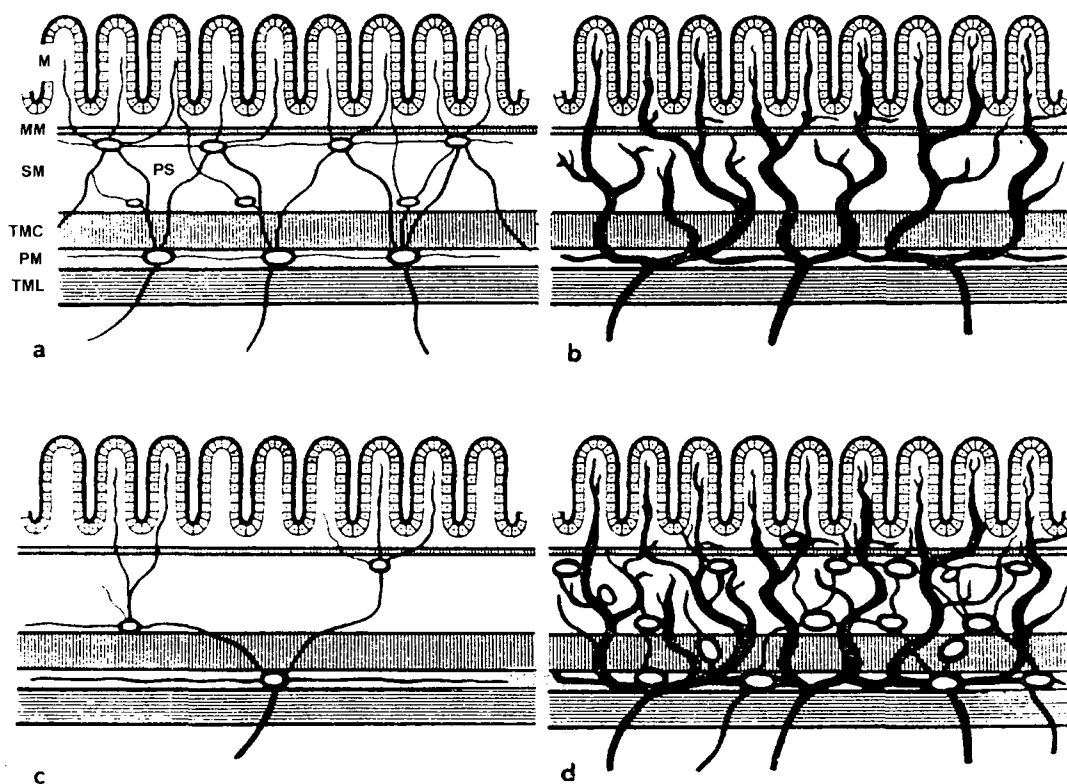


Figura 1 - Desenho esquemático da inervação normal do intestino e seus distúrbios:

a) Normal: Presença de grupos de neurônios (células ganglionares) no plexo submucoso (PS) e no plexo mioentérico (PM) com fibras nervosas inter-conectantes. M, mucosa; MM, muscular da mucosa; SM, submucosa; TMC, túnica muscular circular; TML, túnica muscular longitudinal. b) Aganglioneose Intestinal: Ausência de células ganglionares e grande quantidade de filetes nervosos colinérgicos hipertróficos. c) Hipoganglioneose. d) Hiperanglioneose (Displasia Neuronal Intestinal)

4 CASUÍSTICA E MÉTODO

4.1 CASUÍSTICA

O presente trabalho baseia-se no estudo de 445 pacientes portadores de obstipação intestinal crônica encaminhados ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Infantil Pequeno Príncipe nos últimos 11 anos. Todas as crianças tiveram avaliação clínica e radiológica sendo encaminhadas por solicitação do médico atendente para a realização da biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase. Consentimento informado foi obtido dos familiares ou responsáveis. Todos os procedimentos utilizados no presente trabalho estão em consonância com os preceitos de ética do Hospital Infantil Pequeno Príncipe.

Para tanto foram realizados 2 experimentos:

Experimento I: Avaliar a prevalência da doença de Hirschsprung diagnosticada pela técnica de biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pelo método da acetilcolinesterase em 445 pacientes investigados por obstipação intestinal crônica ou pseudo-oclusão intestinal no período neonatal entre 1988-1999 no Hospital Infantil Pequeno Príncipe.

Experimento II: Avaliar os índices de acurácia, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, sensibilidade, especificidade, número de falsos-positivos e número de falsos-negativos nos casos diagnosticados por biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática através do método da acetilcolinesterase se comparados com o material da colectomia terapêutica (padrão-ouro).

4.2 MÉTODO

As biópsias por sucção foram realizadas em regime ambulatorial, após lavagem intestinal adequada e não coincidente com o estudo contrastado, através de pinça modelo Noblett¹ (NOBLETT, 1969) conforme Figura 2. Todos os pacientes foram submetidos a biópsia acordados, sem necessidade de anestesia, exceto dois pacientes nos quais foi recomendada indução anestésica no centro cirúrgico, por se tratarem de crianças grandes e pouco colaborativas pelo excesso de manipulação médico-hospitalar prévia. As crianças foram colocadas deitadas, em decúbito dorsal quando menores de 1 ano e em decúbito lateral quando maiores. A pinça de biópsia lubrificada com vaselina² foi introduzida pelo orifício anal e pelo menos dois fragmentos de reto colhidos a 2,0 e 3,0 ou 2,0 e 4,0 cm acima da linha pectínea. A cápsula de biópsia foi introduzida delicadamente através do ânus do paciente, com o orifício fechado e dirigido para a parede posterior do reto. Depois de posicionada a pinça, o orifício da cápsula é aberto e a pressão de sucção a vácuo de 200 a 300 mm de mercúrio realizada através de uma seringa de 20 ml. Assim que o manômetro atinge o pico de pressão faz-se o fechamento da cápsula com conseqüente sucção e corte do fragmento tecidual. O instrumento de biópsia foi então retirado. A avaliação da qualidade da amostra era feita de imediato devendo conter uma porção significativa da submucosa. As amostras mediram de 3 a 6 mm no seu maior eixo e

¹ Genito-urinary Instruments, London, U.K.

² Manipulada na Farmácia Magistral, Curitiba, PR

2 a 3 mm em profundidade, e eram orientadas sobre papel filtro umedecido em soro fisiológico (Figura 3).

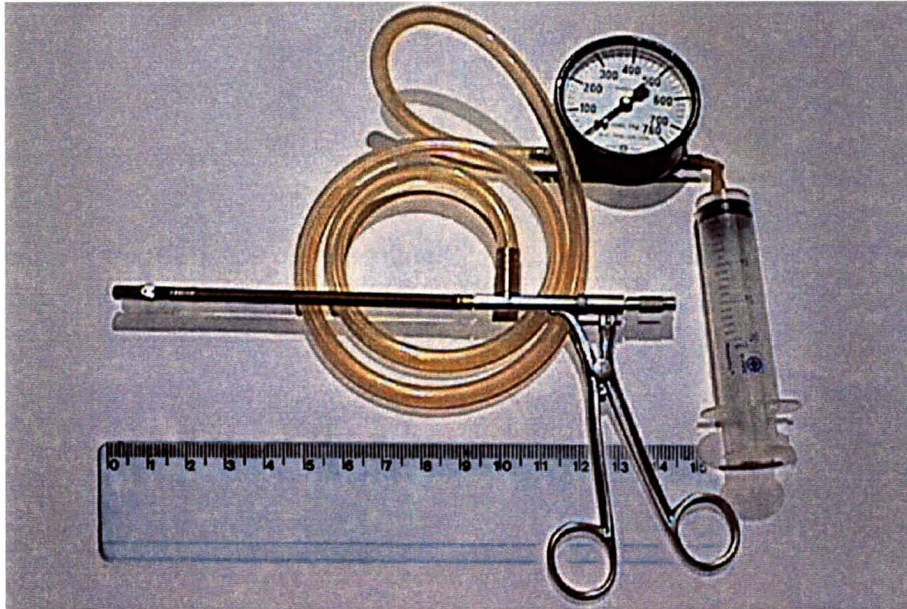


Figura 2 - Pinça de biópsia por sucção com controle manométrico (modelo Noblett) utilizada para a obtenção das amostras de mucosa retal nos 445 pacientes estudados

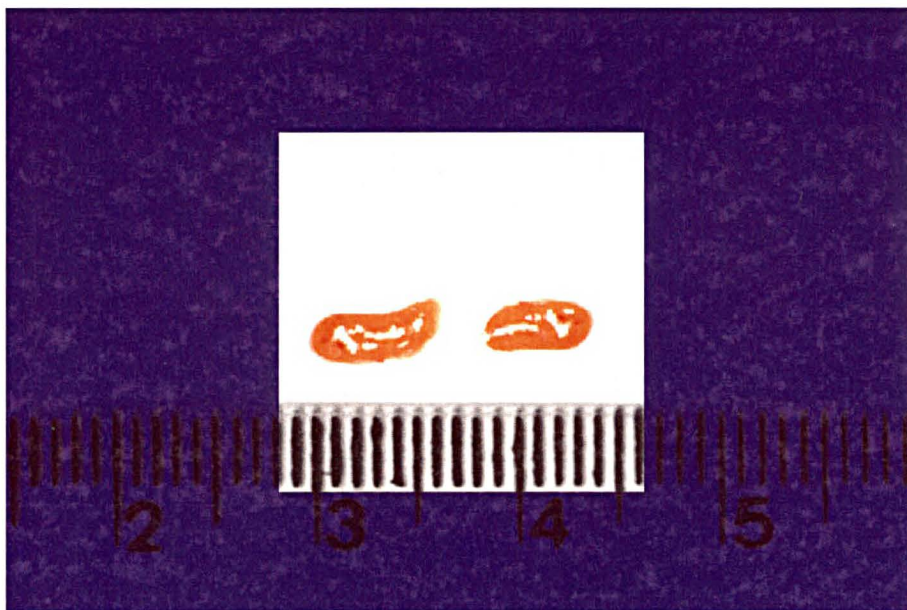


Figura 3 - Fragmentos de mucosa retal obtidos pela pinça de sucção

4.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram encaminhadas a fresco ao Serviço de Anatomia Patológica³. Foram orientadas sobre bloco gelado de tecido hepático animal, submetidas a congelamento rápido em nitrogênio líquido, e cortadas em criostato⁴ a - 25° C. Os cortes histológicos seriados foram obtidos sobre lâmina histológica⁵ e secos ao ar, em seis a oito níveis diferentes, com espessura de seis micrômetros para a hematoxilina-eosina e sobre laminulas⁶ e com espessura de doze micrômetros para a acetilcolinesterase (MEIER-RUGE, 1974; LAKE et al., 1978; BRITO, 1985). A microtomia no criostato, realizada no sentido perpendicular à mucosa, permitiu a visualização da mucosa na parte superior e submucosa na parte inferior dos cortes histológicos que, corados pela hematoxilina-eosina, foram úteis não apenas para confirmar o posicionamento da amostra a microscopia óptica, mas também para a escolha dos melhores níveis de corte a serem encaminhados para a técnica da acetilcolinesterase (Figura 4). O restante dos fragmentos foi colocado em formalina⁷ e seguiram a rotina habitual com inclusão em parafina, cortes seriados e coloração pela hematoxilina-eosina⁸ para complementação do estudo histológico.

³ Centro de Patologia de Curitiba, Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR

⁴ Criostato Tissue-Tek Miles Modelo 4553

⁵ Lâmina histológica pró-cito (1X3"), Soldan Ltda, Porto Alegre, RS

⁶ 22X22 mm, Cover-Glass, Shangai, China

⁷ Bond Carneiro, Curitiba

⁸ Técnica Histológica em Anatomia Patológica. Jorge Michalany, 3ª Ed., 1998.

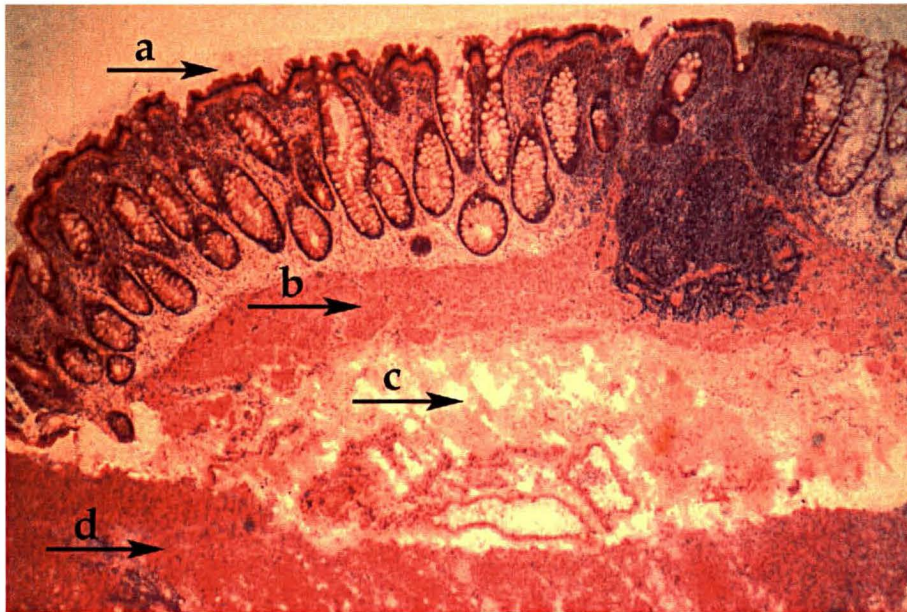


Figura 4 - Fotomicrografia panorâmica para demonstrar a orientação e satisfatoriedade das amostras obtidas através da biópsia de reto por sucção: (a) Mucosa, (b) Muscular da Mucosa, (c) Submucosa, (d) Bloco hepático animal. (HE 10X)

4.4 TÉCNICA HISTOQUÍMICA PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ACETILCOLINESTERASE

Para a demonstração da atividade da acetilcolinesterase foi utilizado o método de KARNOVSKI & ROOTS (1964), modificado por HANKER et al. (1972). Este método permite identificar em fragmentos congelados de intestino agangliônico, a presença de fibras nervosas colinérgicas aumentadas em número e tamanho.

Para a realização da técnica da acetilcolinesterase utilizou-se um meio de incubação constituído por duas soluções estoque (MEIER-RUGE, 1974; LAKE et al., 1978):

SOLUÇÃO ESTOQUE A

Iodeto de Acetilcolina ⁹	100 mg
Tampão Acetato de Sódio (0,1 M - ph 6,0)	130 ml
Sulfato de Cobre (30mM - 150 mg/20 ml).....	20 ml
Citrato de Sódio (0,1 M - 294 mg/10 ml)	10 ml
Água Destilada.....	20 ml
Iso-OMPA ¹⁰ (4 mM - 5,48 mg/4 ml).....	4 ml

(Aliquotas de 9 ml são congeladas em freezer)

SOLUÇÃO ESTOQUE B

Ferricianeto de Potássio (5mM - 32,9 mg/20 ml)	20 ml
--	-------

(Aliquotas de 1 ml são congeladas em freezer)

A técnica de coloração para demonstração da atividade da acetilcolinesterase foi realizada da seguinte maneira:

1 - Colocar as lamínulas contendo os cortes histológicos obtidos no criostato, secas ao ar, em formol cálcio a 4% por 30 segundos.

2 - Lavar em água destilada por 10 segundos.

3 - Colocar as lamínulas no meio de incubação - 9 ml da solução A + 1 ml da solução B – e este na estufa a 37 graus centígrados, durante 60 minutos.

4 - Lavar várias vezes em água destilada.

5 - Cobrir as lamínulas com para-fenileno-diamina-dihidroclorito (5 mg de PPDD/10 ml de tampão fosfato 0,05 M - ph 6,8) por 45 minutos em temperatura ambiente.

6 - Lavar várias vezes em água destilada.

⁹ Kock-Light - London

¹⁰ Tetraisopropilpirofosforamida (inibidor da pseudocolinesterase da musculatura lisa) - Kock-Light – London. Este produto pode ser substituído por etopropazine na mesma concentração por ser menos tóxico.

7 - Cobrir as lamínulas com solução aquosa de tetróxido de ósmio a 1% por 10 minutos, com auxílio de micropipeta, sob exaustão contínua e à temperatura ambiente.

8 - Lavar em água corrente de torneira.

9 - Corar com hematoxilina de Carrazzi por 10 segundos e após lavar em água corrente de torneira por 1 minuto.

10 - Desidratar em álcool absoluto por 10 minutos.

11 - Clarear em xilol por 10 minutos.

12 - Montar as lamínulas sobre lâminas histológicas com bálsamo¹¹ ou Entellan¹².

Os cortes foram estudados no sentido de avaliar a presença de filetes nervosos colinérgicos na lâmina própria, muscular da mucosa e submucosa. As fibras nervosas acetilcolinesterase-positivas se coraram em marrom-escuro a negro com esta técnica de coloração.

4.5 AVALIAÇÃO DAS COLECTOMIAS

Os espécimes cirúrgicos provenientes de 68 pacientes, com biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase prévias, que foram submetidos a colectomia no Hospital Infantil Pequeno Príncipe, foram recebidos a fresco no Laboratório de Anatomia-Patológica, foram abertos longitudinalmente pelo

¹¹ Bálsamo do Canadá Pró-cito, Soldan, Porto Alegre, R.S.

¹² Entellan – Resin Solution, Merck, Alemanha

bordo anti-mesocólico, lavados em água corrente para remoção dos resíduos alimentares e de fezes e fixados em formalina pregados em pequena tábua de madeira ou de cortiça. Após 24 a 48 horas de fixação foram identificadas as extremidades distal e a proximal, sendo cortada uma tira da parede em toda a extensão do espécime. Esta tira foi então cortada em segmentos menores, de aproximadamente 2,0 cm, que puderam ser acomodados na cápsula de processamento histológico, numerados e marcados com tinta nanquim preta de forma que se pudesse identificar a extremidade distal e a proximal de cada segmento. O material seguiu o processamento histológico, inclusão em parafina e cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina (Figura 5).

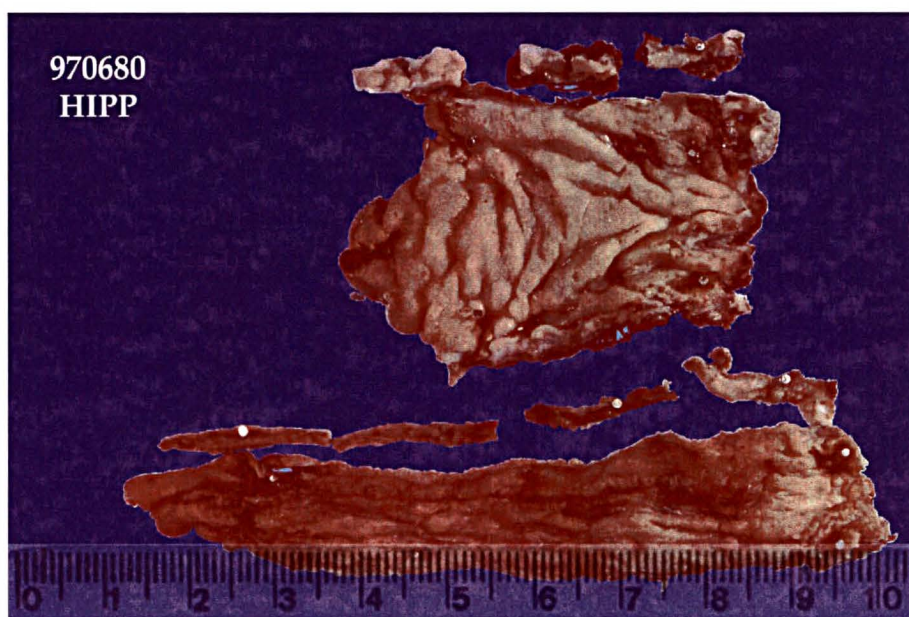


Figura 5 – Demonstra a técnica de amostragem do espécime cirúrgico proveniente de colectomia: Segmento maior, distal, composto apenas por mucosa e submucosa, após retirada da tira em toda a extensão da parede e já dividida em segmentos menores para processamento histológico. Segmento menor, proximal, composto por toda espessura da parede do cólon (HIPP 97-680)

O exame histológico constou de 3 a 10 lâminas histológicas numeradas, cada uma contendo um segmento de 2,0 cm de reto/cólon, cuja extremidade distal

estava marcada com tinta nanquim preta, de forma que se reconstituiu histologicamente o exato segmento da parede colônica que foi ressecado. O estudo se fez da extremidade distal para a proximal, marcando-se na lâmina histológica a intersecção entre o segmento agangliônico, a área de transição, e a área de cólon gangliônico. Estas zonas foram medidas na lâmina histológica com o auxílio de uma régua em centímetros e o laudo final constou da descrição exata do segmento agangliônico, se composto por todas as camadas da parede ou apenas por mucosa e submucosa e sua extensão, da mesma forma a área de transição e o segmento de intestino normal quando presente.

4.6 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

Todos os materiais advindos das biópsias de reto por sucção, histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase e das colectomias foi analisado em microscópio Olympus BH-2, com objetivas de X4, X10, X20 e X40.

4.7 AVALIAÇÃO FOTOGRÁFICA

A documentação fotográfica foi feita com câmera fotográfica Pentax Macro 1:2.8, 50 mm, e com câmera fotográfica digital Sony Mavica MVC-FD7 f= 4.2 – 42 mm para obtenção de imagens macroscópicas, e com câmera de vídeo JVC modelo TK 1280U acoplada a microscópio Meiji, para captura de imagens fotográficas digitais das lâminas histológicas.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na avaliação estatística dos pacientes que foram submetidos a biópsia do reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase, investigou-se a independência entre as variáveis idade e diagnóstico e entre as variáveis sexo e diagnóstico. Para tanto, adotou-se o teste de Qui-quadrado. Restrito aos casos de pacientes que fizeram colectomia, testou-se a hipótese de que a proporção de pacientes com menos de 1 mês de idade entre os pacientes normais é igual à proporção de pacientes com menos de 1 mês de idade entre os pacientes com a doença. Também se testou a hipótese de que a proporção de pacientes do sexo masculino entre os pacientes normais é igual à proporção de pacientes do sexo masculino entre os pacientes com a doença. Para isso, adotou-se o teste Exato de Fisher. Em todos os testes foi considerado o nível de significância de 5% e o valor de p encontrado. Estatísticas descritivas, tabelas com cruzamentos de variáveis e gráficos ilustrativos também foram realizados. Tomando-se os diagnósticos pós-colectomia como conclusivos, calculou-se estimativas pontuais para especificidade, sensibilidade, acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo para o diagnóstico pela biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DAS BIÓPSIAS DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE

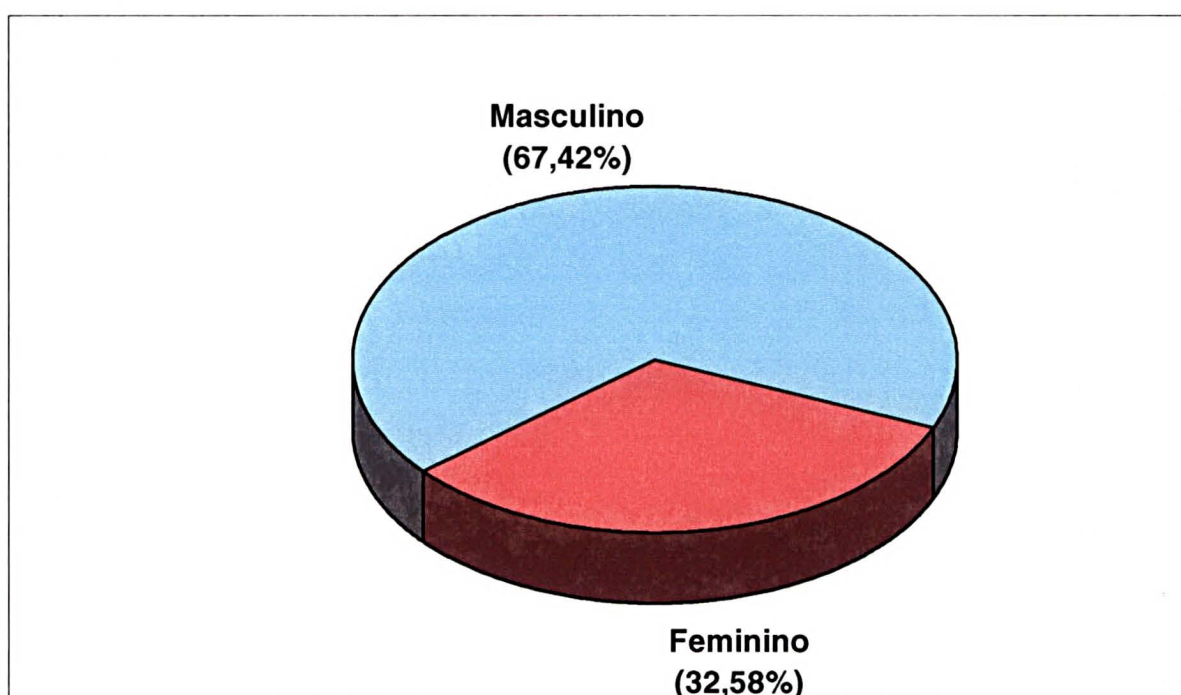
5.1.1 Resultados epidemiológicos

A distribuição de acordo com o sexo dos 445 pacientes submetidos a biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase está na Tabela 1 e Gráfico 1.

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DE ACORDO COM O SEXO DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

SEXO	Freqüência (Percentual)
Masculino	300 (67,42%)
Feminino	145 (32,58%)
Total	445 (100,00%)

GRÁFICO 1 – RELAÇÃO ENTRE SEXO MASCULINO E FEMININO NOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999



A distribuição dos 445 pacientes submetidos a biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase de acordo com as diferentes faixas etárias está ilustrada da Tabela 2 e Gráfico 2.

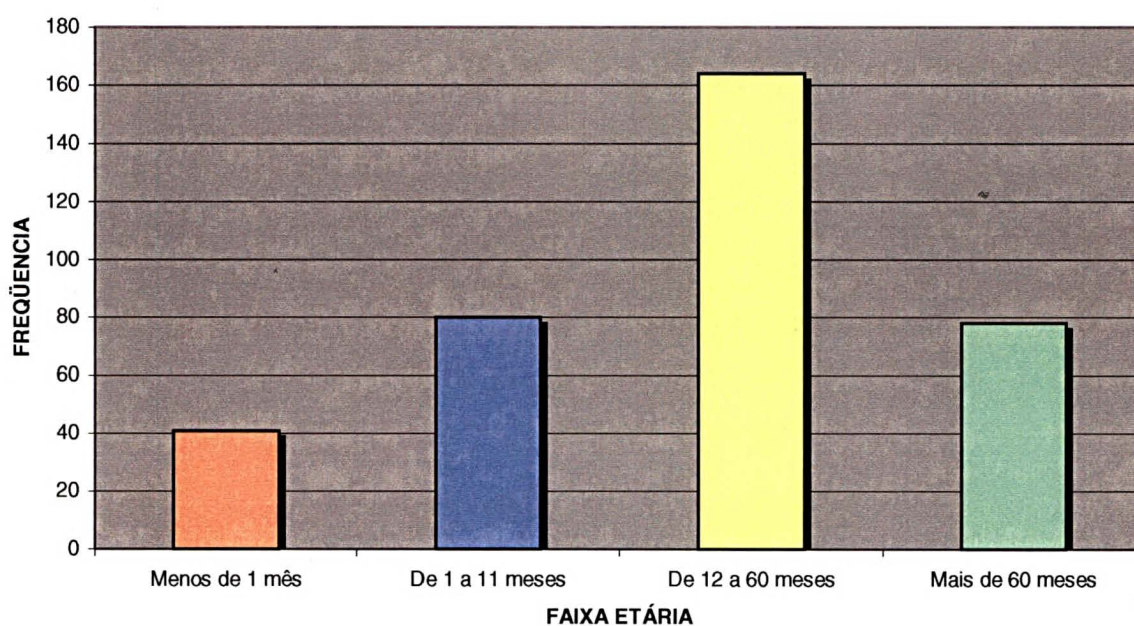
TABELA 2 – GRUPOS ETÁRIOS (EM MESES) DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUÇÃO E HISTOQUÍMICA ENZIMÁTICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

FAIXA ETÁRIA	FREQÜÊNCIA
Menos de 1 mês	41
De 1 a 11 meses	80
De 12 a 60 meses	164
Mais de 60 meses	78
Idade em branco	82
TOTAL	445

IDADE (em meses)

Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	Número de casos	Em branco
39,97	462.866	0,07	360,00	363	82

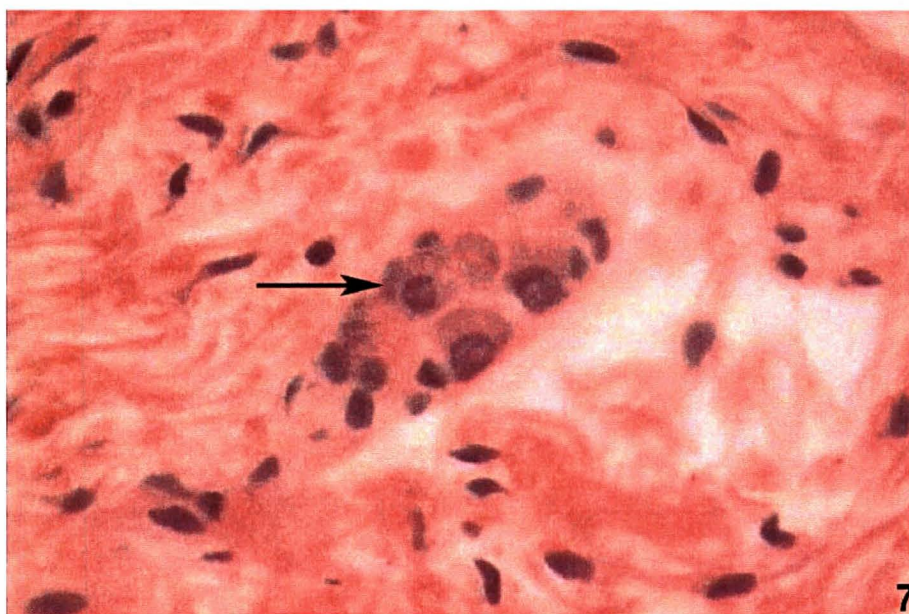
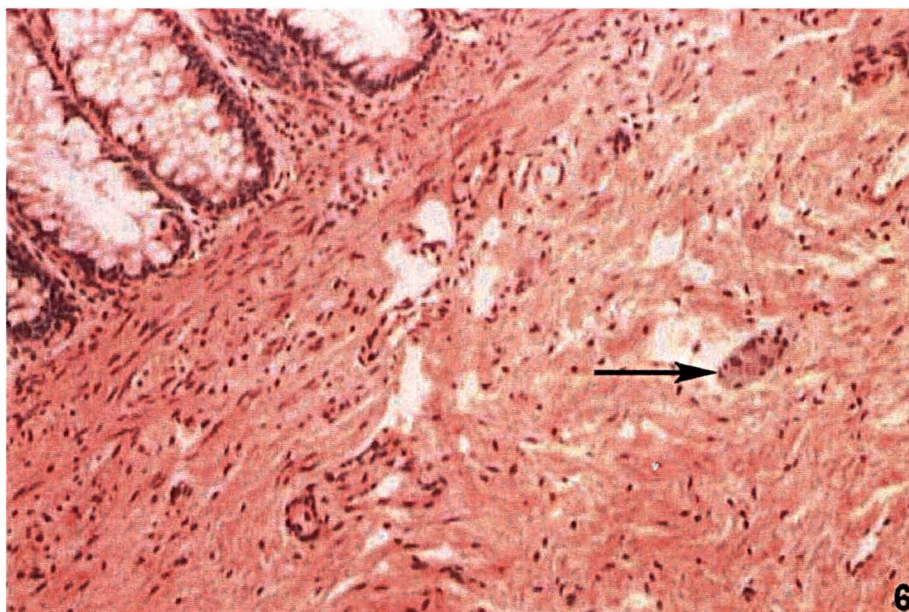
GRÁFICO 2 – DEMONSTRAÇÃO DOS GRUPOS ETÁRIOS (EM MESES) DOS 363 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA ENZIMÁTICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999



5.1.2 Resultados qualitativos

A avaliação dos cortes histológicos de material a fresco congelado em nitrogênio líquido obtido por biópsia de sucção, corados pela hematoxilina-eosina e pela técnica histoquímica da acetilcolinesterase, permitiu estabelecer os seguintes padrões diagnósticos:

a) PADRÃO NORMAL (Figuras 6, 7, 8 e 9):



Figuras 6 e 7 – Fotomicrografias de biópsia de reto por sucção em paciente normal demonstrando a presença de grupamento de células ganglionares na submucosa (E98-111). (6-HE X100; 7-HE X400)

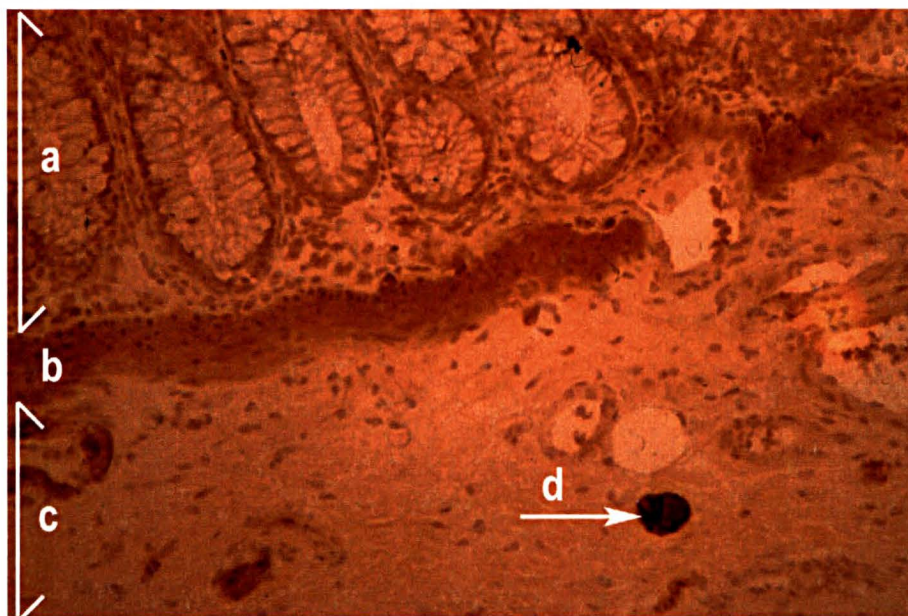
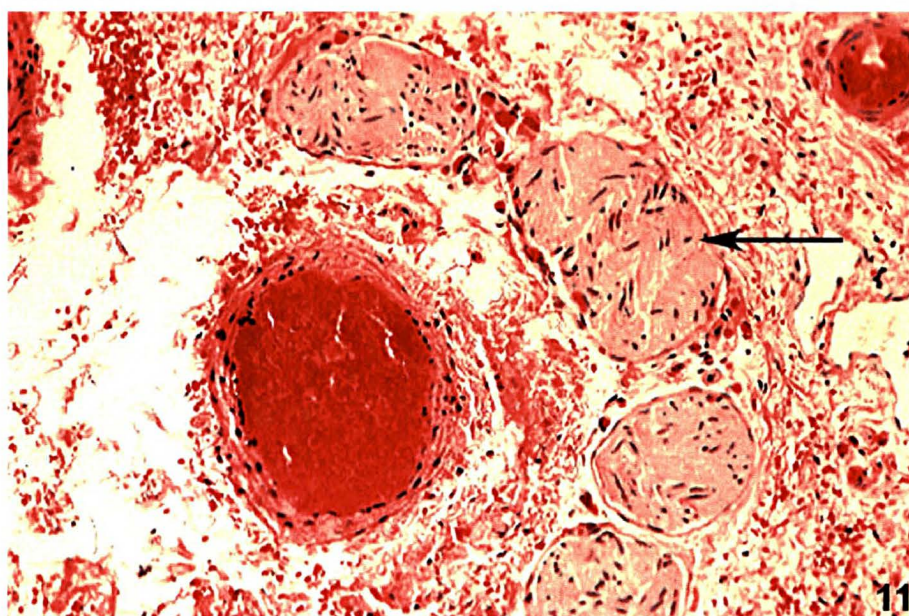
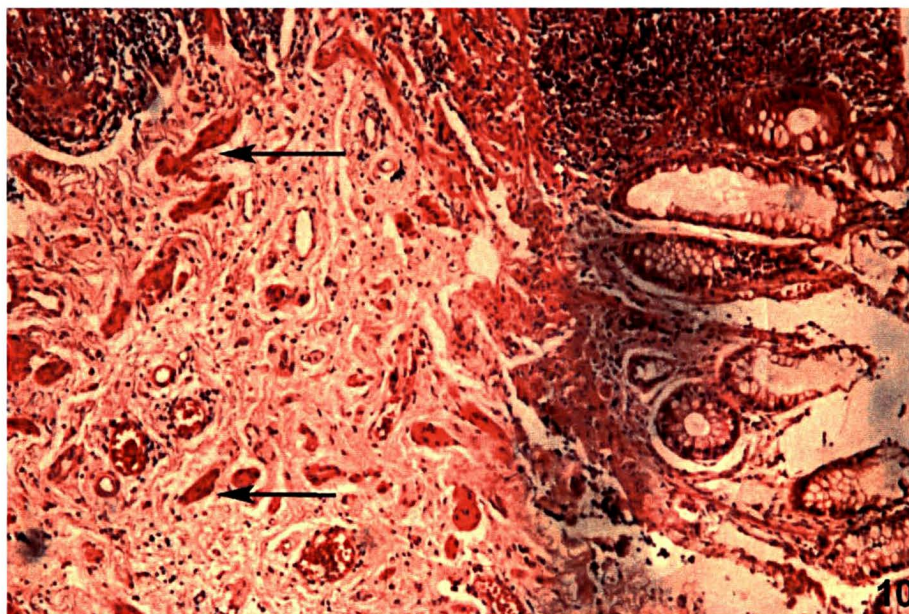


Figura 8 - Fotomicrografia de biópsia retal de paciente normal corada pelo método da acetilcolinesterase e contra-corada com hematoxilina. Demonstra a ausência de hipertrofia e hiperplasia de filetes nervosos na mucosa (a), muscular da mucosa (b) ou submucosa (c), e a presença de grupamento de células ganglionares na submucosa (d). (E98-111). (ACHE X 100)

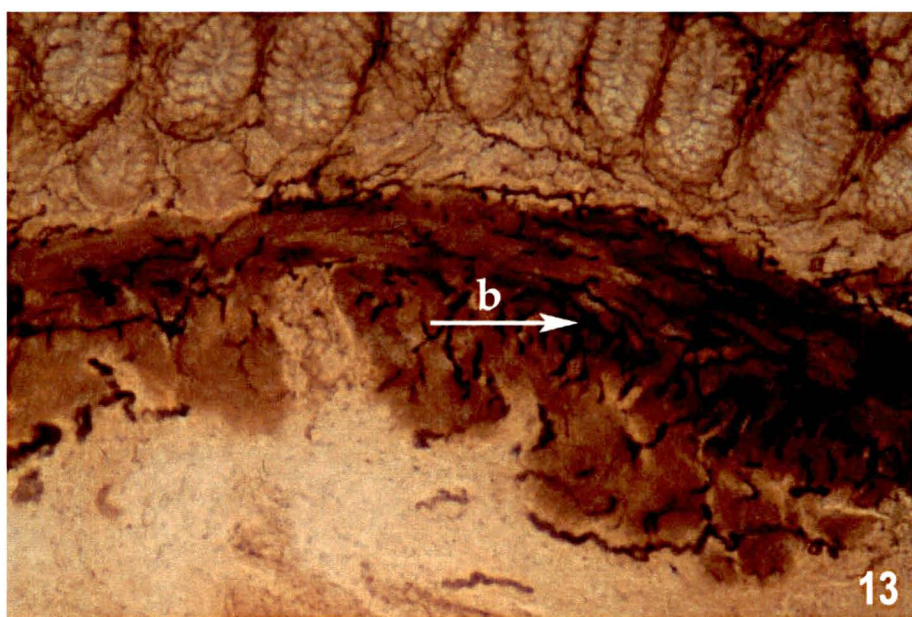
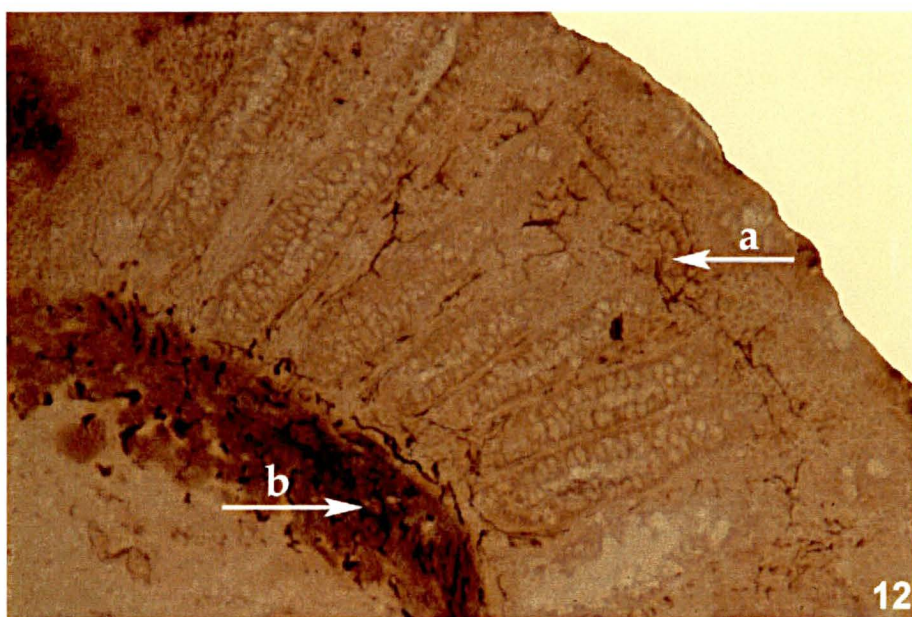


Figura 9 - Fotomicrografia demonstrando um grupamento de células ganglionares na submucosa corado pela técnica da acetilcolinesterase (E99-38). (ACHE X1000).

b) PADRÃO COM DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG (Figuras 10, 11, 12, 13 e 14):



Figuras 10 e 11 – Fotomicrografias de biópsia de reto por sucção demonstrando a hiperplasia e hipertrofia de filetes nervosos (setas) na submucosa do reto em paciente portador da doença de Hirschsprung (E98-20). (10-HE X100; 11-HE X400)



Figuras 12 e 13 – Fotomicrografias de biópsia retal de paciente portador da doença de Hirschsprung: corte em criostato corado pelo método da acetilcolinesterase evidencia filetes nervosos grosseiros, acetilcolinesterase-positivos, na mucosa (a) e na muscular da mucosa (b) (E98-94). (12-ACHE X40; 13-ACHE X400)

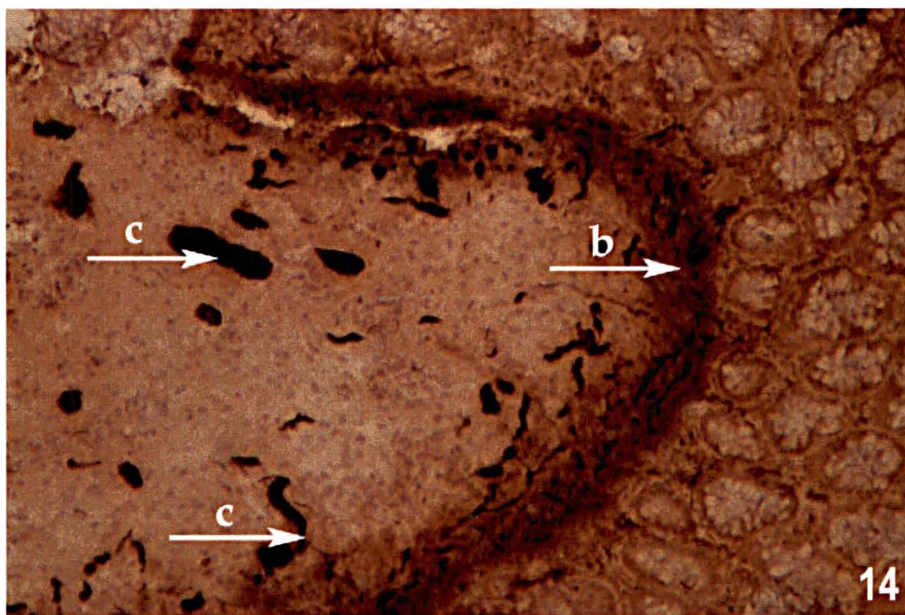


Figura 14 – Fotomicrografia de biópsia retal de paciente portador da doença de Hirschsprung: corte em criostato corado pelo método da acetilcolinesterase evidencia filetes nervosos grosseiros, acetilcolinesterase-positivos, na muscular da mucosa (b) e na submucosa (c) (E98-94). (ACHE X100)

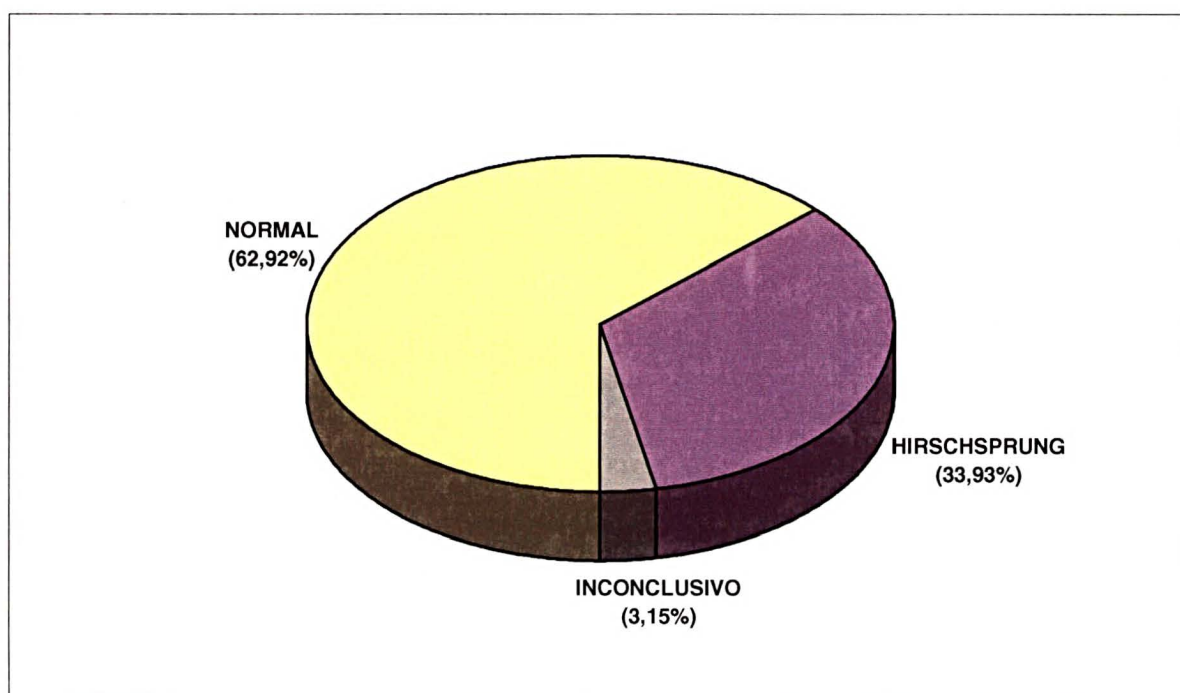
5.1.3 Resultados quantitativos

Após avaliação das 445 biópsias de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase, independente de sexo ou idade, obtivemos o seguinte resultado como demonstra a Tabela 3 e o Gráfico 3:

TABELA 3 – RESULTADO DA AVALIAÇÃO DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO (CONSIDERANDO RE-BIÓPSIA DE ALGUNS CASOS) NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

Resultado	Freqüência (Percentual)
NORMAL	280 (62,92%)
HIRSCHSPRUNG	151 (33,93%)
INCONCLUSIVO	14 (3,15%)
Total	445 (100,00%)

GRÁFICO 3 - RESULTADO DA AVALIAÇÃO DOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999



As causas de resultados inconclusivos nos 14 pacientes estão listadas na Tabela 4:

TABELA 4 – CAUSAS DE RESULTADOS INCONCLUSIVOS

CAUSAS DE RESULTADOS INCONCLUSIVOS	No DE CASOS
Biópsia retal com inflamação severa da mucosa/submucosa (+ ulceração/necrose).	2
Biópsia retal com padrão de inervação anormal à colinesterase porém não característico da doença de Hirschsprung. Ausência de células ganglionares na submucosa.	6
Biópsia retal com submucosa escassa em recém-nato.	3
Biópsia retal contendo volumosos folículos linfóides na mucosa/submucosa .	1
Biópsia retal apresentando artefatos técnicos de processamento.	2
TOTAL	14

Alguns pacientes (28) foram submetidos a uma segunda biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase, os motivos da re-biópsia estão listadas na Tabela 5 e o resultado das re-biópsias está demonstrado na Tabela 6:

TABELA 5 – MOTIVOS DE RE-BIÓPSIA NOS 28 PACIENTES SUBMETIDOS A UMA SEGUNDA AVALIAÇÃO ATRAVÉS DA BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA ENZIMÁTICA PELA ACETILCOLINESTERASE

CAUSAS DE RE-BIÓPSIA	No DE CASOS
Biópsia de reto inicial inconclusiva.	4
Biópsia de reto inicial normal e paciente evoluindo insatisfatoriamente com as medidas terapêuticas.	11
Biópsia de reto inicial com diagnóstico de doença de Hirschsprung porém necessária confirmação pré-operatória (colectomia) devido evolução clínica incomum.	13
TOTAL	28

TABELA 6 – RESULTADO DAS RE-BIÓPSIAS DE RETO POR SUCÇÃO NOS 28 PACIENTES RE-BIOPSIADOS DE UM TOTAL DE 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

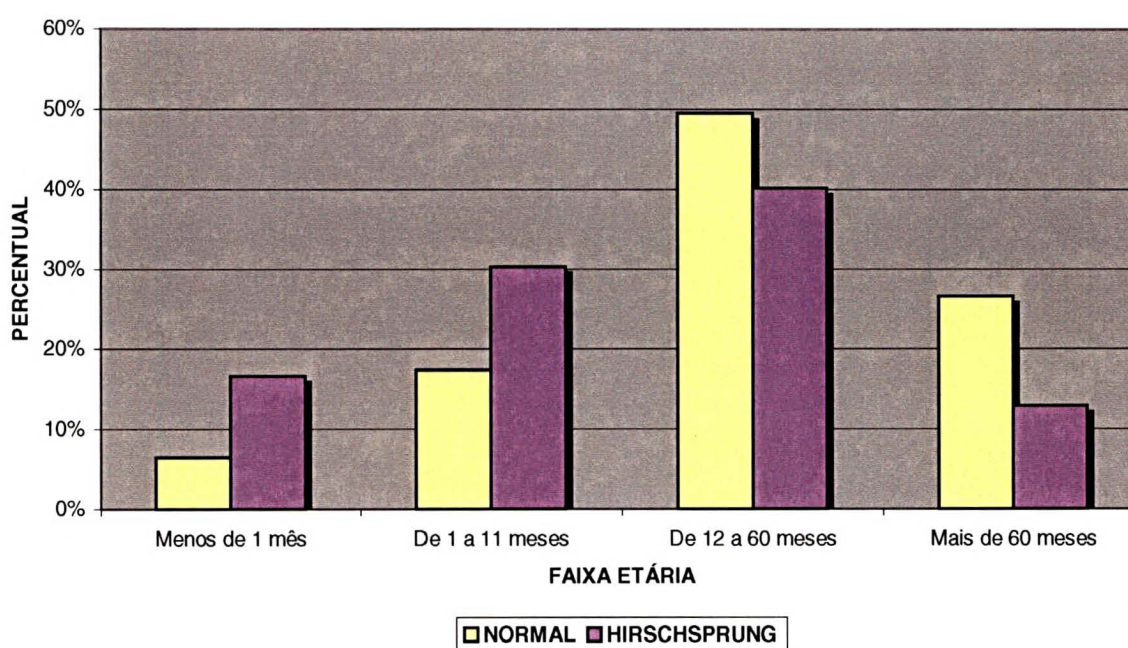
BIÓPSIA PRÉVIA	RESULTADO DAS RE-BIÓPSIAS			Total
	NORMAL	HIRSCHSPRUNG	INCONCLUSIVO	
NORMAL	7	3	1	11
HIRSCHSPRUNG	0	13	0	13
INCONCLUSIVO	1	3	0	4
Total	8	19	1	28

Após a avaliação das biópsias de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase os 445 pacientes foram divididos em quatro grupos de acordo com a faixa etária como demonstram a Tabela 7 e o Gráfico 4:

TABELA 7 - PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA NOS 363 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

FAIXA ETÁRIA	Menos de 1 mês	De 1 a 11 meses	De 12 a 60 meses	Mais de 60 meses	Total
NORMAL	14 (6,42%)	38 (17,43%)	108 (49,54%)	58 (26,61%)	218 (100,00%)
HIRSCHSPRUNG	22 (16,67%)	40 (30,30%)	53 (40,15%)	17 (12,88%)	132 (100,00%)
INCONCLUSIVO	5 (38,46%)	2 (15,38%)	3 (23,08%)	3 (23,08%)	13 (100,00%)

GRÁFICO 4 – PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA NOS 363 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999



A avaliação estatística da hipótese nula de que o fato de ter ou não a doença independe da faixa etária, versus a hipótese alternativa da existência de dependência foi realizada. Para avaliar esta hipótese adotou-se o teste de Qui-quadrado, considerando-se o nível de significância de 5%. O valor de p resultante deste teste foi de 0,0000344, indicando a rejeição da hipótese nula no nível de significância considerado. Desta forma, existe dependência entre faixa etária e doença. Pode-se perceber, na Tabela 7, um percentual maior de crianças com a

doença na faixa etária de até 11 meses (46,97%), em relação ao percentual de crianças normais nesta mesma faixa etária (23,85%).

Todos os pacientes foram divididos também de acordo com o sexo após a avaliação das biópsias de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase como demonstram a Tabela 8 e os Gráficos 5 e 6:

TABELA 8 - PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM O SEXO NOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

SEXO	Masculino	Feminino	Total
NORMAL	164 (58,57%)	116 (41,43%)	280 (100,00%)
HIRSCHSPRUNG	125 (82,78%)	26 (17,22%)	151 (100,00%)
INCONCLUSIVO	11 (78,57%)	3 (21,43%)	14 (100,00%)

GRÁFICO 5 - PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG DE ACORDO COM O SEXO NOS 445 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

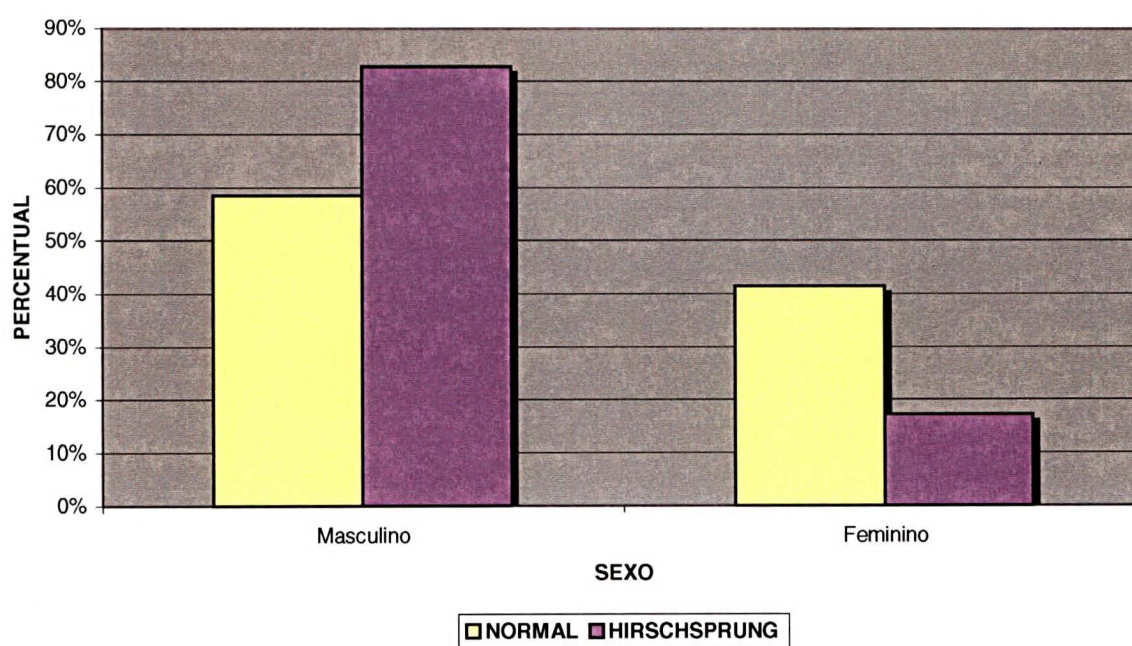
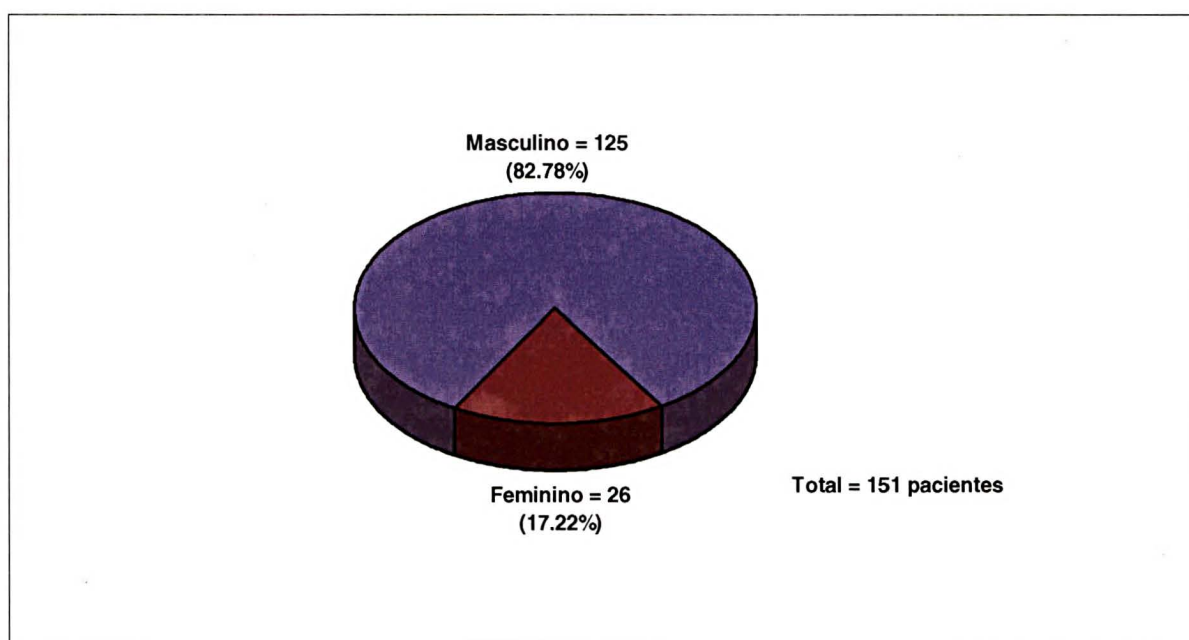


GRÁFICO 6 – DEMONSTRA O PREDOMÍNIO DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NO SEXO MASCULINO EM 125 DE 151 PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA DE RETO POR SUÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE ENTRE 1988 E 1999 NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE SE COMPARADO COM AS 26 PACIENTES DO SEXO FEMININO COM O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA



A avaliação estatística da hipótese nula de que o fato de ter ou não a doença independe do sexo da criança, versus a hipótese alternativa da existência de dependência foi testada. Para avaliar esta hipótese adotou-se o teste de Qui-quadrado, considerando-se o nível de significância de 5%. O valor de p resultante deste teste foi $< 0,0001$, indicando a rejeição da hipótese nula no nível de significância considerado. Desta forma, existe dependência entre sexo da criança e doença. Pode-se perceber, na Tabela 8, que há um percentual maior de crianças

doentes do sexo masculino (82,78%) do que crianças normais do sexo masculino (58.57%).

5.2 AVALIAÇÃO DOS ESPÉCIMES CIRÚRGICOS PROVENIENTES DAS CIRURGIAS DE ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON (COLECTOMIAS)

5.2.1 Resultados epidemiológicos

A distribuição dos 68 pacientes com biópsia retal prévia submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon de acordo com o sexo e faixa etária está demonstrada nas Tabelas 9 e 10 e no Gráfico 7:

TABELA 9 – RELAÇÃO ENTRE SEXO FEMININO E MASCULINO DOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A COLECTOMIA COM ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

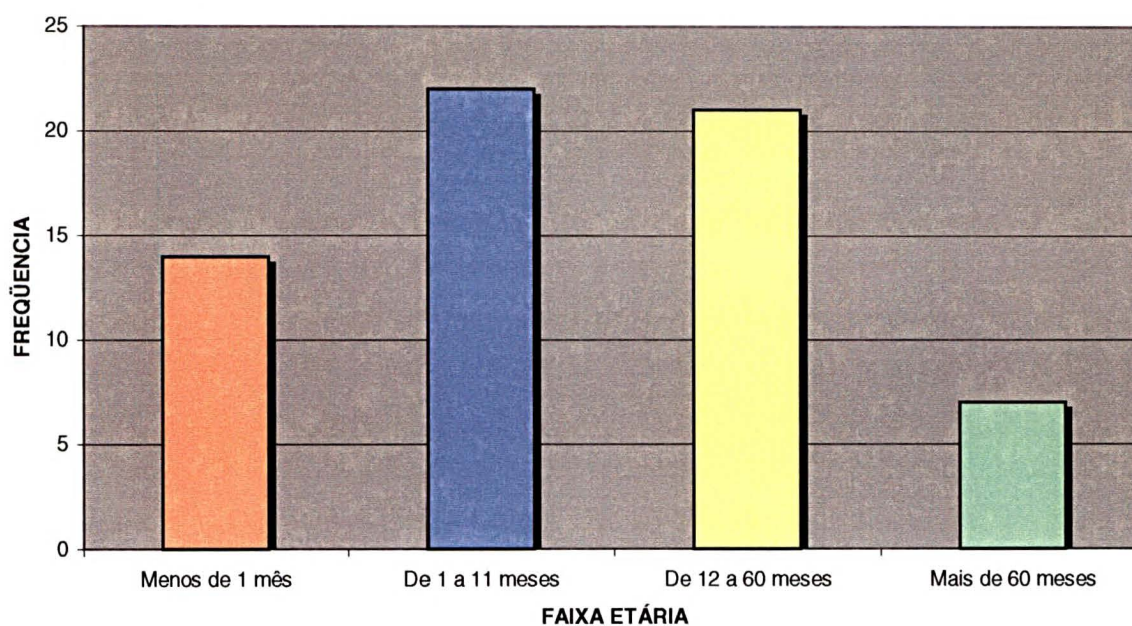
SEXO	Freqüência (Percentual)
Masculino	58 (85,29%)
Feminino	10 (14,71%)
Total	68 (100,00%)

TABELA 10 - GRUPOS ETÁRIOS (EM MESES) DOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A COLECTOMIA COM ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

FAIXA ETÁRIA	FREQÜÊNCIA
Menos de 1 mês	14
De 1 a 11 meses	22
De 12 a 60 meses	21
Mais de 60 meses	7
Idade em branco	4
TOTAL	68

Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	Número de casos	Em branco
21,98	30,373	0,2	120	64	4

GRÁFICO 7 – GRUPOS ETÁRIOS DOS 64 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A COLECTOMIA COM ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999



5.2.2 Resultados qualitativos

Aspecto macroscópico de um segmento colônico ressecado (Figuras 15 e 16):

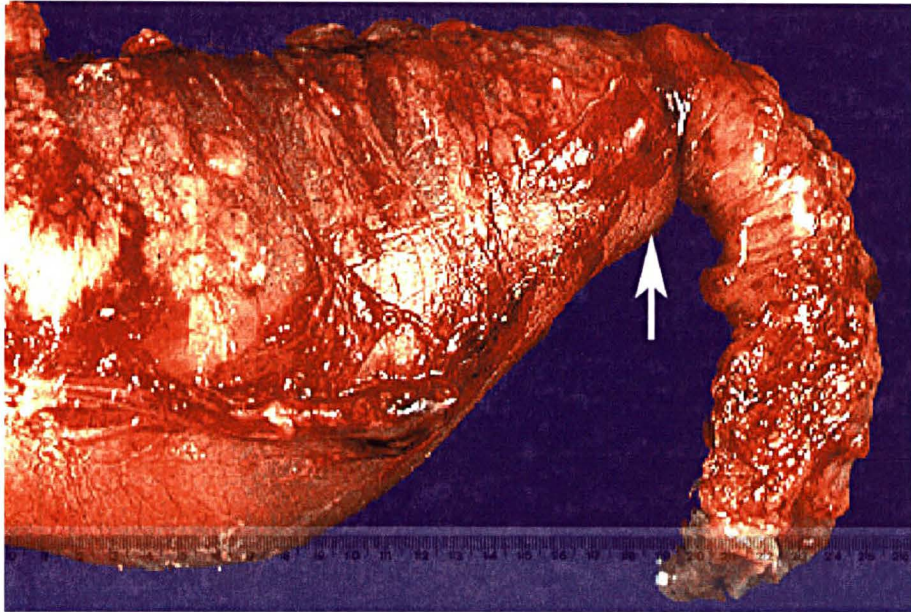


Figura 15 – Fotografia macroscópica de segmento colônico fechado apresentando segmento distal estreitado e cruento (área de aganglionose) e proximal dilatado (megacólon) revestido pela serosa, bem como a área de transição em formato de cone (seta) (HIPP 97-693).

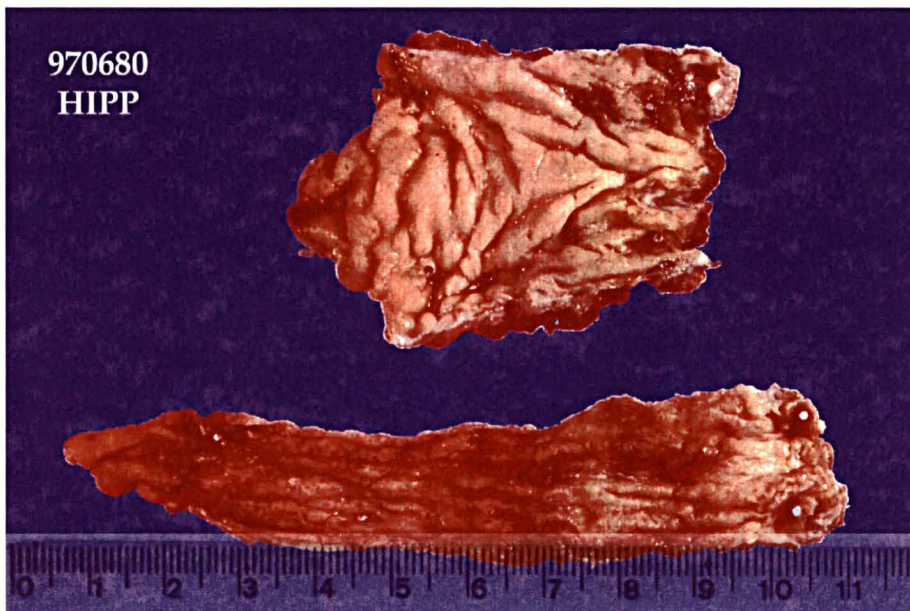
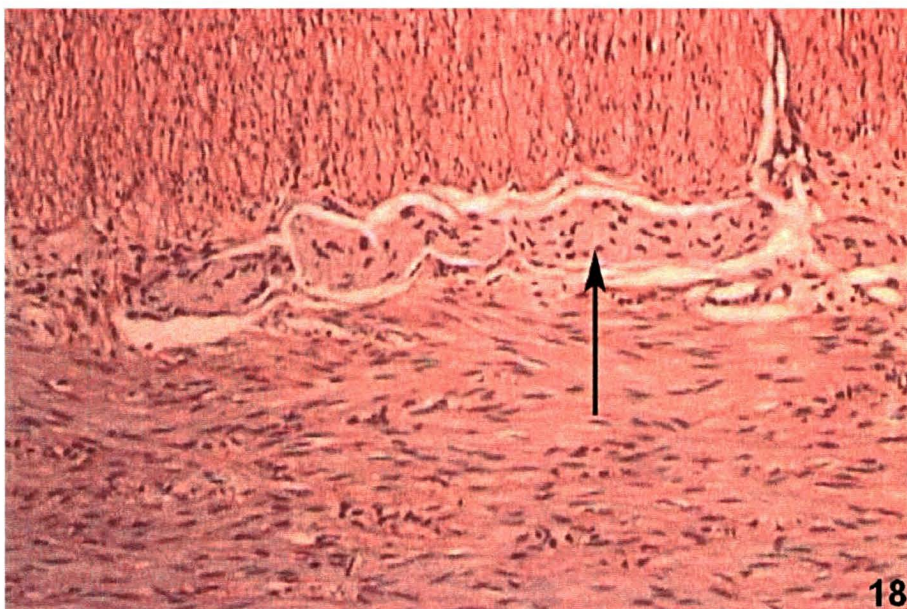
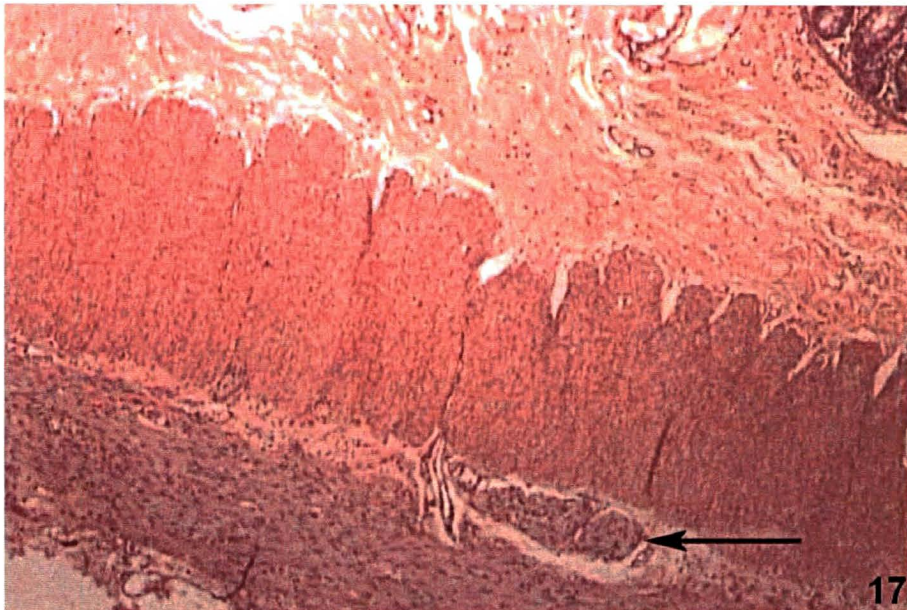


Figura 16 – Fotografia macroscópica de espécime cirúrgico aberto (vista da mucosa) recebido em dois segmentos, o mais longo, distal, composto por mucosa e submucosa, e o mais curto da região proximal, composto por toda a parede do cólon. (HIPP 97-680. Cirurgia de Soave)

À histologia observou-se no segmento agangliônico, além da ausência de células ganglionares, a presença de troncos nervosos hipertróficos proliferando na submucosa e no plexo mioentérico (Figuras 17, 18 e 19).



Figuras 17 e 18 – Fotomicrografias demonstrando a presença de tronco nervoso hipertrófico (seta) no plexo mioentérico em espécime cirúrgico de colectomia com abaixamento de reto em paciente portador da doença de Hirschsprung (HIPP 99B-1018). (17-HE X40; 18-HE X100)

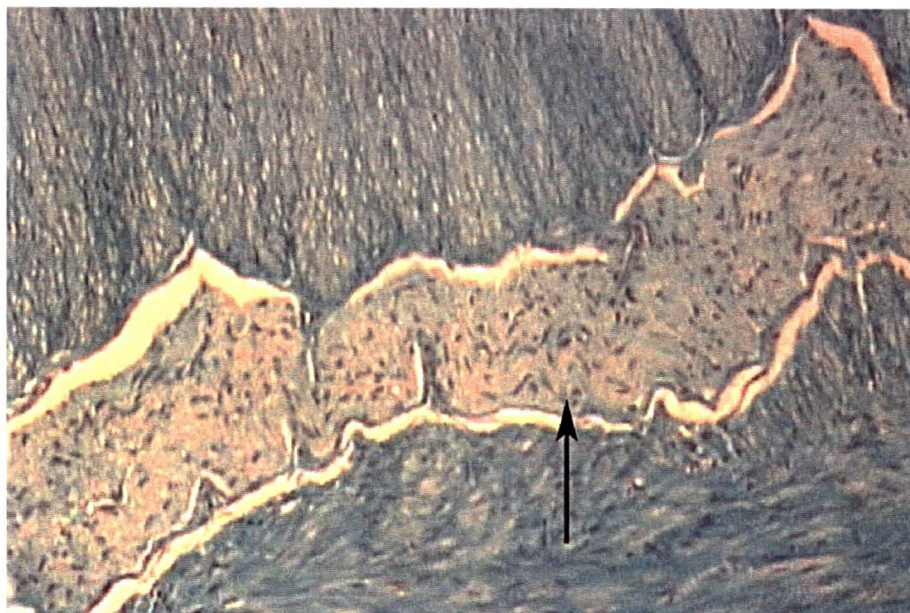
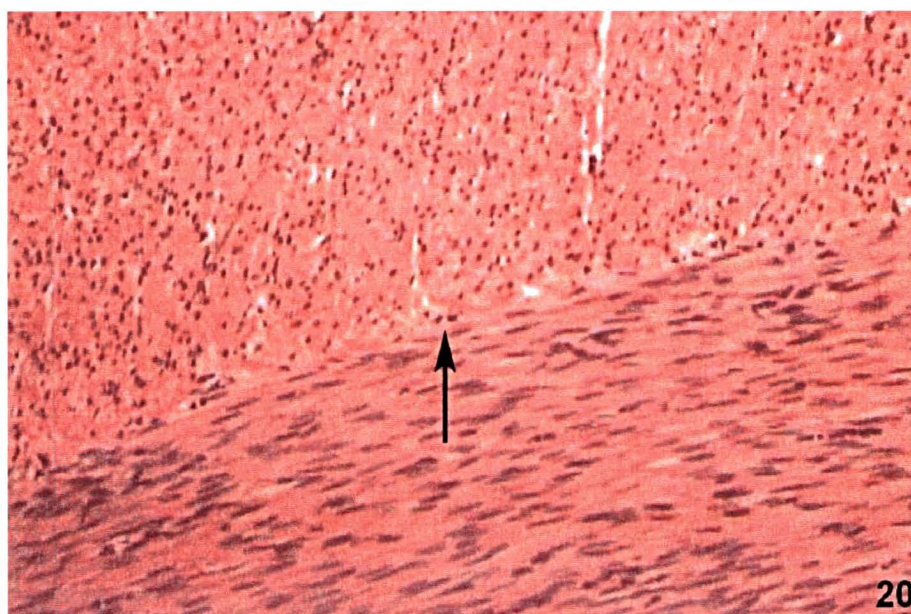


Figura 19 – Fotomicrografia demonstrando a presença de tronco nervoso hipertrófico (seta) no plexo mioentérico em espécime cirúrgico de colectomia com abaixamento de reto em paciente portador da doença de Hirschsprung (HIPP 99B-1018. Tricrômico de Masson X100).

Os espécimes cirúrgicos dos pacientes portadores da doença de Hirschsprung na forma de Aganglionose Total do Cólon apresentaram o seguinte aspecto histológico (Figuras 20 e 21):





Figuras 20 e 21 – Fotomicrografias demonstrando a ausência do plexo mioentérico com justaposição das túnicas musculares circular e longitudinal (setas) em espécime cirúrgico de colectomia total com abaixamento íleo-anal em paciente portador da doença de Hirschsprung na forma de Aganglione Total do Cólon (HIPP 98B-1103). (20-HE X100; 21- Tricrômico de Masson X100)

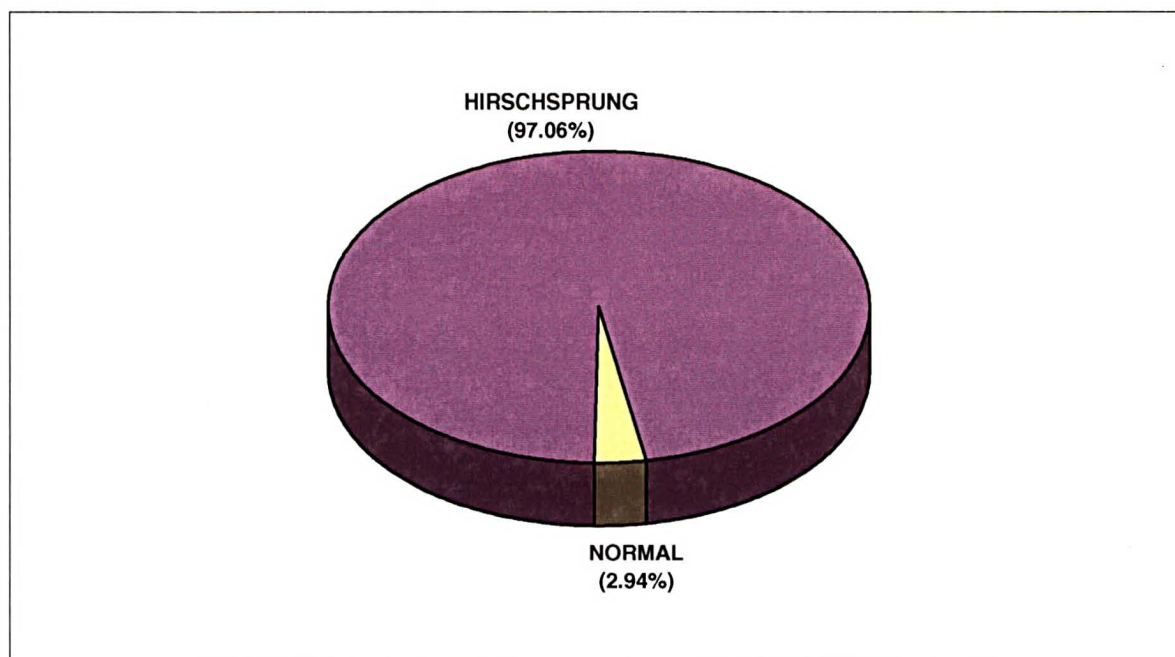
5.2.3 Resultados quantitativos

Após avaliação dos 68 espécimes cirúrgicos provenientes de pacientes submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon, todos com biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase prévias, obtivemos os seguintes resultados demonstrados na Tabela 11 e Gráfico 8:

TABELA 11 – DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DEFINITIVO NOS ESPÉCIMES CIRÚRGICOS DE COLECTOMIA DOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

Resultado	Freqüência (Percentual)
NORMAL	2 (2,94%)
HIRSCHSPRUNG	66 (97,06%)
Total	68 (100,00%)

GRÁFICO 8 - DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DEFINITIVO DO ESPÉCIME CIRÚRGICO DE COLECTOMIA NOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999



Os 68 pacientes submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon foram divididos de acordo com o sexo e faixa etária em relação ao diagnóstico de doença de Hirschsprung ou Normal como demonstram as Tabelas 12 e 13:

TABELA 12 – RELAÇÃO ENTRE FAIXA ETÁRIA E DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DE DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NAS COLECTOMIAS DOS 64 PACIENTES COM IDADE CONHECIDA SUBMETIDOS A ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

FAIXA ETÁRIA	NORMAL	HIRSCHSPRUNG
Menos de 1 mês	2 (100,00%)	12 (19,35%)
De 1 a 11 meses	0 (0,00%)	22 (35,48%)
De 12 a 60 meses	0 (0,00%)	21 (33,87%)
Mais de 60 meses	0 (0,00%)	7 (11,29%)
Total	2 (100,00%)	62 (100,00%)

TABELA 13 – RELAÇÃO ENTRE SEXO E DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DE DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NAS COLECTOMIAS REALIZADAS NOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A ABAIXAMENTO DE RETO NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

SEXO	NORMAL	HIRSCHSPRUNG
Masculino	2 (100,00%)	56 (84,85%)
Feminino	0 (0,00%)	10 (15,15%)
Total	2 (100,00%)	66 (100,00%)

A correlação entre os resultados da biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase e os resultados anátomo-patológicos definitivos das colectomias estudadas estão na Tabela 14:

TABELA 14 – CORRELAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DE DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NOS ESPÉCIMES CIRÚRGICOS DE COLECTOMIA COM O DIAGNÓSTICO PRÉVIO DA BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO E HISTOQUÍMICA PELA ACETILCOLINESTERASE NOS 68 PACIENTES SUBMETIDOS A ABAIXAMENTO DE RETO/CÓLON NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE ENTRE 1988 E 1999

BIÓPSIA DE RETO POR SUCÇÃO + HISTOQUÍMICA	DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG NO ESPÉCIME DE COLECTOMIA		Total
	PRESENTE	AUSENTE	
POSITIVA	64	0	64
NEGATIVA	1	1	2
INCONCLUSIVA	1	1	2
Total	66	2	68

As estimativas pontuais para especificidade, sensibilidade, acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo são apresentadas abaixo:

ESPECIFICIDADE: é a proporção dos indivíduos sem a doença que têm o teste negativo: 50% (1 caso dentre 2)

SENSIBILIDADE: é a proporção de indivíduos com a doença que têm o teste positivo: 96,97% (64 casos dentre 66)

ACURÁCIA: é a proporção de todos os resultados corretos dos testes:
95,59% ($64+1=65$ casos em 68)

VALOR PREDITIVO POSITIVO: é a proporção de doença em pacientes com o resultado do teste positivo: 100% (64 em 64)

VALOR PREDITIVO NEGATIVO: é a proporção de não doença em pacientes com o resultado do teste negativo: 50% (1 em 2)

Número de falsos positivos: 0

Número de falsos negativos: 1

6 DISCUSSÃO

A biópsia de reto por sucção obteve nos últimos 15 anos aceitação mundial como um método de diagnóstico definitivo da doença de Hirschsprung bem como um método de exclusão desta doença quando se está avaliando uma criança com obstipação intestinal crônica. Depois das primeiras observações clínicas de Harold Hirschsprung, mais de 70 anos se passaram até que SWENSON et al. em 1949, começaram a correlacionar detalhes de história, achados clínicos e anormalidades radiográficas com o distúrbio funcional do cólon e estabeleceram que a colostomia proximal era o tratamento inicial e que salvava a vida das crianças portadoras da doença de Hirschsprung.

Estudos manométricos mostram atividade motora normal no cólon proximal gangliônico em casos de doença de Hirschsprung. HIATT em 1958 identificou em estudos da motilidade intestinal através de balões que a obstrução funcional causada pela aganglionose intestinal decorria de espasmo e/ou ausência de movimentos peristálticos propulsivos. Considerando que normalmente os neuroblastos migram através do N. Vago entre a 6a e a 12a semanas de desenvolvimento embrionário, e considerando que esta migração seja interrompida, fibras nervosas parassimpáticas extramurais, provenientes dos segmentos S2-S4, as quais já estão bem desenvolvidas a esta altura, dão origem a um estado de contração permanente do músculo circular da parede intestinal. Com a ausência de células ganglionares nos plexos submucosos e mioentérico e com a falta de coordenação da inervação parassimpática extramural adicional proveniente do plexo sacral, perde-se o mecanismo normal de relaxamento durante a peristalse e

conseqüentemente a coordenação dos movimentos peristálticos. A liberação constante de acetilcolina pelas fibras nervosas parassimpáticas do plexo sacral produz um aumento compensatório na atividade da acetilcolinesterase nestas fibras. O elevado nível de acetilcolinesterase nas fibras nervosas parassimpáticas do segmento agangliônico pode ser utilizado como um sinal diagnóstico confiável.

Conforme demonstrado neste trabalho (Figuras 12 a 14) observa-se uma rede de fibras nervosas proliferadas com grande aumento na atividade da acetilcolinesterase, especialmente na muscular da mucosa, e com isto muitas vezes uma biópsia superficial, contendo apenas a mucosa, pode ser suficiente para o diagnóstico histoquímico da doença de Hirschsprung. Uma vez que a densidade habitual de fibras nervosas do plexo parassimpático sacral decresce exponencialmente do esfíncter anal à flexura esplênica do cólon, a biópsia mucosa para o diagnóstico da doença de Hirschsprung deve ser colhida na região do reto e sigmóide como em todos os pacientes de nossa casuística (Anexo).

NOBLETT em 1969 descreveu a biópsia de reto por sucção através de um instrumento de biópsia modificado. Porém nesta época a biópsia de reto por sucção, para o diagnóstico da doença de Hirschsprung, era analisada exclusivamente através do método rotineiro de processamento histológico, o que a tornava muito problemática, pois a amostra geralmente continha apenas uma pequena porção da submucosa para pesquisa de células ganglionares, que aliás deveriam estar ausentes. Isto resultava em grande dificuldade para o patologista que deveria atestar a ausência de células ganglionares, necessitando uma imensa quantidade de cortes seriados das amostras, e ainda assim sob o risco de resultados falsos-positivos.

No presente trabalho, num período de 11 anos, 1988 a 1999, foram realizadas biópsias de reto por sucção com a pinça modelo Noblett e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase em 445 pacientes, especificamente para investigação de obstipação crônica ou pseudo-obstrução intestinal em crianças cuja faixa etária variou entre 2 dias e 15 anos e uma paciente adulta com 30 anos. A morbidade relacionada com o procedimento constou de 2 episódios de sangramento mais intenso, um deles necessitando reposição sanguínea. Não houve nenhum caso de perfuração intestinal ou mortalidade relacionada com este procedimento. Dos 445 pacientes estudados, 300 (67,42%) são do sexo masculino e 145 (32,58%) do sexo feminino.

O diagnóstico dos grupos em estudo, portadores e não portadores da doença de Hirschsprung foi baseado na análise histológica das amostras de tecido fresco obtidas através da biópsia por sucção do reto, cortadas em criostato e coradas por hematoxilina-eosina, juntamente com a demonstração da atividade da acetilcolinesterase através de técnica de coloração específica e cortes histológicos seriados corados em HE. Segundo um estudo de BYARD & CARLI (1998), as amostras poderão ser encaminhadas ao laboratório de referência a fresco, orientadas sobre papel filtro umedecido e a 4 graus centígrados, num prazo máximo de 14 dias.

Na nossa análise a biópsia de reto por sucção associada ao método histoquímico para demonstração da atividade da acetilcolinesterase, nos casos normais, demonstrou atividade enzimática negativa para a acetilcolinesterase, ou a presença de raros e esparsos filetes nervosos delicados, acetilcolinesterase-positivos, na muscular da mucosa e lâmina própria, e em mais de 90% dos casos

permitiu a visualização das células ganglionares, quando continha quantidade suficiente de submucosa para avaliação. Para isso utilizamos concomitantemente a inclusão em parafina dos fragmentos amostrados e cortes histológicos seriados, média de 15 cortes, corados pela hematoxilina-eosina. Quantidade suficiente de submucosa significa um volume de submucosa equivalente ao volume de mucosa que a recobre (POLLEY et al., 1986). Na literatura está descrita a necessidade de se analisar mais de 75 cortes histológicos (QUALMAN et al., 1997) ou até mais de 400 cortes histológicos (POLLEY et al., 1986) para se identificar células ganglionares, enquanto que outros autores (LAKE et al., 1988) afirmam que são necessários apenas 1 ou 2 cortes histológicos e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase para se identificar células ganglionares na submucosa.

LAKE et al., em 1978 afirmaram que era fácil o reconhecimento da célula ganglionar pela técnica da acetilcolinesterase. Porém nem todos os autores relatam a mesma experiência (BRITO, 1985; TAKEGAWA, 1997). Estes autores argumentam que a célula ganglionar se cora juntamente com seus prolongamentos dificultando sua identificação nos plexos nervosos. Nos nossos casos normais as células ganglionares foram observadas com maior frequência nos cortes em parafina corados pela hematoxilina-eosina.

A biópsia de reto por sucção dos pacientes portadores da doença de Hirschsprung demonstrou neuro-hipertrofia e ausência de células ganglionares na submucosa nos cortes seriados corados pela hematoxilina-eosina. A pesquisa da atividade da acetilcolinesterase demonstrou numerosos filetes nervosos grosseiros, corados em marrom-escuro/negro na submucosa, na muscular da mucosa e nas crianças de mais de 6 meses de idade também na lâmina própria da mucosa. Estes

aspectos, histológico e histoquímico, são idênticos aos descritos na literatura (MEIER-RUGE, 1968; CAMPBELL & NOBLETT, 1969; MEIRE-RUGE et al., 1972; LAKE et al., 1978; GOTO et al., 1984, BRITO & MAKSOUD, 1987).

Na análise da nossa casuística, dos 445 pacientes portadores de obstipação intestinal crônica ou pseudo-obstrução intestinal no período neonatal submetidos a biópsia de reto por sucção com pesquisa da atividade da acetilcolinesterase, o método permitiu a confirmação diagnóstica em 151 casos (33,93%), considerando re-biópsia em 28 casos. Esta taxa de positividade da doença de Hirschsprung na nossa casuística é mais elevada do que a relatada em outras casuísticas (LAKE et al., 1978; BARR et al., 1985; KURER et al., 1986; CHALLA et al., 1987), que varia entre 20 e 30%. Este fato pode estar relacionado à seleção rigorosa dos pacientes encaminhados à investigação diagnóstica através da biópsia de reto por sucção, quase sempre realizada pela mesma equipe de cirurgiões pediátricos do Hospital Infantil Pequeno Príncipe. Pode estar também relacionada a características regionais da nossa população. Em outro trabalho nacional sobre a doença de Hirschsprung o autor relata incidência de 48,9% em sua série (TAKEGAWA, Botucatu, 1997).

Dos 445 pacientes, 280 (62,92%) foram diagnosticados como normais e 14 pacientes (3,15%) tiveram resultados inconclusivos na biópsia de reto por sucção, considerando a re-biópsia em 28 casos. Para os pacientes com resultados inconclusivos na biópsia de reto por sucção foi recomendada re-biópsia, porém apenas 4 pacientes realizaram a re-biópsia, sendo que 1 caso resultou normal e 3 casos resultaram doença de Hirschsprung. Outros pacientes foram submetidos à re-biópsia por outras causas, 11 deles devido a dúvida clínica em paciente com biópsia de reto inicial normal, porém evoluindo insatisfatoriamente com as medidas

terapêuticas, destes 7 casos confirmaram o diagnóstico inicial de normal, num deles a re-biópsia foi inconclusiva devido a inflamação severa da mucosa e submucosa com ulceração e em 3 casos o diagnóstico na re-biópsia foi de doença de Hirschsprung. Ainda foram re-biopsiados 13 casos em que a biópsia de reto inicial teve como resultado doença de Hirschsprung e evolução clínica incharacterística optando-se por repetir a biópsia de reto por sucção antes de se proceder a colectomia com abaixamento de reto/cólon, todos confirmaram o diagnóstico inicial de doença de Hirschsprung. Os casos interpretados clinicamente como de segmento ultracurto e que foram encaminhados à investigação através de biópsia de reto por sucção, resultaram histologicamente normais.

Na presente casuística observamos também que 46,97% dos diagnósticos de doença de Hirschsprung ocorreram na faixa etária de 0 a 1 ano, sendo que a prevalência diagnóstica da doença variou nas diferentes faixas etárias com percentuais concordantes com os dados da literatura (CHOW et al., 1977; HUNTLEY et al., 1982; BRITO et al., 1987; GUGELMIN et al., 1990). Esta distribuição de faixas etárias se baseou no fato de que a prevalência diagnóstica da doença de Hirschsprung variou significativamente nas diferentes faixas etárias. Na faixa etária acima de 5 anos, a prevalência de diagnóstico da doença ficou em 12,88%.

Dos 300 pacientes do sexo masculino observamos que 125 (82,78%) foram confirmados como portadores de doença de Hirschsprung através da biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase. Em contrapartida, das 145 pacientes do sexo feminino que foram submetidas à biópsia de reto por sucção, 26 (17,22%) foram confirmadas como portadoras da doença. Nossa casuística,

coincidentalmente com os dados da literatura, demonstra grande prevalência da doença no sexo masculino (BODIAN et al., 1963; KAISER et al., 1982).

Realizado o diagnóstico de doença de Hirschsprung através da biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase, os pacientes foram encaminhados de duas maneiras: colostomia, como primeiro tempo cirúrgico, para depois serem submetidos ao abaixamento do reto, mais freqüentemente pela técnica de Soave, utilizada pelos cirurgiões pediátricos do Hospital Infantil Pequeno Príncipe ou, mais recentemente, os pacientes que apresentavam condições clínicas adequadas foram submetidos ao abaixamento de reto em tempo único, através da técnica de Soave endoanal.

Nos casos em que se precisava estabelecer o local mais adequado para a colostomia ou o local exato do corte cirúrgico nos casos de abaixamento de reto em tempo único, foram realizadas biópsias sero-musculares intra-operatórias do reto/cólon encaminhadas a fresco ao laboratório, congeladas em nitrogênio líquido, cortadas em criostato, e coradas pelo método rápido da hematoxilina-eosina para avaliação da presença de células ganglionares no plexo mioentérico, indicativas de área do reto/cólon com inervação preservada. As biópsias consistiam de pequenos fragmentos de tecido medindo em média 2 a 4 mm em extensão e 1 a 3 mm em largura. Entretanto, biópsias submucosas não são adequadas para o diagnóstico intra-operatório por congelação de aganglionose intestinal devido a maior dificuldade na detecção das células ganglionares (QUALMAN & MURRAY, 1994).

Nossa casuística constou de 68 pacientes submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon, dos quais 58 (85,29%) eram do sexo masculino e 10

(14,71%) do sexo feminino. A idade deste grupo de pacientes variou entre 20 dias e 10 anos.

Ressecado o segmento colônico agangliônico, o seu aspecto macroscópico era quase normal, entretanto histologicamente as células ganglionares estão ausentes em todos os plexos nervosos da parede e nos casos de segmento curto e longo observa-se a presença de troncos nervosos hipertróficos proliferando na submucosa e no plexo mioentérico. Os espécimes cirúrgicos dos pacientes portadores de Aganglionose Total do Cólon não demonstram esta hipertrofia e hiperplasia de troncos nervosos nos plexos intramurais e sim a justaposição das túnicas musculares circular e longitudinal com a ausência de qualquer elemento do plexo nervoso entre elas. A avaliação histológica detalhada dos 68 casos demonstrou com exatidão a extensão do segmento agangliônico, a área de transição (normalmente hipogangliônica), a presença de uma margem cirúrgica composta por intestino normalmente gangliônico ou a associação com displasia neuronal intestinal. Esta análise criteriosa só pode ser efetuada desde que obedecidas as técnicas recomendadas para amostragem do espécime cirúrgico relatadas no capítulo de casuística e método. Com relação a outras anormalidades neuronais associadas, observamos que a zona de transição, proximal à área de aganglionose, se caracteriza por ser uma zona hipogangliônica. Embora não tenhamos feito nenhuma análise quantitativa com relação a hipoganglionose pudemos concluir em base comparativa, subjetiva, que em todos os espécimes cirúrgicos de abaixamento de cólon analisados, cuja zona de transição fazia parte de espécime, foi observada hipoganglionose nesta região, e tal achado foi mencionado no laudo anátomo-patológico, assim como a presença de área de hiperganglionose (displasia neuronal

intestinal associada) e de qualquer segmento proximal de cólon normalmente gangliônico. Estas informações tiveram a intenção de alertar o cirurgião quanto a qualidade do cólon que estava presente na margem cirúrgica de ressecção e que, portanto, permaneceu no paciente. Como resultado encontramos uma associação da doença de Hirschsprung com displasia neuronal intestinal em 15% das colectomias estudadas. Na literatura a freqüência desta associação varia entre 0,3 e 80% em diferentes casuísticas e em diferentes países (HANIMANN, 1992). KOBAYASHI et al. em 1995 encontraram uma associação entre displasia neuronal intestinal e aganglionose em 35% dos espécimes cirúrgicos de abaixamento de cólon por doença de Hirschsprung examinados. Em todos os nossos casos a área de displasia neuronal intestinal se localizava à montante da área de aganglionose ou da área de transição quando presente, de acordo com o que tem sido descrito na literatura (PURI et al., 1977; SCHARLI & MEIER-RUGE, 1981; MUNAKATA et al., 1985).

Os dados que se referem a faixa etária e sexo dos pacientes portadores de doença de Hirschsprung que foram submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon repete percentualmente os dados estatísticos dos pacientes diagnosticados como portadores de doença de Hirschsprung através da biópsia retal por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase, evidenciando um maior número de pacientes operados com idade até 1 ano e do sexo masculino, uma vez que eram estes os pacientes que tinham indicação para correção cirúrgica. Portanto do grupo de 68 pacientes operados com biópsia retal prévia, 64 tinham o diagnóstico de doença de Hirschsprung na biópsia de reto por sucção associada a histoquímica pela acetilcolinesterase, o qual foi confirmado no exame anátomo-

patológico do espécime cirúrgico proveniente do abaixamento de cólon. Isto demonstra um índice de acurácia de 95,59% da biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase para diagnóstico da doença de Hirschsprung, resultado concordante com os dados relatados na literatura. MÉIER-RUGE et al., 1972, demonstraram 100% de acurácia quando selecionaram 60 biópsias de reto por sucção adequadas para análise e que não apresentavam células ganglionares na submucosa em cortes seriados corados pela hematoxilina-eosina bem como reação positiva pela acetilcolinesterase e compararam com os espécimes cirúrgicos respectivos das colectomias terapêuticas. LAKE et al., 1978, refere a biópsia de reto por sucção com células ganglionares ausentes na submucosa associada a reação positiva pela acetilcolinesterase como o método mais confiável existente se comparado com a biópsia de reto por sucção submetida a processamento rotineiro em parafina e cortes seriados corados pela hematoxilina-eosina, ao RX e à manometria. WAKELY & McADAMS, 1984, encontraram um índice de acurácia de 95% quando compararam 154 biópsias de reto por sucção adequadas de pacientes portadores de doença de Hirschsprung coradas apenas pelo método da acetilcolinesterase com as mesmas biópsias por sucção fixadas em formalina e os cortes seriados em parafina corados pela hematoxilina-eosina (=83% de acurácia). PARK et al., 1992, realizando estudo similar ao anterior em 37 biópsias de reto por sucção de pacientes portadores de doença de Hirschsprung, encontraram um índice de acurácia de 97% para o método da acetilcolinesterase isolado se comparado com o método rotineiro de fixação em formalina, inclusão em parafina e cortes seriados corados pela hematoxilina-eosina (=74% de acurácia em sua série).

Nossos resultados demonstraram ainda alta sensibilidade (96,97%) e alto valor preditivo positivo (100%), substanciando a adequação dos critérios clínico-cirúrgicos de diagnóstico presuntivo da doença de Hirschsprung.

Dois pacientes com resultado normal na biópsia retal por sucção prévia e histoquímica pela acetilcolinesterase foram submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon devido a evidências clínicas de doença de Hirschsprung e evolução insatisfatória com as medidas terapêuticas conservadoras, um deles obteve como resultado do exame anátomo-patológico da colectomia padrão normal e o outro recebeu o diagnóstico de doença de Hirschsprung. Este foi o único caso de falso-negativo da biópsia retal por sucção com histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase da série de 68 pacientes submetidos a colectomia com abaixamento de reto/cólon no Hospital Infantil Pequeno Príncipe. Dois pacientes com biópsia retal prévia inconclusiva, sem re-biópsia, foram submetidos a colectomia com abaixamento de reto, um deles teve diagnóstico de doença de Hirschsprung no espécime cirúrgico da colectomia e o outro resultou normal. Não houveram casos falsos-positivos.

7 CONCLUSÕES

1 - A prevalência de doença de Hirschsprung nos 445 pacientes investigados por obstipação intestinal crônica ou pseudo-obstrução intestinal no serviço de Anatomia Patológica do Hospital Infantil Pequeno Príncipe entre 1988 e 1999 é de 33,93%.

2 - O levantamento epidemiológico dos 151 pacientes com doença de Hirschsprung demonstra predomínio de pacientes na faixa etária até 1 ano de idade (46,97%) em relação à população normal encaminhada (23,85%) sendo o sexo masculino mais acometido. Estas observações são estatisticamente significativas.

3 - A correlação entre a biópsia de reto por sucção e histoquímica enzimática pela acetilcolinesterase com os resultados da colectomia terapêutica demonstra índice de acurácia de 95,59% com alta sensibilidade (96,97%) e valor preditivo positivo (100%), porém com baixa especificidade (50%) e valor preditivo negativo (50%). Estes achados fortalecem a necessidade de indicação clínico-cirúrgica precisa em pacientes suspeitos de doença de Hirschsprung.

ANEXO – LISTA DOS PACIENTES ESTUDADOS ENTRE 1988 E 1999 NO HOSPITAL INFANTIL PEQUENO PRÍNCIPE

Legenda para leitura da lista de pacientes:

Nº do exame = número do exame de biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase

Paciente = iniciais do nome do paciente

Sexo M = sexo masculino

Sexo F = sexo feminino

Idade xx D = idade em dias

Idade xx M = idade em meses

Idade xx A = idade em anos

Diagnóstico N = diagnóstico Normal

Diagnóstico H = diagnóstico de doença de Hirschsprung

Re-biópsia = número do exame de re-biópsia de reto por sucção e histoquímica pela acetilcolinesterase

Cirurgia de abaixamento = número do exame anátomo-patológico do espécime cirúrgico de colectomia

Obs. = Observações gerais

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999											
	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
1	88-17	L.M.	M	06M	N			N			
2	88-18	F.S.	M	08A	N	89-27/89-86	N	N			
3	88-19	L.A.M.S.	M	01M	H			H			
4	88-20	R.V.	M	03A	N			N			
5	88-22	T.C.C.	M		H			H			
6	88-29	A.C.R.	M	09A	N			N			
7	88-30	E.N.C.	F	05A	N			N			
8	88-33	A.C.P.O.	F	06A	N			N			
9	88-36	RN-L.A.C.	F	02D	H			H			
10	88-37	W.S.B.	M	02A	N			N			
11	88-48	RN-A.J.	F	06D	N		N	N			Miopatia Visceral
12	88-49	C.J.F.	M	03A	H	88-108	H	H			
13	88-58	A.V.G.	M		N			N			
14	88-59	E.C.	F	10A	N			N			
15	88-60	F.M.A.	F	03A	N			N			
16	88-66	L.C.A.	F	11M	H			H			
17	88-72	A.M.B.	M	01A	N			N			
18	88-73	E.P.S.F.	M	01A	N			N			
19	88-74	T.L.	M	02M	H			H			
20	88-77	R.T.	M	09M	N			N			
21	88-78	P.R.S.M.	M	45D	N			N			
22	88-79	E.G.V.	M	03M	N			N			
23	88-82	J.P.B.	M	02M	H			H			
24	88-85	A.E.S.	M		N			N			
25	88-86	R.F.	F	08A	N			N			
26	88-87	R.D.	M	03A	N			N			
27	88-88	A.G.B.M.	M	15M	H			H			
28	88-89	J.P.B.	M	07M	H			H			
29	88-100	S.M.F.	M	06M	H			H			
30	88-101	A.F.E.	F	06M	N			N			
31	88-102	A.P.M.A.	F	01M	H			H			
32	88-106	M.A.P.	M	17M	N			N			
33	88-107	E.F.N.	M	23M	H			H			
34	88-114	M.J.	F	02A	N			N			
35	88-126	G.I.Q.	M	14M	H			H			
36	89-07	A.M.H.	F	11A	N			N			
37	89-08	C.A.L.	M	03A	H			H			
38	89-15	P.F.C.	M	05A	N			N			
39	89-23	F.P.B.	F	03A	N			N			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999

	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
40	89-24	D.A.S.	F	10A	N			N			
41	89-25	K.A.M.	F	45D	N			N			DNI isolada?
42	89-26	L.C.S.	M	45D	N			N			
43	89-28	J.G.	F	02A	N	91-81	N	N			
44	89-31	T.S.	M	07M	N			N			
45	89-50	T.L.S.D.	M	08A	N			N			
46	89-51	S.A.	M	27D	N			N			
47	89-53	M.A.P.	M	19M	H			H			
48	89-60	R.A.T.	M	07M	H			H			
49	89-61	A.F.S.	F	02A	N			N			
50	89-62	J.I.	M	04A	N			N			
51	89-63	R.F.	M	05M	H			H	93-847	H	
52	89-64	B.D.T.	M	13D	N			N			
53	89-65	A.M.G.	F	02A	N	89-67	H	H			2a biópsia definiu
54	89-66	R.M.C.	M	10M	N			N			
55	89-74	E.P.A.	M	06A	N			N			
56	89-89	C.C.A.	M	03A	N			N			
57	89-90	C.A.G.	F	07A	N			N			
58	89-98	J.S.A.	F	07M	N			N			
59	89-99	P.M.A.	M	04A	N			N			
60	89-104	E.P.A.	F	05M	H			H			
61	89-105	A.F.E.	F	15M	N			N			
62	89-157	G.M.C.B.	F	03A	N			N			
63	89-159	A.S.S.	M	10A	N			N			
64	89-161	V.S.M.	M	04A	N			N			
65	89-162	L.E.S.	M	02A	N			N			
66	89-164	T.L.P.	M	02A	N			N	90-84	H	FALSO NEGATIVO
67	89-165	K.C.G.	F	18M	N	90-84	N	N			
68	89-168	L.C.K.	F	05M	N			N			
69	89-169	R.M.C.	M	02M	N			N			
70	90-15	C.H.A.N.S.	M		N			N			
71	90-16	L.P.S.	M		H			H			
72	90-28	W.G.A.	M		N			N			
73	90-29	C.E.S.	M		N			N			
74	90-30	J.A.	M	10M	N			N			
75	90-55	Z.P.	M		N			N			
76	90-58	R.L.B.	M		N			N			DNI isolada?
77	90-73	C.S.F.	M	I		90-97	N	N			
78	90-83	B.S.M.	M		N			N			
79	90-98	RN-E.B.F.	M	14D	H	90-117	H	H			Aganglionose Total
80	90-108	A.K.F.	F	04A	N			N			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999

	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
81	90-114	E.C.S.	M	03A	N			N			
82	90-115	C.H.R.	M	06A	H	90-135	H	H			
83	90-116	P.A.B.	F		N			N			
84	90-120	RN-M.S.S.F.	F	04D	N			N			
85	90-132	G.M.A.	F	09A	N	91-11	H	H	91-126	H	2a biópsia definiu
86	90-133	J.E.C.	M	06A	N			N			
87	90-153	K.K.	M		N			N			
88	90-172	A.D.J.	M		N			N			
89	90-184	T.A.A.C.	M		N			N			
90	90-194	H.L.T.S.	M	01A	N			N			
91	90-208	RN-A.F.M.	M	17D	H			H	99-1267-Re-oper	H	DNI associada
92	90-219	W.C.F.	M	02M	N			N			
93	90-220	J.L.D.	M		H			H	90-123/90-153/90-198	H	
94	90-224	G.T.	M		H			H	90-116/91-744/91-749	H	
95	90-230	M.A.P.	M	02A	H			H			Só colostomia (91-133)
96	90-233	L.G.R.	M	10M	H			H	91-847	H	
97	91-25	L.A.B.	M		N			N			
98	91-26	M.S.D.	M		H			H			
99	91-46	T.J.P.	M		N			N			
100	91-47	P.R.G.	M		N			N			
101	91-69	C.J.Q.	M	07M	N			N			
102	91-75	J.R.R.	M	09A	I			I			
103	91-80	F.G.	M		N			N			
104	91-82	R.P.S.	M	14M	H			H			
105	91-89	M.F.	F	03A	N			N			
106	91-122	D.Z.M.	M	50D	I	91-147	H	H	91-471/91-506/91-775	H	
107	91-148	L.H.S.L.	M	13M	H			H	92-121	H	
108	91-152	J.G.	M	06A	H			H			
109	91-153	A.A.A.	M	14M	H			H			
110	91-162	J.M.C.	F	05A	H			H	91-892	H	
111	91-163	T.D.C.	M	11M	H			H	91-147	H	
112	91-165	J.C.S.O.	M	08A	H			H	92-698	H	
113	91-166	E.G.S.	M		N			N			
114	91-179	W.M.B.	M		N			N			
115	91-182	A.H.P.	M	02A	N			N			
116	91-183	M.C.M.	M		I	91-194	H	H			
117	91-211	C.C.D.	F	09A	N			N			
118	91-212	A.B.G.	M		H			H	91-177/91-178	H	
119	91-221	A.O.A.	F	02A	H			H	92-734	H	
120	91-225	B.F.D.	F	07M	H	92-182	H	H	92-746/93-423	H	
121	91-239	G.R.R.B.	M	02M	N			N			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999											
	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs
122	91-251	J.M.V.	F		N			N			
123	91-261	R.G.	M		H			H			
124	91-262	G.M.H.	M	17A	N			N			
125	92-20	L.P.J.	M		H			H			
126	92-24	J.R.I.B.	M	07A	N			N			
127	92-30	G.K.P.	M		H			H			
128	92-40	A.R.L.L.	M		H			H			
129	92-48	C.A.L.	M	12A	H			H			
130	92-56	RN-O.D.M.R.	M	11D	N			N			
131	92-57	RN-R.H.	F	09D	N	92-74	N	N			
132	92-73	L.B.	F		N			N			
133	92-75	RN-V.A.O	M	10D	N			N	92-396	N	
134	92-78	W.R.S.G.	M		H			H			
135	92-79	M.L.A.	M	10A	N			N			
136	92-83	A.S.	M		H			H	92-463/92-464	H	
137	92-94	M.A.P.	M		H			H			
138	92-106	W.B.	M		N			N			
139	92-107	A.M.R.	M		N			N			
140	92-121	R.R.D.	M	02A	H			H			
141	92-122	J.A.M.	F	09A	N			N			
142	92-128	M.H.	F		N			N			
143	92-132	M.V.B.	M		N			N			
144	92-133	A.J.N.S.	M	01A	H			H	92-133	H	
145	92-137	C.A.J.	M		N			N			
146	92-161	RN-J.G.	M	06D	H			H	92-677/92-708/92-861	H	Aganglionose Total
147	92-162	E.I.S.	M	10D	N			N			Só colostomia (92-674)
148	92-166	E.F.N.	M		H			H			
149	92-175	J.A.B.G.	M	02A	H			H	92-177/92-986	H	
150	92-176	R.C.S.	M		N			N			
151	92-192	A.C.L.	F		N			N			
152	92-198	E.M.	F		N			N			
153	92-205	F.M.	F	08M	N			N			
154	92-241	A.M.S.	F	04A	N			N			
155	92-242	R.T.	M		N			N			
156	92-243	D.J.C.P.	M	20D	I			I	92-956	N	
157	92-258	G.R.S.	F		N			N			
158	92-275	K.F.	F	03A	N	93-87	N	N			
159	92-281	E.C.K.	F	07A	N			N			
160	92-289	G.R.D.B.	M		H			H			
161	92-296	R.B.N.	F	09A	N			N			
162	93-10	C.L.G.	F	04A	N			N			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999											
	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs
163	93-11	R.R.G.	M	04A	N			N			
164	93-12	E.M.A.	F	30A	N			N			
165	93-18	A.A.A.	M	04A	H			H			Só colostomia (93-101)
166	93-19	E.V.I.	M	01A	N			N			
167	93-42	L.J.S.	M	01A	H			H			
168	93-49	RN-M.B.	M	17D	H			H			
169	93-54	T.M.S.	M	07A	H	95-194/95-241	H	H	93-602/95-994	H	
170	93-59	L.J.L.	M	01A	N			N			
171	93-63	H.A.	M	02A	N			N			
172	93-66	G.C.M.	M	05M	N			N			
173	93-69	A.V.	M	03M	H			H			
174	93-75	R.P.A.	M	01A	H			H	93-934	H	
175	93-76	M.B.V.	M	10A	N			N			
176	93-80	RN-M.I.N.G.	F	01M	H	93-99	H	H			
177	93-88	F.O.M.	M	01A	N			N			
178	93-108	G.F.S.S.	F		I			I			
179	93-110	C.R.	M		N	93-257	N	N			
180	93-112	R.R.L.	M	06A	N			N			
181	93-116	R.R.	M		N			N			
182	93-120	A.M.J.	M	02A	H			H			
183	93-123	M.R.A.	M	06M	H			H			DNI pós Soave em outro serviço (99-324)
184	93-151	R.L.B.	M	02A	N			N			
185	93-152	P.R.Z.F.	M		N			N			
186	93-153	S.B.L.	F	09A	N			N			
187	93-154	L.H.S.	M		H			H			
188	93-160	L.S.S.	M	01A	H			H			
189	93-161	T.S.F.	M	08A	N			N			
190	93-168	A.S.	F	05A	N			N			
191	93-187	RN-V.L.C.	F	09D	N			N			
192	93-190	L.H.V.	M	08M	N			N			
193	93-218	T.P.S.	F	01A	N			N			
194	93-220	A.J.F.	F	04A	N			N			
195	93-230	A.A.Q.	F	07A	N			N			
196	93-231	C.A.F.	F	09A	N			N			
197	93-234	J.C.	M	06A	N			N			
198	93-235	J.E.S.	M	02A	H	94-26	H	H	94-345/94-895	H	
199	93-236	C.P.P.	M		N			N			
200	93-241	D.P.O.S.	F		N			N			
201	93-247	A.G.P.	M		N			N			
202	93-248	J.P.C.S.	M		N			N			
203	93-249	D.A.S.S.	M	01A	H			H			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999											
	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
204	93-252	L.H.S.	M	11A	N			N			
205	93-253	L.D.G.	F	02A	N			N			
206	93-254	A.Z.J.	M		N			N			
207	93-263	RN-M.E.M.	F	01M	N			N			
208	93-268	RN-F.K.F.	F	22D	N			N			
209	93-275	M.C.M.	M	05A	H			H			
210	93-294	G.G.	M	02A	N			N			
211	93-296	A.R.D.	F	04A	N			N			
212	93-301	A.C.Z.	F		N			N			
213	94-25	J.E.P.	F	02M	N			N			
214	94-37	T.S.R.	M	04A	N			N			
215	94-43	J.R.A.S.	M	08A	N			N			
216	94-44	A.B.G.	M	03A	H			H			
217	94-55	A.W.M.	M	09A	N			N			
218	94-60	C.E.S.F.	M	01M	N			N			
219	94-62	E.F.	M	10A	H	97-139	H	H	94-774	H	2o abaixamento
220	94-78	T.W.	F		N			N			
221	94-104	A.M.N.N.	M		N			N			
222	94-108	C.R.F.	M		N			N			
223	94-112	N.A.O.	F	03A	H			H			
224	94-117	T.A.S.	M	10M	H			H	94-840	H	
225	94-121	F.G.L.M.	M	03M	H			H	94-423/94505/94-1058	H	
226	94-122	R.B.C.	M	06M	H			H	94-650	H	
227	94-123	S.P.O.	F	01A	N			N			
228	94-129	M.A.R.N.	M	09M	H			H	94-432/94-890	H	
229	94-134	M.F.G.L.	M		N			N			
230	94-136	RN-S.S.	M	07D	I			I			
231	94-141	B.F.	M	04A	N			N			
232	94-144	S.F.C.	F	12A	N			N			
233	94-151	P.D.B.J.	M	06A	H			H			Só colostomia (94-497)
234	94-152	M.H.A.	M	05A	N			N			
235	94-155	F.M.	M	09M	H			H			
236	94-162	I.W.	M	13A	N			N			
237	94-163	N.C.B.P.	F	08M	H			H			
238	94-168	V.A.A.	M	05A	N			N			
239	94-169	L.C.V.	F	05A	N			N			Anoretomiectomia (94-490)
240	94-171	C.F.	M	09A	H			H	94-598	H	
241	94-175	N.J.B.	M	11A	I			I			
242	94-177	Y.S.	M	06A	H			H	97-693	H	
243	94-178	L.F.C.P.	F	08A	N			N			
244	94-188	B.A.F.	F		N			N			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999

	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
245	94-190	J.R.I.B.	M	14M	N			N			
246	94-193	L.A.L.	M	06A	N			N			
247	94-195	P.S.	M	09A	N			N			
248	94-199	A.P.S.	F	01A	N	96-97	H	H	96-373/97-529	H	2a biópsia definiu. DNI associada.
249	94-204	N.L.	F	05A	N			N			
250	94-210	N.J.M.S.	F		N			N			
251	94-211	D.F.S.	F	06A	N			N			
252	94-212	P.G.H.	M	15A	N			N			
253	94-213	M.J.P.	M	11A	N			N			
254	94-216	E.I.S.	M	03A	H			H	95-365	H	DNI associada
255	94-217	L.S.S.	M	01M	H			H	94-772	H	
256	94-225	L.S.	M		N			N			
257	94-228	D.F.S.	M	05M	H			H	94-764/95-237	H	
258	94-229	C.P.S.	F	02A	N			N			
259	94-243	G.S.C.	M	01A	N			N			
260	94-245	D.S.	F	06M	N			N			
261	94-259	R.M.	M	10A	N			N			Anoretomiectomia (94-963)
262	94-262	P.A.P.	F	13A	N			N			
263	94-269	J.C.	M	09A	N			N			
264	94-272	A.N.G.	M		N			N			
265	94-273	RN-S.R.M.	M	11D	H			H			
266	94-274	R.O.	M	07A	N			N			
267	94-275	D.C.B.	F		N			N			
268	94-284	G.P.	M	04A	N			N			
269	94-288	J.G.J.	F		N			N			
270	94-289	D.V.	M	05A	H			H	95-296	H	DNI associada
271	94-298	L.H.	M	04A	H			H	94-995/95-325/95-357	H	DNI associada
272	94-307	M.C.	M	04A	N			N			
273	94-309	RN-D.N.	M	04D	H			H			
274	95-20	A.D.C.	M	01A	N			N			
275	95-27	F.G.L.M.	M	05A	I			I			
276	95-28	RN-M.S.	F	10D	N			N			
277	95-29	V.A.S.F.	M	01A	N			N			Anoretomiectomia (95-143)
278	95-30	B.B.	F	01A	N			N			
279	95-37	B.A.B.	M	01A	N			N			
280	95-45	A.B.S.	F	03A	N			N			
281	95-49	D.C.	M	01A	N			N			
282	95-50	M.G.M.	M	08A	N			N			
283	95-51	RN-M.E.K.	F	20D	N			N			
284	95-56	RN-M.J.M.	M	16D	H			H			
285	95-60	G.T.	M	04A	H	95-69	H	H			

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999

	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
286	95-61	L.S.S.	M	01M	H			H	95-326/95-826/96-123	H	
287	95-66	M.B.	M	05A	H			H			
288	95-67	R.R.D.	M	05A	H	95-72	H	H	95-330	H	DNI associada
289	95-71	M.A.Z.	F	01A	N			N			
290	95-75	J.L.C.S.	F	04A	N			N			
291	95-83	R.N.	M		N			N			
292	95-84	E.B.L.	M	05A	N			N			
293	95-85	D.V.S.	M	01M	H			H	95-306/95-1085	H	
294	95-86	J.A.B.G.	M	06A	H			H	95-347	H	
295	95-92	D.A.R.	F	11A	H			H			
296	95-104	V.A.S.F.	M	04A	N			N			
297	95-108	I.I.F.P.	F	04A	N			N			
298	95-113	RN-R.S.	F	15D	N			N			
299	95-130	F.C.	M	04A	H			H			
300	95-131	G.A.F.	F	11A	N			N			
301	95-132	L.H.B.	M	07A	N			N			
302	95-134	T.M.C.R.	F	11A	H			H			
303	95-140	V.O.F.	F	01A	N			N			
304	95-141	E.B.V.	F	04A	N			N			
305	95-142	E.A.M.R.	M	03A	H			H			
306	95-172	K.C.G.S.	F		N			N			
307	95-173	L.B.F.A.	M	05A	N			N			
308	95-200	L.S.S.	M	04A	H			H			
309	95-231	M.C.	F		N			N			
310	95-235	L.H.	M		N			N			
311	95-242	A.H.C.	M	02A	H	97-54/97-200	H	H	96-435/96-957/98-86	H	DNI associada
312	95-248	G.B.	M	04A	I			I			
313	95-249	G.L.T.	M	01A	N			N			
314	95-250	F.C.A.	F	01A	N			N			
315	95-255	G.S.A.	M	01M	H			H	95-1019/96-922	H	
316	95-285	R.S.F.	M	10D	H			H	96-1085	H	DNI associada
317	95-296	M.D.O.	M	05A	N			N			
318	95-338	G.M.	M	06M	H			H	95-1271/96-72	H	
319	95-339	G.S.B.	M	04A	N			N			
320	95-344	W.D.U.	M		N			N			
321	95-345	V.A.L.	F	06A	N			N			
322	95-346	E.H.L.P.	M	04A	N			N			
323	95-367	D.S.I.R.	M		H			H			
324	96-20	M.V.G.	M	01M	H	99-361 - Pós-abaixamento	H	H	96-134/96-764	H	
325	96-26	C.F.B.	F		N			N			
326	96-55	A.O.	F	01A	H			H			Só colostomia (96-336)

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999											
	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
327	96-56	R.S.	M	03A	N			N			
328	96-57	RN-R.P.	M	23D	H			H			
329	96-67	A.A.R.	M		N			N			
330	96-68	P.E.O.B.	M	02A	N			N			
331	96-70	B.R.S.	F		N			N			
332	96-86	B.R.M.	F	01A	H			H			
333	96-92	L.A.M.S.	M	08A	H			H			
334	96-96	A.C.M.	F		N			N			
335	96-97	A.P.S.	F	02A	H			H	97-529	H	DNI associada
336	96-99	M.F.P.	M		H			H			
337	96-110	C.M.L.	F	02A	N			N			
338	96-114	J.F.M.	M	13D	H			H	96-442/96-895	H	
339	96-136	D.C.P.	M	03A	H			H	96-383	H	
340	96-146	C.C.F.	F	01A	N			N			
341	96-172	E.S.A.	F	03A	N			N			
342	96-179	B.L.R.	F	03A	N			N			
343	96-190	W.T.	M	03A	N			N			
344	96-228	A.F.S.A.	M	02A	N			N			
345	96-231	I.G.S.	M	03A	N			N			
346	96-246	W.R.S.G.	M	03A	N			N			
347	96-264	L.A.	M	01A	N			N			
348	96-298	RN-R.I.F.S.	F	15D	I			I			
349	96-306	A.C.M.	M	03A	N			N			
350	96-307	E.R.M.	M	03A	N			N			
351	96-311	F.R.P.R.	F	02A	N			N			
352	96-316	E.O.D.	F	02A	N			N			
353	96-325	J.H.S.	M	01A	H			H			Só colostomia (96-1058)
354	96-356	B.A.N.	F	05A	N			N			
355	96-362	L.S.S.	F	09A	N			N			
356	96-381	W.F.O.	M	04A	N			N			
357	96-402	A.S.C.	M		N			N			
358	96-403	G.F.C.	M		N			N			
359	96-416	W.P.B.	M		N			N			
360	96-418	A.P.C.	F	13D	H			H	96-1361/97-821	H	
361	96-420	J.P.C.	M	02M	I			I			
362	97-01	J.I.	F	12D	H			H			
363	97-37	G.C.P.	M	10A	N			N			
364	97-53	D.T.	M	10A	N			N			
365	97-55	M.A.P.	M	09A	H			H			
366	97-83	D.A.B.	M	02M	H	98-383/99-120	H	H	97-251	H	Aganglionose Total
367	97-103	A.M.	M	05M	H			H	97-823	H	

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999

	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
368	97-109	J.S.	F	05M	H		H	97-792	H		
369	97-118	A.O.L.	F	03A	H		H				
370	97-129	D.S.	M	04M	N		N				
371	97-132	RN-J.B.N.C.	M	17D	N		N				
372	97-170	R.H.R.	M	04A	N		N				
373	97-177	M.R.D.	M	02A	H		H				
374	97-178	L.E.V.R.	M	02A	H		H	97-544	H		
375	97-179	D.R.	F	03A	N		N				
376	97-228	RN-R.L.S.	M	26D	I	97-236	H	97-729/97-1164/98-1103	H	Aganglionose Total	
377	97-237	P.V.D.S.	M	04A	N		N				
378	97-238	R.R.A.S.	M	05M	H		H				
379	97-250	S.L.R.O.	M	10D	H		H				
380	97-260	J.M.F.	F	02A	N		N				
381	97-265	RN-E.M.R.	F	02M	N		N				
382	97-279	R.L.O.	M	08M	H		H				
383	97-280	RN-N.L.A.	M	02M	N		N				
384	97-309	A.C.A.R.	F	02A	N		N				
385	97-310	D.F.D.	F	20M	N		N				
386	97-313	RN-D.C.B.	F	02M	N		N				
387	97-329	E.C.	M	04M	N		N				
388	97-334	A.X.R.	M	04M	N		N				
389	97-351	J.S.G.	M	11M	H		H	97-1095	H		
390	97-369	A.S.F.	F	02M	I		I				
391	97-385	RN-I.L.O.	M	10D	H		H	97-1351/98-856	H		
392	97-398	D.M.	F	03A	N		N				
393	97-402	RN-H.R.S.	M	10D	H	98-51 - Pós-abaixamento	H	97-1342	H		
394	97-403	RN-E.L.S.	M	04D	H		H				
395	97-408	W.M.S.	M	05A	N		N				
396	97-425	G.A.P.	M	02A	H		H				
397	97-431	C.A.G.	M	07A	N		N				
398	97-434	M.V.J.	M	13M	N		N				
399	98-20	RN-R.C.M.	M	18D	H		H	98-85/98-101	H		
400	98-21	N.G.M.	F	05M	N		N				
401	98-33	C.A.K.	F	03M	N		N				
402	98-66	RN-M.C.F.O.	M	11D	I		I				
403	98-94	K.M.H.	M	06M	H		H				
404	98-111	A.C.S.	F	18A	N		N				
405	98-132	E.C.P.	M	07D	H		H	98-1348	H		
406	98-152	C.D.C.	F	08M	N		N				
407	98-180	E.F.B.	M	15M	N		N				
408	98-188	K.E.B.	F	03A	N		N				

LISTA DE PACIENTES AVALIADOS ENTRE 1988 E 1999											
	Nº do exame	Paciente	Sexo	Idade	Diagnóstico da primeira biópsia	Re-biópsia	Diagnóstico da segunda biópsia	Diagnóstico final da biópsia de reto	Cirurgia de abaixamento	Diagnóstico da cirurgia de abaixamento	Obs.
409	98-191	G.I.F.	M	08A	N			N			
410	98-205	F.A.A.	F	09A	N			N			
411	98-231	P.P.B.J.	M	15D	N	99-305	I	I	99-869/99-874	H	2a biópsia não definiu.
412	98-285	B.M.P.S.	F	21M	N			N			
413	98-297	J.A.M.	M	04A	N			N			
414	98-306	L.C.B.	M	04A	N			N			
415	98-307	S.C.P.L.	F	07M	N			N			
416	98-313	RN-A.P.R.H.	M	06D	H			H	98-1078/98-1079	H	
417	98-319	N.J.B.	M	15A	I			I			
418	98-320	T.C.M.S.	M	04A	H			H	98-1126/98-1131	H	DNI associada
419	98-339	J.M.	M	06A	N			N			
420	98-343	RN-T.A.C.C.	F	04D	H			H			
421	98-356	B.S.P.	M	01A	I			I			
422	98-373	L.G.	F	06M	H			H	99-89	H	DNI associada
423	98-409	C.M.	F	17A	N			N			
424	98-415	L.U.	M	02A	H			H	99-1018	H	
425	98-427	D.T.M.	M	09A	H			H			
426	99-17	C.L.E.	F	11A	N			N			
427	99-18	C.T.P.	F	12A	H			H			
428	99-38	N.C.M.	M	04M	N			N			
429	99-41	M.P.V.	M	01M	N			N			
430	99-67	G.M.R.	M	02M	H			H			
431	99-76	B.C.K.	F	08M	N			N			
432	99-94	B.M.D.	M	14M	H			H	99-396	H	
433	99-132	J.J.D.	M	12A	N			N			
434	99-152	A.A.B.A.	F	18M	N			N			
435	99-182	D.L.V.	M	10M	N			N			
436	99-188	L.S.C.	M	04A	H			H			
437	99-216	J.L.A.	M	02A	H			H			
438	99-232	A.J.F.	M	18M	H			H			
439	99-290	A.C.M.P.	F	43D	N			N			
440	99-308	D.N.S.	M	04A	N			N			
441	99-315	A.A.A.	M	04A	N			N			
442	99-326	J.S.	M	18M	H			H	99-1154	H	
443	99-345	L.G.C.	F	11M	H			H	99-1539	H	
444	99-413	L.S.A.	F	05A	N			N			
445	99-425	M.I.L.B.	F	07A	N			N			

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AARONSON, I.; NIXON, H. H. A clinical evaluation of anorectal pressures studies in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **Gut**, v.13, p.138-146, 1972.
- 2 ALDRIDGE, R. T.; CAMPBELL, P. E. Ganglion cell distribution in the normal rectum and anal canal. A basis for the diagnosis of Hirschsprung's disease by anorectal biopsy. **J. Pediatr. Surg.**, v.3, p.475-490, 1968.
- 3 ALVAREZ, W. C. The mechanics of the digestive tract. P. B. Hoeber Inc., Div. of Harper & Row (Ed.), New York, 1922.
- 4 ANDREW, A. The origin of intramural ganglia. A critical review and discussion of the present state of the problem. **J. Anat.**, v.108, p.169-184, 1971.
- 5 ANDRASSY, R. J.; ISSACS, H.; WEITZMAN, J. J. Rectal suction biopsy for the diagnosis of Hirschsprung's disease. **Ann. Surg.**, v.193, p.419-424, 1981.
- 6 ANGRIST, M.; JING, S.; BOLK, S.; BENTLEY, K.; NALLASAMY, S.; HALUSHKA, M.; FOX, G. M.; CHAKRAVARTI, A. Human GFRA1: cloning, mapping, genomic structure, and evaluation as a candidate gene for Hirschsprung disease susceptibility. **Genomics**, v.48, p.354-362, 1998.
- 7 ARIEL, I.; VINOGRAD, I.; LERNAU, O. Z., et. al. Rectal mucosal biopsy in aganglionosis and allied conditions. **Hum. Pathol.**, v.14, p.991-995, 1983.
- 8 ATTÍE, T.; SALOMON, R.; AMIEL, J.; EDERY, P.; PELET, A.; NIHOUL FÉKÉTÉ, C.; MUNNICH, A.; LYONNET, S. Genetics of Hirschsprung's disease. **C. R. Seances Soc. Biol. Fil.**, v.190, p.549-556, 1996.
- 9 BARR, L. C.; BOOTH, J.; FILIPE, M. I.; LAWSON, J. O. N. Clinical evolution of the histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease. **Gut**, v.26, p.393-399, 1985.
- 10 BADNER, J. A.; SIEBER, W. K.; GARVER K. L., CHAKRAVARTI, A. A genetic study of Hirschsprung disease. **Am. J. Hum. Genet.**, v.46, p.568-580, 1990.
- 11 BALLARD, E. T. Ultrashort Hirschsprung's disease. A case report. **Pediatr. Pathol. Lab. Med.**, v.16, p.319-325, 1996.
- 12 BANANI, S. A.; FOROOTAN, H. R.; KUMAR, P. V. Intestinal neuronal dysplasia as a cause of surgical failure in Hirschsprung's disease: a new modality for surgical management. **J. Pediatr. Surg.**, v.31, p.572-574, 1996.
- 13 BAUMGARTEN, H. G. Über die verteilung von catecholaminen im dram des menschen. **Z. Zellforsch.**, v.83, p.133-146, 1967.

- 14 BENNETT, A.; GARRETT, J. R.; HOWARD, E. R. Adrenergic myenteric nerves in Hirschsprung's disease. **Brit. Med. J.**, v.1, p.487-489, 1968.
- 15 BERDON, L. C.; BOOTH, J.; FILIPE, M. I., LAWSON, J. O. N. Clinical evolution of the histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease. **Gut**, v.26, p.393-399, 1985.
- 16 BERDON, W. E.; BAKER, D. H. The roentgenographic diagnosis of Hirschsprung's disease in infancy. **Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.**, v.93, p.432-446, 1965.
- 17 BERMAN, C. Z. Roentgenographic manifestations of congenital megacolon (Hirschsprung's disease) in early infancy. **Pediatrics**, v.18, p.227-238, 1956.
- 18 BODIAN, M. Pathological aids in the diagnosis and management of Hirschsprung's disease. In: **Recent advances in clinical pathology**. DYKE, S. C. (Ed). London Churchill, 3rd series, p.384. London, 1960.
- 19 BODIAN, M.; CARTER, C. O. A family study of Hirschsprung's disease. **Ann. Hum. Genet.**, v.26, p.261-277, 1963.
- 20 BODIAN, M.; STEPHENS, F. D.; WARD, B. C. H. Hirschsprung's disease and idiopathic megacolon. **Lancet**, v.1, p.6-11, 1949.
- 21 BRITO, I. A.; MAKSOUD, J. G. Evolution with age of the acetylcholinesterase activity in rectal suction biopsy in Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.22, p.425-430, 1987.
- 22 BURNSTOCK, G. Purinergic nerves. **Pharmacol. Rev.**, v.24, p.509, 1972.
- 23 BYARD, R. W.; CARLI, M. Temporal stability of acethylcholinesterase staining in colonic and rectal neural tissue. **Pediatr. Surg. Int.**, v.13, p.29-31, 1998.
- 24 CAMPBELL, P. E.; NOBLETT, H. R. Experience with rectal suction biopsy in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **J. Ped. Surg.**, v.4, p.410-415, 1969.
- 25 CHALLA, V. R.; MORAN, J. R.; TURNER, C. S.; LYERLY, A. D. Histologic diagnosis of Hirschsprung's disease. A value of concurrent hematoxylin and eosin and cholinesterase staining of rectal biopsies. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.88, p.324-328, 1987.
- 26 CHOW, C. W.; CHAN, W. C.; YUE, P. C. K. Histochemical criteria for the diagnosis of Hirschsprung's disease in rectal suction biopsies by acetylcholinesterase activity. **J. Pediatr. Surg.**, v.12, p.675-680, 1977.
- 27 DAJANI, O. M.; SLIM, M. S.; MANSOUR, A. Acquired hypoganglionosis after Soave endorectal pull-through procedure. A case report. **Z. Kinderchir.**, v.41, p.248-249, 1986.

- 28 DE CHADARÉVIAN, J. P.; SLIM, M.; AKEL, S. Double zonal aganglionosis in long segment Hirschsprung's disease with a skip area in transverse colon. **J. Pediatr. Surg.**, v.17, p.195-197, 1982.
- 29 DE MINGO MISENA, L.; ALVAREZ BERNARDO DE QUIROS, M.; CORTES GOMEZ, V.; RODRIGUEZ TRONCOSO, V.; GARCIA MEDIERO, I.; COLOMAR, P.; OLLERO FRESNO, J. C.; ROLLAN VILLAMARIN, V. Diagnostico histopatologico de la enfermedad de Hirschsprung. Nuestra experiencia en dieciocho años. **Cir. Pediatr.**, v.4, p.181-184, 1991.
- 30 DIMMICK, J. E. Cytomegalic inclusion virus and pseudo-Hirschsprung's disease. **Lab. Invest.**, v.44, p.2P, 1981.
- 31 DOBBINS, W. O.; BILL, A. H. Diagnosis of Hirschsprung's disease excluded by rectal suction biopsy. **New Engl. J. Med.**, v.272, p.990-993, 1965.
- 32 DUHAMEL, B. Technique et indications de l'abaissement retrorectal et transanal en chirurgie colique. **Gaz. Med. Fr.**, v.70, p.599-608, 1963.
- 33 DUPONT, C.; NAVARRO, J.; CHEMET, B. et al. Modifications of VIP intestinal content associated with abnormal nervous myenteric plexus: A biologic feature of chronic intestinal obstruction. **J. Pediatr.**, v.6, p.1037-1039, 1980.
- 34 EARLAM, R. J. A vascular cause for aganglionic bowel. A new hypothesis. **Dig. Dis.**, v.17, p.255-261, 1972.
- 35 EARLAN, R. A vascular cause for Hirschsprung disease? **Gastroenterology** , v.88, p.1274-1276, 1985.
- 36 EHRENPREIS, T. Megacolon in the newborn. A clinical and roentgenological study with special regard to the pathogenesis. Stockholm, 1946, 131 p., Tese (Doutorado). **Acta Chir. Scand.**, v.94, s.112, 1946.
- 37 EHRENPREIS, T. Hirschsprung's disease. Year Book Medical Publishers (Ed.), Chicago, 1970.
- 38 ELEMA, J. D.; DE VRIES, J. A.; VOS, L. J. M. Intensity and proximal extension of acetylcholinesterase activity in the mucosa of the rectosigmoid in Hirschsprung's disease. **J. Ped. Surg.**, v.8, p.361-368, 1973.
- 39 ERDOHAZI, M. Retarded development of the enteric nerve cells. **Dev. Med. Child. Neurol.**, v.16, p.365-368, 1974.
- 40 EVANS, W. A.; WILLIS, R. Hirschsprung's disease – the roentgen diagnosis in infants. **Am. J. Roentgenol.**, v.78, p.1024-1048, 1957.
- 41 FADDA, B.; MAIER, W. A.; MEIER-RUGE, W.; SCHÄELI, A.; DAUM, R. Neuronale intestinale dysplasie. Eine kritische 10-jahres-analyse klinischer und bioptischer diagnostik. **Z. Kinderchir.**, v.38, p.305-311, 1983.

- 42 FADDA, B.; PISTOR, G.; MEIER-RUGE, W.; HOFFMANN-VON KAP-HERR, S.; MÜNTEFERING, H.; ESPINOZA, R. Symptoms, diagnosis and therapy of neuronal intestinal dysplasia masked by Hirschsprung's disease. **Pediatr. Surg. Int.**, v.2, p.76-80, 1987.
- 43 FERREIRA, C. T.; SCHOLL, J. G.; HARTMANN, A.; SILVEIRA, T. R. A biópsia de sucção retal e a técnica histoquímica da acetilcolinesterase no diagnóstico diferencial da constipação na infância. **Gastroenterol. Endosc. Dig.**, v.13, p.5-8, 1994.
- 44 FREEMAN, J. K. A new instrument for suction rectal biopsy in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **Pediatr. Surg. Int.**, v.12, p.76-77, 1997.
- 45 FREUND, H. R.; HUMPHREY, C. S.; FISCHER, J. E. Reduced tissue content of vasoactive intestinal peptide in aganglionic colon in Hirschsprung's disease. **Am. J. Surg.**, v.141, p.243-244, 1981.
- 46 GANNON, B. J.; NOBLETT, H. R.; BURNSTOCK, G. Adrenergic innervation of bowel in Hirschsprung's disease. **Brit. Med. J.**, v.2, p.338-340, 1969.
- 47 GARRETT, J. R.; HOWARD, E. R. Histochemistry and the pathology of Hirschsprung's disease. **Proc. Royal Micro. Soc.**, v.4, p.76-78, 1969.
- 48 GARRETT, J. R.; HOWARD, E. R.; NIXON, H. H. Autonomic nerves in rectum and colon in Hirschsprung's disease. A cholinesterase and catecholamine histochemical study. **Arch. Dis. Child.**, v.44, p.406-417, 1969a.
- 49 GARRETT, J. R.; HOWARD, E. R.; NIXON, H. H. Histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease. **Lancet**, v.2, p.436, 1969Ib.
- 50 GARRETT, J. R.; HOWARD, E. R.; NIXON, H. H. Bowel innervation in Hirschsprung's disease. **Brit. Med. J.**, p.718-719, 1969IIc.
- 51 GARRETT, J. R.; HOWARD, E. R. Myenteric plexus of the hind-gut: developmental abnormalities in humans and experimental studies. In: **Development of the Autonomic Nervous System**. Ciba Foundation Symposium, 83. Pitman, London, p.326-354, 1981.
- 52 GERSHON, M. D. Genes and lineages in the formation of the enteric nervous system. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v.7, p.101-109, 1997.
- 53 GERSHON, M. D. Lessons from genetically engineered animal models. II. Disorders of enteric neuronal development: insights from transgenic mice. **Am. J. Physiol.**, v.277, p.262-267, 1999.
- 54 GHERARDI, G. J. Pathology of the ganglionic-aganglionic junction in congenital megacolon. **Arch. Path.**, v.69, p.520-523, 1960.

- 55 GOTO, S.; IKEDA, K.; TOYSHARA, T. Histochemical confirmation of the acetylcholinesterase-activity in rectal suction biopsy from neonates with Hirschsprung's disease. **Z. Kinderchir.**, v.39, p.246-249, 1984.
- 56 GUGELMIN, E. S.; TORRES, L. F. B.; SABBAGA, C. C. Aplicação da biópsia de reto por sucção no diagnóstico da doença de Hirschsprung. **J. Pediatr.**, v.66, p.171-174, 1990.
- 57 HAGMANN, R.; KUFFER, F.; MOSER, R.; BETTEX, M. Zytomegalie bei megacolon. **Schweiz. Med. Wochenschr.**, v.99, p.17-20, 1969.
- 58 HALL, C. L.; LAMPERT, P. W. Immunohistochemistry as an aid in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.83, p.177-181, 1985.
- 59 HAMOUDI, A. B.; REINER, C. B.; BOLES, E. T.; McCLUNG, H. J.; KERZNER, B. Acetylcholinesterase staining activity of rectal mucosa. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.106, p.670-672, 1982.
- 60 HANIMANN, B.; INDERBITZIN, D.; BRINER, J.; SACHER, P. Clinical relevance of Hirschsprung-associated neuronal intestinal dysplasia. **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v.2, p.147-149, 1992.
- 61 HANKER, J. S.; SEAMAN, A. R.; WEISS, L. P.; UENO, H.; BERGMAN, R. A.; SELIGMAN, A. M. Osmiophilic reagents: new cytochemical principle for light and electron microscopy. **Science**, v.146, p.1039-1043, 1964.
- 62 HANKER, J. S.; ANDERSON, W. A.; BLOOM, F. E. Osmiophilic polymer generation: Catalysis by transition metal compounds in ultrastructural cytochemistry. **Science**, v.175, p.991-993, 1972.
- 63 HEITZ, P. U.; KOMMINOTH, P. Biopsy diagnosis of Hirschsprung's disease and related disorders. **Curr. Top.Pathol.**, v.81, p.257-275, 1990.
- 64 HERSHLAG, A.; ARIEL, I.; LERNAU, O. Z.; NISSAN,S.; ROSENMAN, E. Citomegalic inclusion virus and Hirschsprung's disease. Zytomegalievirus und morbus Hirschsprung. **Z. Kinderchir.**, v.39, p.253-254, 1984.
- 65 HIATT, R. B. A further description of the pathologic physiology of congenital megacolon and the results of surgical treatment. **Pediatrics**, v.21, p.825, 1958.
- 66 HIRSCHSPRUNG, H. Stuhlträgheit Neugeborener in Folge von Dilatation and Hypertrophie des Colons. **Jahrb. Kinderh.**, v.27, p.1, 1887.
- 67 HOLSCHNEIDER, A. M.; KRAEFT, H. Stellenwert und fehlermöglichkeiten der elektromanometrier des enddarmes. The value and reliability of anorectal electromanometry. **Z. Kinderchir.**, v.33, p.25-39, 1981.

- 68 HOLSCHNEIDER, A. M.; MEIER-RUGE, W.; URE, B. M. Hirschsprung's disease and allied disorders—a review. **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v.4, p.260-266, 1994.
- 69 HOPE, J. W.; BORNES, P. F.; BERG, P. K. Roentgenologic manifestations of Hirschsprung's disease in infancy. **Am. J. Roentgenol.**, v.95, p.217-229, 1965.
- 70 HOWARD, E. R.; GARRETT, J. R. Electron microscopy of myenteric nerves in Hirschsprung's disease and in normal bowel. **Gut**, v.11, p.1007-1014, 1970.
- 71 HOWARD, E. R. Histochemistry in the diagnosis and investigation of congenital aganglionosis (Hirschsprung's disease). **Am. J. Surg.**, v.39, p.602-607, 1973.
- 72 HUNTLEY, C. C.; SHAFFNER, L. S.; CHALLA, V. R.; LYERLY, A. D. Histochemical diagnosis of Hirschsprung disease. **Pediatrics**, v.69, p.755-761, 1982.
- 73 IKEDA, K.; GOTO, S. Diagnosis and treatment of Hirschsprung's disease in Japan. An analysis of 1628 patients. **Ann. Surg.**, v.199, p.400-405, 1984.
- 74 IKAWA, H.; KIM, S. H.; HENDREN, W. H.; DONAHOE, P. K. Acetylcholinesterase and manometry in the diagnosis of the constipated child. **Arch. Surg.**, v.121, p.435-438, 1986.
- 75 ITO, Y.; DONAHOE, P. K.; HENDREN, W. K. Maturation of the recto anal response in premature and perinatal infants. **J. Pediatr. Surg.**, v.12, p.477-482, 1977.
- 76 IWAI, N.; YANAGIARA, J.; DEGUCHI, K.; PERDZYNSKI, W.; TAKAHASHI, T. Reliability of anorectal manometry in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **Z. Kinderchir.**, v.43, p.405-407, 1987.
- 77 KAISER, G.; BETTEX, M. Clinical generalities. In: **Hirschsprung's disease**. HOLSCHNEIDER, A. M. (Ed.). Hippokrates, Stuttgart, chap.IV, p.43-53, 1982.
- 78 KAPUR, R. P. Contemporary approaches toward understanding the pathogenesis of Hirschsprung disease. **Pediatr. Pathol.**, v.13, p.83-100, 1993.
- 79 KAPUR, R. P. Hirschsprung disease and other enteric dysganglionoses. **Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.**, v.36, p.225-273, 1999.
- 80 KAPUR, R. P.; SA, D. J.; LUQUETTE, M.; JAFFE, R. Hypothesis: pathogenesis of skip areas in long-segment Hirschsprung's disease. **Pediatr. Pathol. Lab. Med.**, v.15, p.23-37, 1995.

- 81 KARNOVSKI, M. J.; ROOTS, L. A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterase. **J. Histochem. Cytochem.**, v.12, p.219-221, 1964.
- 82 KLEINHAUS, S.; BOLEY, S. J.; SHERAN, M.; SIEBER, W. Hirschsprung's disease. A survey of the members of the Surgical section of the American Academy of Pediatrics. **J. Pediatr. Surg.**, v.14, p.588-597, 1979.
- 83 KOBAYASHI, H.; HIRAKAWA, H.; SURANA, R.; OBRIAN, D. S.; PURI, P. Intestinal neuronal dysplasia is a possible cause of persistent bowel symptoms after pull-through operation for Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.30, p.253-259, 1995.
- 84 KOBAYASHI, H.; HIRAKAWA, H.; PURI, P. Is intestinal neuronal dysplasia a disorder of the neuromuscular junction? **J. Pediatr. Surg.**, v.31, p.575-579, 1996.
- 85 KOLETZKO, S.; JESCH, I.; FAUS KEBETALER, T.; BRINER, J.; MEIER-RUGE, W.; MÜNTEFERING, H.; COERDT, W.; WESSEL, L.; KELLER, K. M.; NÜTZENADEL, W.; SCHMITTENBECHER, P.; HOLSCHNEIDER, A.; SACHER, P. Rectal biopsy for diagnosis of intestinal neuronal dysplasia in children: a prospective multicentre study on interobserver variation and clinical outcome. **Gut**, v.44, p.853-861, 1999.
- 86 KURER, M. H. J.; LAWSON, J. O. N.; PAMBAKIAN, H. Suction biopsy in Hirschsprung's disease. **Arch. Dis. Child.**, v.61, p.83-84, 1986.
- 87 LAKE, B. D. Observations on the pathology of pseudo-obstruction. In: MILLA, P. J. (Ed.) **Disorders of gastrointestinal motility in childhood**. Wiley, Chichester, 1988.
- 88 LAKE, B. D. Hirschsprung's disease and pseudo-Hirschsprung's disease. In: WHITEHEAD, R. (Ed.) **Gastrointestinal and oesophageal pathology**. Churchill Livingstone, New York, p.257-268, 1989.
- 89 LAKE, B. D. The diagnosis of Hirschsprung's disease and pseudo-obstruction. In: **Histochemistry in Pathology**. FILIPE, M. I.; LAKE, B. D. (Ed.), Churchill Livingstone, New York, p.211-220, 1990.
- 90 LAKE, B. D.; MALONE, M.; RISDON, R. A. Acetylcholinesterase in the diagnosis of Hirschsprung's disease, including a comment on intestinal neuronal dysplasia. **Pediatric Pathology**, v.9, p.351-354, 1989.
- 91 LAKE, B. D.; PURI, P. NIXON, H. H.; CLAIREAUX, A. E. Hirschsprung's disease. An appraisal of histochemically demonstrated acetylcholinesterase activity in suction rectal biopsy specimens as an aid to diagnosis. **Arch. Path. Lab. Med.**, v.102, p.244-247, 1978.
- 92 LAKE, B. D.; RISDON, R. A.; MALONE, M. T. Letter to the editor. **Pediatr. Surg. Int.**, v.3, p.373-374, 1988.

- 93 LARSSON, L. T.; MALMFORS, G.; SUNDLER, F. Peptidergic innervation in Hirschsprung's disease. **Z. Kindechir.**, v.38, p.301-304, 1983.
- 94 LARSSON, L. T.; HELM, G.; MALMFORS, G. et al. Ontogeny of peptide-containing neurones in human gut – An immunocytochemical study. **Reg. Peptides**, v.17, p.243-256, 1987.
- 95 LARSSON, L. T.; MALMFORS, G.; SUNDLER, F. Defects in peptidergic innervations in Hirschsprung's disease. **Pediatr. Surg. Int.**, v.3, p.147-155, 1988.
- 96 LAWSON, J. O. N.; NIXON, H. H. Anal canal pressures in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.2, p.544-552, 1967.
- 97 LE DOUARIN, N. M.; TEILLET, M. A. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, v.30, p.31-48, 1973.
- 98 LISTER, J. Abnormal arteries in Hirschsprung's disease. **Arch. Dis. Child.**, v.41, p.149, 1966.
- 99 LISTER, J.; TAM, P. K. H. Hirschsprung's disease. In: LISTER, J.; IRVING, I.M. **Neonatal Surgery**. 3.ed. London, Butterworth, 1990.
- 100 LOENING-BAUCKE, V. A. Anorectal manometry: experience with strain gauge pressure transducers for the diagnosis of Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.18, p.595-600, 1983.
- 101 LOWSKY, R.; DAVIDSON, G.; WOLMAN, S.; JEEJEEBHOY, K. N.; HEGELE, R. A. Familial visceral myopathy associated with a mitochondrial myopathy. **Gut**, v.34, p.279-283, 1993.
- 102 LUGO VICENTE, H. L. Neuronal intestinal dysplasia: a role for surgery? **Bol. Asoc. Med. P. R.**, v.87, p.3-4, 60-63, 1995.
- 103 LUO, Y.; CECCHERINI, I.; PASINI, B.; MATERA, I.; BIOCCHI, M. P.; BARONE, V.; BOCCIARDI, R.; KÄÄRIÄINEN, H.; WEBER, D.; DEVOTO, M.; ROMEO, G. Close linkage with the RET protooncogene and boundaries of deletion mutations in autosomal dominant Hirschsprung disease. **Hum. Mol. Genet.**, v.2, p.1803-1808, 1993.
- 104 LYONNET, S.; BOLINO, A.; PELET, A.; ABEL, L.; NIHOUL-FEKETÉ, C.; BRIARD, M. L.; SIU, V. M.; KÄÄRIÄINEN, H.; MARTUCIELLO, G.; LERONE, M.; PULITI, A.; YIN, L.; WEISSENBACH, J.; DEVOTO, M.; MUNNICH, A.; ROMEO, G. A gene for Hirschsprung disease maps to the proximal long arm of chromosome 10. **Nat. Genet.**, v.4, p.346-350, 1993.
- 105 MACDONALD, R. G.; EVANS JR, W. A. Hirschsprung's disease – Roentgen diagnosis in infants. **Am. J. Dis. Child.**, v.87, p.575-585, 1954.

- 106 MAFFEI, H. V. L.; MOREIRA, F. L.; KISSIMOTO, M.; CHAVES, S. M. F.; EL FARO, S.; ALEIXO, A. M. História clínica e alimentar de crianças atendidas em ambulatório de gastroenterologia pediátrica (GEP) com constipação intestinal crônica funcional (CICF) e suas possíveis complicações. **J. Pediatr.**, v.70, p.280-286, 1994.
- 107 MARTUCCIELLO, G.; BIOCOCCHI, M. P.; DODERO, P.; LERONE, M.; CIRILLO, M. S.; PULITI, A.; GIMELLI, G.; ROMEO, G.; JASONNI, V. Total colonic aganglionosis associated with interstitial deletion of the long arm of chromosome 10. **Pediatr. Surg. Int.**, v.7, p.308-310, 1992.
- 108 MARTUCCIELLO, G.; CAFFARENA, P. E.; LERONE, M.; MATTIOLI, G.; BARABINO, A.; BISIO, G.; JASONNI, V. Neuronal intestinal dysplasia: clinical experience in Italian patients. **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v.4, p.287-292, 1994.
- 109 MCIVER, A. G.; WHITEHEAD, R. Zonal colonic aganglionosis: Variant of Hirschsprung's disease. **Arch. Dis. Childh.**, v.47, p.233-237, 1972.
- 110 MEIER-RUGE, W. Das Megacolon. Seine Diagnose und Pathophysiologie. **Virchows Arch.**, v.344, p.67-85, 1968.
- 111 MEIER-RUGE, W. Beitrag zur Pathologie des hypoganglionären Megacolon. **Verh. Dtsch. Ges. Path.**, v.53, p.237-239, 1969b.
- 112 MEIER-RUGE, W.; MORGER, R.; REHBEIN, F. Das hypoganglionäre Megacolon als Begleitkrankheit bei Morbus Hirschsprung. **Z. Kinderchir.**, v.8, p.254-264, 1970.
- 113 MEIER-RUGE, W. Über ein Erkrankungsbild des colon mit Hirschsprung-symptomat. **Verh. Dtsch. Ges. Pathol.**, v.55, p.506-510, 1971.
- 114 MEIER-RUGE, W.; LUTTERBECK, P. M.; HERZOG, B.; MORGER, R.; MOSER, R.; SCHÄRLI, A. Acetylcholinesterase activity in suction biopsies of the rectum in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **J. Ped. Surg.**, v.7, p.11-17, 1972.
- 115 MEIER-RUGE, W. Hirschsprung's disease: its aetiology, pathogenesis and differential diagnosis. In: **Current Topics in Pathology**, Springer, Berlin, v.59, p.131-179, 1974.
- 116 MEIER-RUGE, W. Epidemiology of congenital innervation defects of the distal colon. **Virchows Arch.**, v.420, p.171-177, 1992.
- 117 MEIER-RUGE, W.; GAMBAZZI, F.; KÄUFLER, R. E.; SCHMID, P.; SCHMIDT, C. P. The neuropathological diagnosis of neuronal intestinal dysplasia (NID B). **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v.4, p.267-273, 1994.

- 118 MEIER-RUGE, W. A.; BRÖNNIMANN P. B.; GAMBAZZI, F.; SCHMID, C. P.; STOSS, F. Histopathological criteria for intestinal neuronal dysplasia of the submucosal plexus (type B). **Virchows Arch.**, v.426, p.549-556, 1995.
- 119 MEIER-RUGE, W. A.; LONGO BAUER, C. H. Morphometric determination of the methodological criteria for the diagnosis of intestinal neuronal dysplasia (IND B). **Pathol. Res. Pract.**, v.193, p.465-469, 1997.
- 120 MILLA, P. J.; SMITH, V. V. Intestinal neuronal dysplasia. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.17, p.356-357, 1993.
- 121 MISHALANY, H.; SUZUKI, H.; YOKOYAMA, J. Report on the first international symposium of anorectal manometry. **J. Pediatr. Surg.**, v.24, p.356-359, 1989.
- 122 MUNAKATA, K.; MORITA, K.; OKABE, I.; SUEOKA, H. Clinical and histologic studies of neuronal intestinal dysplasia. **J. Pediatr. Surg.**, v.20, p.231-235, 1985.
- 123 MUNAKATA, K.; OKABE, I.; MORITA, K. Histologic studies of rectocolic aganglionosis and allied diseases. **J. Pediatr. Surg.**, v.13, p.67-75, 1978.
- 124 NATARAJAN, D.; GRIGORIOU, M.; MARCOS-GUTIERREZ, C. V.; ATKINS, C.; PACHNIS, V. Multipotential progenitors of the mammalian enteric nervous system capable of colonizing aganglionic bowel in organ culture. **Development**, v.126, p.157-168, 1999.
- 125 NAVARRO, J.; BOCCON-GIBOD, L.; SONSINO, E.; BOUREAU, M.; WEISGERBER, G.; GRUNER, M. et al. Désmembrement du cadre "pseudo-Hirschsprung". A propos de 8 observation pédiatrique. **Arch. Fr. Pédiatr.**, v.37, p.437-444, 1980.
- 126 NEZELOV, C.; CERF, N.; LEBORGNE, M. et al. Etude de l'activité acétylcholinestérasique dans les biopsies rectales obtenues par aspiration. Son utilité et sa valeur dans le diagnostic de la maladie de Hirschsprung. **Arch. Fr. Pédiatr.**, v.38, p.91-95, 1981.
- 127 NOBLETT, H. R. A rectal suction biopsy tube for use in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.4, p.406-409, 1969.
- 128 OKAMOTO, E.; UEDA, T. Embryogenesis of intramural ganglia of the gut and its relation to Hirschsprung's disease. **J. Pediatric. Surg.**, v.2, p.437-443, 1967.
- 129 OUE, T.; PURI, P. Altered endothelin-3 and endothelin-B receptor mRNA expression in Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.34, p.1257-1260, 1999.

- 130 NORBERG, K. A. Adrenergic innervation of the intestinal wall studied by fluorescence microscopy. **Int. J. Neuropharmacol.**, v.3, p.379-382, 1964.
- 131 NORBERG, K. A. Transmitter histochemistry of the sympathetic adrenergic nervous system. **Brain Res.**, v.5, p.125-170, 1967.
- 132 OMENN, G. S.; McKUSICK, V. A. The association of Waardenburg Syndrome and Hirschsprung megacolon. **Am. J. Med. Genet.**, v.3, p.217-223, 1979.
- 133 PARK, W. H.; CHOI, S. O.; KWON, K. Y.; CHANG, E. S. Acetylcholinesterase histochemistry of rectal suction biopsies in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **J. Korean Med. Sci.**, v.7, p.353-359, 1992.
- 134 PEASE, P. W. B.; CORKERY, J. J.; CAMERON, A. H. Diagnosis of Hirschsprung's disease by punch biopsy of rectum. **Arch. Dis. Childh.**, v.51, p.541-543, 1976.
- 135 PURI, P.; LAKE, B. D.; GORMAN, F.; O'DONNELL, B.; NIXON, H. H. Megacystis-microcolon-intestinal hypoperistalsis syndrome. A visceral myopathy. **J. Pediatr. Surg.**, v.18, p.64-69, 1983.
- 136 PURI, P.; LAKE, B. D.; NIXON, H. H.; MISHALANY, H.; CLAIREAUX, A. E. Neuronal colonic dysplasia: An unusual association of Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.12, p.681-685, 1977.
- 137 PURI, P. Variant Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.32, p.149-157, 1997.
- 138 PURI, P.; OHSHIRO, K.; WESTER, T. Hirschsprung's disease: a search for etiology. **Semin. Pediatr. Surg.**, v.7, p.140-147, 1998.
- 139 PURI, P.; WESTER, T. Intestinal neuronal dysplasia. **Semin. Pediatr. Surg.**, v.7, p.181-186, 1998.
- 140 QUALMAN, S. J.; MURRAY, R. Aganglionosis and related disorders. **Hum. Pathol.**, v.25, p.1141-1149, 1994.
- 141 REIFFERSCHIED, P.; FLACH, A. Neuronal dysplasia of the intestine. In: **Hirschsprung's disease** (ED) HOLSCHNEIDER, A. M. Stuttgart. Hippokrates, p.133-142, 1982.
- 142 REYNOLDS, J. F.; BARBER, J. C.; ALFORD, B. A.; CHANDLER, J. G.; KELLY, T. E. Familial Hirschsprung's disease and type D brachydactyly: a report of four affected males in two generations. **Pediatrics**, v.71, p.246-249, 1983.
- 143 ROBERTSON, H. E.; KERNOHAN, J. W. The myenteric plexus in congenital megacolon. **Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.**, v.13, p.123-125, 1938.

- 144 ROBEY, S.S.; KUHAJDA, F. P.; YARDLEY, J. H. Immunoperoxidase stains of ganglion cells and abnormal mucosal nerve proliferations in Hirschsprung's disease. **Hum. Pathol.**, v.19, p.432-437, 1988.
- 145 ROMEO, G.; RONCHETTO, P.; LUO, Y.; et al. Point mutations affecting the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in Hirschsprung disease. **Nature**, v.367, p.377-378, 1994.
- 146 ROSENFELD, N. S.; ABLOW, R. C.; MARKOWITZ, R. I.; DIPIETRO, M.; SEASHORE, J. H.; TOULOUKIAN, R. J.; CICCHETTI, D. V. Hirschsprung's disease: accuracy of the barium enema examination. **Radiology**, v.150, p.393-400, 1984.
- 147 SACHER, P.; BRINER, J.; STAUFFER, U. G. Unusual cases of neuronal intestinal dysplasia. **Pediatr. Surg. Int.**, v.6, p.225-226, 1991.
- 148 SACHER, P.; BRINER, J.; HANIMANN, B. Is neuronal intestinal dysplasia a primary disease or a secondary phenomenon? **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v.3, p.228-230, 1993.
- 149 SALOMON, R.; AMIEL, J.; ATTIE, T.; PELET, A.; MUNNICH, A.; LYONNET, S. From monogenic to polygenic: model of Hirschsprung disease. **Pathol. Biol. (Paris)**, v.46, p.705-707, 1998.
- 150 SCHÄRLI, A. F.; MEIER-RUGE, W. Localized and disseminated forms of neuronal intestinal dysplasia mimicking Hirschsprung's disease. **J. Pediatr. Surg.**, v.16, p.164-170, 1981.
- 151 SCHARLI, A. F. Neuronal intestinal dysplasia. **J. Pediatr. Int.**, v.7, p.2-7, 1992.
- 152 SCHILLER, M.; LEVY, P.; SHAWA, R. A.; ABU-DALU, K.; GORENSTEIN, A.; KATZ, S. Familial Hirschsprung's disease. A report of 22 affected siblings in four families. **J. Pediatr. Surg.**, v.25, p.322-325, 1990.
- 153 SCHMITTENBECHER, P. P.; SCHMIDT, A.; MEIER-RUGE, W.; WIEBECKE, B. Rectal suction biopsy: can it be sufficient to diagnose neuronal intestinal dysplasia? **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v.5, p.299-279, 1995.
- 154 SCHOFIELD, G. C. Experimental studies on the innervation of the mucous membranes of the gut. **Brain**, v.83, p.490-514, 1960.
- 155 SCHOFIELD, D. E.; YUNIS, E. J. Intestinal neuronal dysplasia. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.12, p.182-189, 1991.
- 156 SCHOFIELD, D. E.; YUNIS, E. J. What is intestinal neuronal dysplasia? **Pathol. Ann.**, v.1, p.249-262, 1992.

- 157 SIEBER, W. K. Hirschsprung's disease. In: WELCH, K. J.; RANDOLPH, J. G.; RAVITCH, M. M.; O'NEILL JUNIOR, J. A.; ROWE, M. I. **Pediatric Surgery**. 4. Ed. Chicago: Year Book, 1986, p.995-1020.
- 158 SIJMONS, R. H.; HOFSTRA, R. M.; WIJBURG, F. A.; LINKS, T. P.; ZWIERSTRA, R. P.; VERMEY, A.; ARONSON, D. C.; TAN SINDHUNATA, G.; BROUWERS SMALBRAAK, G. J.; MAAS, S. M.; BUYS, C. H. Oncological implications of RET gene mutations in Hirschsprung's disease. **Gut**, v.43, p.542-547, 1998.
- 159 SMITH, B. Pre- and postnatal development of the ganglion cells of the rectum and its surgical implications. **J. Pediatr. Surg.**, v.3, p.386-391, 1968.
- 160 SMITH, B. The neuropathology of pseudo-obstruction of the intestine. **Scand. J. Gastroenterol.** (Suppl.), v.71, p.103-109, 1982.
- 161 STAIANO, A.; SANTORO, L.; DE MARCO, R.; MIELE, E.; FIORILLO, F.; AURICCHIO, A.; CARPENTIERI, M. L.; CELLI, J.; AURICCHIO, S. Autonomic dysfunction in children with Hirschsprung's disease. **Dig. Dis. Sci.**, v.44, p.960-965, 1999.
- 162 STANNARD, V. A.; FOWLER, C.; ROBINSON, L.; BESNER, G.; GLICK, P. L.; ALLEN, J. E.; JEWETT, T. C.; COONEY, D. R. Familial Hirschsprung's disease: report of autosomal dominant and probable recessive X-linked kindreds. **J. Pediatr. Surg.**, v.26, p.591-594, 1991.
- 163 SULLIVAN, P. B. Hirschsprung's disease. **Arch. Dis. Child.**, v.74, p.22-26, 1996.
- 164 SVENSSON, P. J.; VON TELL, D.; MOLANDER, M. L.; ANVRET, M.; NORDENSKJÖLD, A. A heterozygous frameshift mutation in the endothelin-3 (EDN-3) gene in isolated Hirschsprung's disease. **Pediatr. Res.**, v.45, p.714-717, 1999.
- 165 SWENSON, O.; NEUHAUSER, E. B. D.; PICKETT, L. K. New concept of the etiology, diagnosis and treatment of congenital megacolon (Hirschsprung's disease). **Pediatrics**, v.4, p.201-209, 1949.
- 166 SWENSON, O.; FISHER, J. H.; MacMAHON, H. E. Rectal biopsy as an aid in the diagnosis of Hirschsprung's disease. **N. Engl. J. Med.**, v.253, p.632-635, 1959.
- 167 SWENSON, O.; SHERMAN, J. O.; FISHER, J. H. Diagnosis of congenital megacolon: an analysis of 501 patients. **J. Pediatr. Surg.**, v.8, p.587-594, 1973.
- 168 SZABOLES, M. J.; VISSER, J.; SHELANSKI, M. L.; O'TOOLE, K. Peripherin: A novel marker for the immunohistochemical study of malformations of the enteric nervous system. **Pediatr. Pathol. Lab. Med.**, v.16, p.51-70, 1996.

- 169 TAGUCHI, T.; TANAKA, K.; IKEDA, K. Fibromuscular dysplasia of arteries in Hirschsprung's disease. **Gastroenterology**, v.88, p.1099-1103, 1985.
- 170 TAGUCHI, T.; SUITA, S.; HIRATA, Y.; HIROSE, R.; YAMADA, T.; TOYOHORA, T. Abnormally shaped arteries in the intestine of children with Hirschsprung's disease. Etiologic considerations relating to ischemic theory. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.18, p.200-204, 1994.
- 171 TAKAHASHI, M.; IWASHITA, T.; SANTORO, M.; LYONNET, S.; LENOIR, G. M.; BILLAUD, M. Co-segregation of MEN2 and Hirschsprung's disease: the same mutation of RET with both gain and loss-of-function? **Hum. Mutat.**, v.13, p.331-336, 1999.
- 172 TAKEGAWA, B. K. **Moléstia de Hirschsprung**. Análise de Correlação entre a Atividade da Acetilcolinesterase, Eletromanometria Anorretal e Exame Radiológico. Botucatu, 1997. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista, UNESP.
- 173 TAM, P. K. H. An immunochemical study with neuron-specific-enolase and substance P of human enteric innervation. The normal development pattern and abnormal deviations in Hirschsprung's disease and piloric stenosis. **J. Pediatr. Surg.**, v.21, p.227-232, 1986.
- 174 TAM, P.; QUNIT, W.; VAN VELZEN, D. Hirschsprung's disease: A viral etiology? **Pediatr. Pathol.**, v.12, p.807-810, 1992.
- 175 TAXMAN, T. L.; YULISH, B. S.; ROTHSTEIN, F. C. How useful is the barium enema in the diagnosis of infantile Hirschsprung's disease? **Am. J. Dis. Child.**, v.140, p.881-884, 1986.
- 176 TEITELBAUM, D. H.; QUALMAN, S. J.; CANIANO, D. A. Hirschsprung's disease, identification of risk factors for enterocolitis. **Ann. Surg.**, v.207, p.240-244, 1988.
- 177 TEITELBAUM, D. H.; CANIANO, D. A.; QUALMAN, S. J. The pathophysiology of Hirschsprung's associated enterocolitis: Importance of histologic correlates. **J. Pediatr. Surg.**, v.24, p.1271-1277, 1989.
- 178 TEITELBAUM, D. H. Hirschsprung's disease in children. **Curr. Opin. Pediatr.**, v.7, p.316-322, 1995.
- 179 TIFFIN, M. E.; CHANDLER, L. R.; FABER, H. K. Localized absence of the ganglion cells of the myenteric plexus in congenital megacolon. **Am. J. Dis. Child.**, v.59, p.1071-1082, 1940.
- 180 VENUGOPAI, S.; MANCER, K.; SHANDLING, B. The validity of rectal biopsy in relation to morphology and distribution of ganglion cells. **J. Ped. Surg.**, v.16, p.433-437, 1981.

- 181 WAKELY, P. E., McADAMS, A. J. Acetylcholinesterase histochemistry and the diagnosis of Hirschsprung's disease. A 3 ½ year experience. **Pediatric Pathology**, v.2, p.35-46, 1984.
- 182 WALKER, A. W.; KEMPSON, R. L.; TERNBERG, J. L. Aganglionosis of the small intestine. **Surgery**, v.60, p.449-457, 1966.
- 183 WARTIOVAARA, K.; SALO, M.; SARIOLA, H. Hirschsprung's disease genes and the development of the enteric nervous system. **Ann. Med.**, v.30, p.66-74, 1998.
- 184 WEHRLE HALLER, B.; WESTON, J. A. Receptor tyrosine kinase-dependent neural crest migration in response to differentially localized growth factors. **Bioessays**, v.19, p.337-345, 1997.
- 185 WEINTRAUB, W. H.; HEIDELBERGER, K. P.; CORAN, A. G. A simplified approach to diagnostic rectal biopsy in infants and children. **Am. J. Surg.**, v.134, p.307, 1970.
- 186 WHITEHEAD, R. Mucosal Biopsy of the Gastrointestinal Tract. 5th Ed., v.3, W. B. Saunders Company, 1977.
- 187 WHITEHOUSE, F. R.; KERNOHAN, J. W. Myenteric plexus in congenital megacolon. Study of eleven cases. **Arch. Intern. Med.**, v.82, p.75-110, 1948.
- 188 WU, J. J.; CHEN, J. X.; ROTHMAN, T. P.; GERSHON, M. D. Inhibition of in vitro enteric neuronal development by endothelin-3: mediation by endothelin B receptors. **Development**, v.126, p.1161-1173, 1999.
- 189 YAMATAKA, A.; MIYANO, T.; URAO, M.; NISHIYE, H. Hirschsprung disease: Diagnosis using monoclonal antibody 171 B5. **J. Pediatr. Surg.**, v.27, p.820-822, 1992.
- 190 YUNIS, E.; SIEBER, W. K. AKERS, D. R. Does zonal aganglionosis really exist? Report of a rare variety of Hirschsprung's disease and a review of the literature. **Ped. Path.**, v.1, p.33-49, 1983.
- 191 YUNIS, E. J.; DIBBINS, E. W., SHERMAN, F. E. Rectal suction biopsy in the diagnosis of Hirschsprung disease in infants. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.100, p.329-333, 1976.
- 192 ZIEGLER, H. W.; HEITZ, P.U.; KASPER, M.; et al. Aganglionosis of the colon. Morphologic investigations in 524 patients. **Pathol. Res. Pract.**, v.178, p.543-547, 1984.
- 193 ZUELZER, W. W.; WILSON, J. L. Functional intestinal obstruction on a congenital neurogenic basis in infancy. **Am. J. Dis. Child.**, v.75, p.40-64, 1948.