



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Anderson Cesar Gonçalves

**Investigação da relação entre os achados clínicos
e histopatológicos em pacientes com Displasia
Neuronal Intestinal tipo B**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Cirurgia e Medicina Translacional.

Orientador: Prof. Ass. Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção

**Botucatu
2022**

Anderson Cesar Gonçalves

Investigação da relação entre achados clínicos e
histopatológicos em pacientes com Displasia Neuronal
Intestinal tipo B

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em Cirurgia e
Medicina Translacional.

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Gonçalves, Anderson Cesar.

Investigação da relação entre achados clínicos e histopatológicos em pacientes com Displasia Neuronal Intestinal tipo B / Anderson Cesar Gonçalves. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção

Capes: 40102009

1. Doença de Hirschsprung. 2. Doenças neuromusculares intestinais. 3. Constipação intestinal. 4. Reto - Biópsia. 5. Histopatologia.

Palavras-chave: Diferença clínica; Displasia Neuronal Intestinal Tipo B; Doença de Hirschsprung; Histopatológicos.

Dedicatórias

Dedicatórias

À minha esposa

Juliana Vaz Ferreira Gonçalves, pelo amor, carinho e compreensão; e principalmente pelo apoio incondicional, me amparando e incentivando em todos os momentos.

Aos meus pais

José Maria Gonçalves Filho e Maria Luiza Dionísio Gonçalves, que com seus exemplos, construíram dentro de mim, o alicerce mais importante para esta jornada, me ensinando os verdadeiros valores da vida.

Aos meus filhos

Rafael Vaz Gonçalves e Carolina Vaz Gonçalves, como fonte inesgotável de alegria, esperança e renovação.

Agradecimentos

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Dr. Pedro Luiz Arruda de Toledo Lourenção, pelo profissionalismo e dedicação que tem com o ensino e a pesquisa, e também pela orientação, amizade e companheirismo durante a realização deste trabalho.

À Assistente Administrativa da Pós Graduação, Marcia Fonseca Piagentini Cruz, pelo acolhimento, prestatividade e ajuda durante estes anos.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Corrente pela grande contribuição e ajuda na análise dos dados estatísticos.

À Prof. Titular Maria Aparecida Marchesan Rodrigues e à Dra. Simone Antunes Terra pela análise histopatológica dos pacientes incluídos no estudo.

Às ex-alunas Isabelle Stefan de Faria Oliveira, Bruna Camargo de Oliveira e Eloá Scalfi Caproni, pela colaboração e ajuda na coleta de dados edesenvolvimento do trabalho.

À aluna Gabrielly Rivera, pela colaboração e ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À todos os professores que conheci e tive a oportunidade de conviver durante este período, por me apresentarem as mais diferentes formas detransmitirem o conhecimento.

Ao amigo Dr. Luís Augusto Antunes Glover, pelo profissionalismo e parceria, assistindo e ajudando os meus pacientes, nos meus momentos de ausência.

À Faculdade Medicina de Botucatu, por me receber e permitir que eu fizesse parte dos seus alunos, onde espero ter feito a minha parte, contribuindo para manter seu nome de excelência.

À UNIMED Votuporanga, Hospital UNIMED de Votuporanga e à Santa Casa de Votuporanga, onde passo a maior parte dos meus dias, praticando todo o conhecimento que obtive até aqui, na tentativa de proporcionar às pessoas e aos meus pacientes um atendimento digno e humanizado, buscando cada dia me tornar um profissional melhor.

Ao Centro Universitário de Votuporanga – UNIFEV, que me acolheu como membro do seu Corpo Docente, permitindo a troca de conhecimento entre colegas, professores e alunos do Curso de Medicina, participando, desta forma, na construção de uma sociedade melhor.

Vale ressaltar, que se encerra um período de muita disciplina e determinação, onde pessoas estiveram presentes, contribuindo das mais diferentes formas, para que este objetivo fosse alcançado. Agradeço a cada uma delas, na certeza de que sem elas, isto não seria possível.

Epígrafe

Epígrafe

“O sucesso é a soma de pequenos esforços, repetidos dia após dia”

Robert Collie

Sumário

CAPÍTULO I - Introdução

Introdução.....	14
Referências Bibliográficas	19

CAPÍTULO II – “Investigação da relação entre achados clínicos e histopatológicos em pacientes com Displasia Neuronal Intestinal Tipo B”

Resumo.....	25
Abstract.....	27
1. Introdução.....	29
2. Pacientes e Métodos	31
3. Resultados.....	37
4. Discussão.....	48
5. Conclusões.....	51
6. Referências Bibliográficas.....	52
7. Anexos.....	57

**CAPÍTULO III – “Doença de Hirschsprung x Displasia Neuronal Intestinal Tipo B:
existe diferença na apresentação clínica destas duas patologias?”**

Resumo.....	69
Abstract.....	70
1. Introdução.....	71
2. Pacientes e Métodos	72
3. Resultados.....	74
4. Discussão.....	78
5. Referências Bibliográficas.....	82
6. Anexos.....	86

Capítulo I

Introdução

Introdução

Disganglionoses Intestinais

As disganglionoses intestinais compõem um grupo bastante heterogêneo de malformações do sistema nervoso entérico que podem afetar crianças e adultos, causando prejuízo da atividade motora intestinal, com trânsito colônico anormal e subsequente dilatação visceral. Este grupo de doenças, habitualmente, apresenta características clínicas semelhantes, com constipação intestinal grave, e são diferenciadas por alterações histológicas particulares nos plexos nervosos do sistema nervoso entérico.¹⁻³

Estas neuropatias entéricas podem ser congênicas ou adquiridas e estão relacionadas a um amplo espectro de alterações, que compreendem desde alterações na composição celular até a potencial ausência completa do plexo em segmentos do intestino.^{4,5} Scharli et al. (1992) propuseram uma classificação histopatológica que define as diferentes classes de disganglionoses intestinais: agenéticas (ausência de neurônios nos plexos), caracterizada pelas diferentes formas da Doença de Hirschsprung (DH); hipogenéticas (número diminuído de neurônios nos plexos), representada pela hipoganglionose e disgenética (alterações na morfologia dos neurônios nos plexos), representada pela Displasia Neuronal Intestinal.⁵

Apesar da existência dessas outras entidades, a avaliação histopatológica das biópsias retais confirmam o diagnóstico de DH em mais de 90% dos casos, forma mais comum e mais conhecida dentre as disganglionoses intestinais.⁶

Doença de Hirschsprung

A doença de Hirschsprung (DH) é uma malformação congênita do sistema nervoso entérico caracterizada pela ausência de células ganglionares nos plexos submucosos e mioentéricos, resultando em um segmento aperistáltico e espástico do cólon. Em razão dessa condição, as regiões proximais ao segmento acometido sofrem dilatação, podendo atingir grandes diâmetros, com formação de megacólon^{7,8}. Esta malformação tem origem embriológica a partir da crista neural, com a interrupção da migração e do povoamento craniocaudal de neurônios nos plexos em questão, levando a extensões variáveis de aganglionose intestinal⁹.

A DH se manifesta clinicamente com obstrução intestinal no período neonatal ou constipação intestinal grave na infância^{7,8}. Durante o período neonatal, pode incluir atraso na eliminação de mecônio por mais de 48 horas, além de sinais e sintomas de obstrução intestinal, como distensão abdominal e vômitos com conteúdo biliar¹⁰. Em crianças mais velhas, comumente evolui com constipação grave, refratária aos tratamentos convencionais e dependente de lavagens intestinais para evacuação^{7,8}. As taxas de complicações são elevadas, sendo a enterocolite associada à DH a mais comum e mais grave, que pode acometer até 50% dos pacientes no período pré-operatório¹¹.

A investigação diagnóstica é composta pela manometria anorretal, enema opaco e biópsia de reto. A manometria anorretal e o enema opaco são considerados exames de triagem diagnóstica. O enema opaco é o exame mais antigo e que ainda é bastante utilizado na prática clínica por ser amplamente disponível, de baixo custo, pouco invasivo, bem tolerado e útil como ferramenta de triagem diagnóstica e para o planejamento cirúrgico.^{13,14} Ele permite identificar a zona de transição de aspecto cônico, entre a região espástica aganglionar e a região dilatada normoganglionar e estimar a extensão da zona aganglionar, auxiliando no planejamento cirúrgico. A sensibilidade do enema opaco é próxima de 70% e sua especificidade de 85%^{14,15}. A manometria anorretal, por sua vez, é um exame menos disponível, mais caro, examinador-dependente e também útil para a triagem diagnóstica. Este exame pode identificar a ausência de reflexo inibitório reto-anal em pacientes com DH, que é dependente da presença de células ganglionares nos plexos nervosos. A sensibilidade da manometria anorretal é próxima de 90% e sua especificidade de 95%^{14,15}. Assim, o diagnóstico de DH só pode ser estabelecido a partir da análise histopatológica das biópsias de reto, pela comprovação da ausência de células ganglionares nos plexos nervosos do intestino distal. A sensibilidade deste exame, considerado como padrão-ouro para o diagnóstico de DH, é próxima de 95% e sua especificidade de 99%^{14,15}.

O tratamento da DH é cirúrgico, sendo necessária a estabilização prévia na grande maioria dos pacientes. Houve evolução das técnicas cirúrgicas para essa patologia, permitindo a realização de procedimentos em um tempo único. Esse fato diminuiu a morbidade relacionada à colostomia nas crianças e os custos do tratamento estagiado^{7,11}. No momento atual, a colostomia primária é indicada apenas na presença de enterocolite grave, perfuração intestinal, desnutrição grave ou grande dilatação do cólon proximal⁷.

As técnicas cirúrgicas possuem princípios centrais a serem seguidos: remoção do segmento aganglionar e a reconstrução do trânsito intestinal, trazendo o segmento ganglionar até o ânus com preservação esfinteriana^{7,16}. Para sucesso desse procedimento, torna-se

necessária a realização de biópsias seriadas no intra-operatório, processadas por congelação, que devem comprovar a presença de células ganglionares no segmento colônico abaixado¹⁷. Há uma série de técnicas cirúrgicas propostas para realização dessa intervenção, como a de Swenson & Bill (1948)¹², que consiste na inversão e exteriorização do reto com posterior abaixamento do cólon através desse reto invertido, ressecção do segmento aganglionar e anastomose colo-retal término-terminal. Entretanto, o uso desta técnica é limitado pelas dificuldades para realização da dissecação pélvica, com potenciais danos à inervação urogenital^{8,12,18}. Há a técnica proposta por Duhamel (1956)¹⁹, que consiste no abaixamento do cólon através do espaço retro-retal, sem dissecação das paredes anterior e laterais do reto^{19,20}. Esta técnica permanece, ainda hoje, como uma das técnicas mais utilizadas para tratamento da DH^{21,22}. Há, também, a técnica proposta por Soave (1964)²³ e modificada por Boley (1964)²⁴, que consiste na realização de mucosectomia do reto com preservação do manguito muscular por via abdominal, seguida de abaixamento do cólon com anastomose primária do segmento ganglionar logo acima da linha pectínea²⁵. Em 1998, esta técnica foi adaptada para realização de abaixamento primário do cólon via endorretal, fato que permitiu resultados adequados, de forma minimamente invasiva, com menor tempo de recuperação pós-operatória e melhores resultados estéticos²⁶⁻²⁸. Uma proposta mais recente é a da realização do abaixamento endorretaltransanal baseado na técnica de Swenson, com dissecação da parede total do reto, desde 2 cm acima da linha pectínea, sem mucosectomia do reto e sem manutenção de um cuff muscular^{29,30}. Estas duas técnicas exclusivamente endoanais tem ganhado destaque e passaram a ser as mais realizadas no mundo todo por trazerem como vantagem o fato de não ser necessária abordagem por laparoscopia ou por laparotomia, o que consequentemente, reduz o risco de aderências intraperitoneais, oferece melhores resultados cosméticos, com menor tempo de recuperação pós-operatória e menor tempo de internação hospitalar^{30,31}.

Displasia Neuronal Intestinal

A Displasia Neuronal Intestinal (DNI) é uma doença neuromuscular gastrointestinal, com complexas alterações do sistema nervoso entérico³². Clinicamente, se assemelha muito à DH, porém apresenta características histopatológicas distintas, como hiperplasia dos plexos nervosos, com aumento do número de células ganglionares e da atividade da enzima acetilcolinesterase nas fibras nervosas parassimpáticas da lâmina própria da mucosa³³. A DNI

pode ser classificada em tipo A, que é rara, com sintomas que variam desde obstrução intestinal aguda até sangramento digestivo baixo³⁴, ou em tipo B (DNI-B), que possui frequência acima de 95% dos casos e é caracterizada por constipação intestinal grave na infância, refratária ao tratamento clínico, acompanhada ou não por incontinência fecal retentiva, sangramento digestivo baixo, obstrução intestinal aguda ou episódios de enterocolite³²⁻³⁶. Essa última modalidade é considerada sinônimo de DNI por muitos autores¹⁷.

Mais de 50 anos após sua descrição original³⁷, a DNI-B permanece como entidade de patogenia ainda não completamente esclarecida. Apesar de intensa investigação científica realizada e de mais de 250 artigos científicos publicados, ainda restam lacunas no que diz respeito a sua definição, etiopatogenia, critérios diagnósticos e possibilidades terapêuticas.^{17,34,37}

Comumente, a DNI-B encontra-se associada a quadro clínico de constipação intestinal, acometendo crianças nos primeiros anos de vida, de forma similar à DH³⁶. Desta forma, os mesmos testes de triagem utilizados para a DH são habitualmente realizados em pacientes com DNI-B, mas apresentam menor capacidade diagnóstica^{38,39}. A manometria anorretal pode apresentar reflexo esfinteriano presente, ausente ou com morfologia atípica⁴⁰. O enema opaco também não demonstra nenhum sinal específico para DNI-B. Habitualmente, há dilatação do reto e sigmoide que são sinais típicos de pacientes que possuem constipação intestinal⁴¹. Assim, o diagnóstico da DNI-B é estabelecido exclusivamente pela análise histopatológica de biópsias do reto, com presença de hiperplasia dos plexos nervosos da submucosa e com aumento no número de neurônios.

Em 1990, uma reunião de consenso foi realizada^{32-34,36} em Frankfurt, na Alemanha, com o objetivo de definir os critérios morfológicos necessários para o diagnóstico da DNI-B³³. Desde então, estes critérios vêm sendo amplamente utilizados, tanto na prática clínica, como em estudos de seguimento e investigações genéticas.⁴²⁻⁴⁵ Por outro lado, novos critérios foram propostos, ainda na década de 90, dando maior importância à necessidade de identificação de gânglios gigantes na submucosa, com número elevado de neurônios, para o diagnóstico de DNI-B³⁵. Diante desta falta de padronização diagnóstica, Meier- Ruge et al. (2004)⁴⁶ propuseram um critério quantitativo para o diagnóstico histopatológico da DNI- B. A DNI-B passou a ser definida pela presença de ao menos 20% de gânglios nervosos gigantes na submucosa, com mais do que 8 células ganglionares cada um, em um mínimo de 25 gânglios submucosos que devem ser analisados. A necessidade de material a fresco para os cortes de congelação e as colorações histoquímicas específicas, com disponibilidade restrita a alguns centros, são limitações relevantes para a utilização destes critérios na prática clínica.

Além disso, não existe certeza de que estes mesmos critérios numéricos utilizados nesta análise possam ser aplicados em cortes histológicos de 5µm de espessura, incluídos em parafina, para histologia padrão pela hematoxilina e eosina ou para análises imunohistoquímicas.^{35,45,46}

Todas estas mudanças nos critérios histopatológicos para o diagnóstico da DNI-B, publicadas nas últimas cinco décadas, causaram não só grande divergência nas definições, mas também certo ceticismo sobre a existência desta entidade patológica. O principal problema, que permanece sem resposta, e vem sendo debatido nas publicações mais recentes, é se há ou não relação causal entre estes achados histopatológicos e os sintomas clínicos, o que justificaria a caracterização da DNI-B como uma doença específica. Neste cenário, as opiniões atuais convergem para a necessidade de novas pesquisas que elucidem as inúmeras incertezas sobre o diagnóstico e caracterização clínica e morfológica da DNI-B.^{35,44,45,47,48}

Diferentemente da DH, o tratamento da DNI-B é inicialmente clínico e conservador, embasado em modificações dietéticas, medicações laxativas e lavagens intestinais, semelhante ao tratamento padrão proposto para crianças com constipação intestinal^{47,48}. As recomendações atuais, reservam o tratamento cirúrgico para casos de complicações, como obstruções intestinais agudas, e em casos refratários ao tratamento clínico. As técnicas cirúrgicas empregadas incluem a realização de derivações intestinais ou de ressecções colorretais amplas pelas mesmas técnicas utilizadas para o tratamento da DH^{47,48}.

Referências bibliográficas

1. Kapur RP. Hirschsprung disease and other enteric dysganglionoses. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1999;36:225-73.
2. Montedonico S, Cáceres P, Muñoz N, Yáñez H, Ramírez R, Fadda B. Histochemical staining for intestinal dysganglionosis: over 30 years experience with more than 1,500 biopsies. *Pediatr Surg Int.* 2011;27:479-86.
3. Westfal ML, Goldstein AM. Pediatric enteric neuropathies: diagnosis and current management. *Curr Opin Pediatr.* 2017;29:347-53
4. Matias ALR. Interpretação clínica da histopatologia nas neuropatias congénitas intestinais [dissertação]. Porto: Universidade do Porto; 2011.
5. Schärli AF. Intestinal neuronal dysplasia. *Cir Pediatr.* 1992;5:64-65.
6. Moore SW. Advances in understanding functional variations in the Hirschsprung diseasespectrum (variant Hirschsprung disease). *Pediatr Surg Int.* 2017;33:285-98.
7. Dasgupta R, Langer JC. Hirschsprung disease. *Curr Probl Surg.* 2004; 41(12):942-88.
8. Maksoud JG. Moléstia de Hirhsprung. In Maksoud JG. *Cirurgia Pediátrica 2ª edição.* Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p. 806-825.
9. Ramanath N. Haricharan; MBBS; MPH; Keith E. Georgeson. Hirschsprung disease. *Seminars in Pediatric Surgery* (2008) 17, 266-275.
10. Alehossein, M.; Roohi, A.; Pourgholami, M.; Mollaeian, M; Salamati, P. Diagnostic Accuracy of Radiologic Scoring System for Evaluation of Suspicious Hirschsprung Disease in Children. *Iran J Radiol.* 2015 April; 12(2): e12451.
11. Green HL, Rizzolo D, Austin M. Surgical Management for Hirschsprung disease: A review for primary care providers. *JAAPA.* 2016; 29(4):24-9.
12. Swenson O, Bill AH. Resection of rectum and rectosigmoid with preservation of sphincter for benign spastic lesions producing megacolon. *Surgery.* 1948;24(2):212-20
13. Lourenção, PLTDA., Valerini, FG, Cataneo, AJM., Ortolan, EVP, Silveira, G. L. D., Piva, M. F. L., ... & Rodrigues, M. A. M. (2019). Barium Enema Revisited in the Workup for the Diagnosis of Hirschsprung's Disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 68(4), e62-e66.
14. Takawira C, D'Agostini S, Shenouda S, Persad R, Sergi C. Laboratory Procedures update on Hirschsprung disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 60(5):598-605.
15. De Lorijn F, Kremer LC, Reitsma JB, Benninga MA. Diagnostic tests in Hirschsprung disease: a systematic review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;42:496-505.

16. Tjaden NEB, Trainor PA. The developmental etiology and pathogenesis of Hirschsprung disease. *Transl Res.* 2013; 162(1):1-15.
17. Schäppi MG, Staiano A, Milla PJ, Smith VV, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, Mearin ML, Papadopoulou A, Ruemmele FM, Vandenplas Y, Koletzko S. A practical guide for the diagnosis of primary enteric nervous system disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 57(5):677-86.
18. Sherman JO, Snyder ME, Weitzman JJ, Jona JZ, Gillis DA, O'Donnell B, Carcassonne M, Swenson O. A 40-year multinational retrospective study of 880 Swenson procedures. *J Pediatr Surg.* 1989; 24(8):833-8.
19. Duhamel, B. Une nouvelle opération pour le megacôlon congénital: L'abaissement rétro-rectale et trans-anale du côlon, et son application possible au traitement de quelques autres malformations. *Presse Med.* 1956; 64: 2249-50.
20. Duhamel B. Technique et indications de l'abaissement retro-rectal et trans-anal en chirurgie colique. *Gaz med Fr.* 1963; 70:599- 608.
21. Seo S, Miyake H, Hock A, Koike Y, Yong C, Lee C, Li B, Pierro A. Duhamel and transanal endorectal pull-throughs for Hirschsprung' Disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Pediatr Surg.* 2018; 28:81-8.
22. Vrsansky P, Bourdelat D, Pagés R. Principal modifications of the Duhamel procedure in the treatment of Hirschsprung's disease. Analysis based on results of an international retrospective study of 2,430 patients. *Pediatr Surg Int.* 1998; 13(2-3):125-32.
23. Soave, F. A new surgical technique for treatment of Hirschsprung's disease. *Surgery.* 1964; 56:1007-14.
24. Boley SJ. New modification of the surgical treatment of Hirschsprung's disease. *Surgery.* 1964; 56:1015-7.
25. Pakarinen M. Perioperative complications of transanal pull-through surgery for Hirschsprung's Disease. *Eur J Pediatr Surg* 2018. 28(2):152-5.
26. Haricharan RN, Georgeson KE. Hirschsprung disease. *Semin Pediatr Surg.* 2008; 17(4):266-75.
27. Georgeson KE, Cohen RD, Hebra A, Jona JZ, Powell DM, Rothenberg SS, Tagge EP. Primary laparoscopic-assisted endorectal colon pull-through for Hirschsprung's disease: a new gold standard. *Ann Surg.* 1999; 229(5):678-83.
28. de La Torre-Mondragon L, Ortega-Salgado JA. Transanal endorectal pull-through for Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg.* 1998; 33:1283-6.
29. Peterlini FL, Martins JL. Modified transanal rectosigmoidectomy for Hirschsprung's disease: clinical and manometric results in the initial 20 cases. *J Pediatr Surg.* 2003; 38(7):1048-1050.

30. Levitt MA, Hamrick MC, Eradi B, Bischoff A, Hall J, Peña A. Transanal, full-thickness, Swenson-like approach for Hirschsprung disease. *J Pediatr Surg.* 2013;48(11):2289–2295.
31. Bing X, Sun C, Wang Z, Su Y, Sun H, Wang L, Yu X. Transanalpullthrough Soave and Swenson techniques for pediatric patients with Hirschsprung disease. *Medicine (Baltimore).* 2017. 96(10):e6209.
32. Knowles CH, De Giorgio R, Kapur RP, Bruder E, Farrugia G, Geboes K, et al. The London Classification of gastrointestinal neuromuscular pathology: report on behalf of the Gastro 2009 International Working Group. *Gut.* 2010;59:882-7.
33. Borchard F, Meier-Ruge W, Wiebecke B, Briner J, Müntefering H, Födisch HF, Holschneider AM, Schmidt A, Enck P, Stolte M. Disorders of the innervation of the large intestine--classification and diagnosis. Results of a consensus conference of the Society of Gastroenteropathology 1 December 1990 in Frankfurt. *Pathologie.* 1991; 12(3):171-4.
34. Holschneider AM, Steinwegs I. Functional diagnosis. In: Holschneider AM, Puri P, editors. *Hirschsprung's disease and allied disorders.* 3rd ed. Berlin Heidelberg New York: Springer; 2008; p.153-84.
35. Meier-Ruge WA, Bruder E, Kapur RP. Intestinal neuronal dysplasia type B: one giant ganglion is not good enough. *Pediatr Dev Pathol.* 2006;9:444-52.
36. Friedmacher F, Puri P. Classification and diagnostic criteria of variants of Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int.* 2013; 29:855-72.
37. Meier-Ruge WA. Casuistic of colon disorder with symptoms of Hirschsprung's disease (author's transl). *VerhDtschGesPathol.* 1971; 55:506-10.
38. Gil-Vernet JM, Broto J, Guillén G. [Hirschsprung-neurointestinaldyspasia: diferencial diagnosis and reliability of diagnostic procedures]. *Cir Pediatr.* 2006; 19(2):91-4.
39. Puri P. Intestinal dysganglionosis and other disorders of intestinal motility. In: Coran AG, Adzick NS, Caldamone AA, Krummel TM, Laberge J, Shamberger RC, editors. *Pediatric surgery.* Philadelphia: Elsevier Inc; 2012. p. 1279-87.
40. Guo X, Feng J, Wang G. Anorectal electromanometrical patterns in children with isolated neuronal intestinal dysplasia. *Eur J Pediatr Surg.* 2008;18:176-9.
41. Li XY, Li XG, Du MG, Chen ZD, Tao ZG, Liao XF. Clinical application of entire gastrointestinal barium meal combined with multi-temporal abdominal films in patients with intestinal neuronal dysplasia type B. *Saudi Med J.* 2013; 34:46-53.
42. Koletzko S, Ballauff A, Hadziselimovic F, Enck P. Is histological diagnosis of neuronal intestinal dysplasia related to clinical and manometric findings in constipated children? Results of a pilot study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1993; 17(1):59-65.

43. Sacher P, Briner J, Hanimann B. Is neuronal intestinal dysplasia (NID) a primary disease or a secondary phenomenon? *Eur J Pediatr Surg.* 1993; 3(4):228-30.
44. Martucciello G, Pini Prato A, Puri P, Holschneider AM, Meier-Ruge W, Jasonni V, Tovar JA, Grosfeld JL. Controversies concerning diagnostic guidelines for anomalies of the enteric nervous system: a report from the Fourth International Symposium on Hirschsprung's disease and related neurocristopathies. *J PediatrSurg.* 2005; 40(10):1527-31.
45. Terra SA, Lourenção PLTA, Silvia MG, Miot HA, Rodrigues MAM. A critical appraisal of the morphological criteria for diagnosing intestinal neuronal dysplasia type B. *Mod Pathol.* 2017;30:978-85.
46. Meier-Ruge WA, Ammann K, Bruder E, Holschneider AM, Schärli AF, Schmittenbecher PP, Stoss F. Updated results on intestinal neuronal dysplasia (IND B). *Eur J PediatrSurg.* 2004; 14(6):384-91.
47. de Arruda Lourenção, PLT, Ortolan, EVP, Rosa, LLM, Angelini, M. C., Cassettari, V. M. G., Terra, S. A., & Rodrigues, M. A. M. (2021). What should be the treatment for intestinal neuronal dysplasia type B? A comparative long-term follow-up study. *Journal of Pediatric Surgery*, 56(9), 1611-1617.
48. Toledo de Arruda Lourenção PL, Terra SA, Ortolan EV, Rodrigues MA. Intestinal neuronal dysplasia type B: A still little known diagnosis for organic causes of intestinal chronic constipation. *World J GastrointestPharmacolTher.* 2016 Aug 6;7(3):397-405.

Capítulo II

***“Investigação da relação entre achados clínicos e
histopatológicos em pacientes com Displasia
Neuronal Intestinal Tipo B”***

Resumo

Introdução: A Displasia Neuronal Intestinal do tipo B (DNI-B) é uma entidade patológica, do grupo das doenças neuromusculares gastrointestinais. O diagnóstico de DNI-B é realizado a partir da análise histopatológica das biópsias de reto de pacientes que apresentam constipação intestinal, habitualmente refratária ao tratamento clínico, demonstrando sinais de hiperplasia dos plexos nervosos da submucosa. A indefinição sobre a relação causal entre os achados histológicos e os sintomas clínicos vem sendo apontada como o principal ponto a ser elucidado na investigação científica relacionada à DNI-B. Este parece ser o elo ainda pendente para a real caracterização da DNI-B como uma doença e para o estabelecimento definitivo de seus critérios diagnósticos e possibilidades terapêuticas. **Objetivo:** investigar a associação entre os achados histopatológicos, identificados em pacientes com DNI-B, e os sintomas clínicos presentes no momento do diagnóstico. **Métodos:** Trata-se de um estudo de centro único, retrospectivo, não-controlado, descritivo e analítico. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição. Foram incluídos 27 pacientes, com idade entre 0 e 15 anos, que haviam recebido o diagnóstico de DNI-B, com base nos critérios histopatológicos propostos no Consenso de Frankfurt (1990) e que haviam sido submetidos a tratamento cirúrgico, por meio de ressecções extensas do cólon e do reto. Os prontuários médicos foram recuperados para obtenção de dados relacionados ao hábito intestinal, presentes no momento do diagnóstico, incluindo o Intestinal Symptom Index (ISI), que é um índice proposto para resumir os sinais e sintomas mais comuns no curso clínico da DNI-B. Foram obtidos, também, dados da análise histopatológica detalhada das peças cirúrgicas. Foi realizada análise fatorial exploratória, aplicando o método de componentes principais para agrupamentos, com rotação Varimax. Foi estabelecido o ponto de corte de 0,5 para as cargas fatoriais. A distribuição dos escores dos dois fatores determinados foi realizada por meio de gráfico de escores. O nível de significância foi de 5% e a análise foi realizada no software SASv. 9.4. **Resultados:** A análise fatorial exploratória permitiu a investigação das relações entre sintomas clínicos e características histopatológicas. Esta análise determinou 2 fatores principais, que explicam quase a metade das variações possíveis. O Fator 1, responsável pela maior parte das variações explicadas, foi composto por variáveis histopatológicas e por algumas variáveis clínicas de gravidade, como a necessidade de realização de lavagens intestinais e a presença de evacuações com sangue. O Fator 2 foi composto pelos principais sintomas, incluindo o ISI. Após o procedimento de rotação fatorial, foi possível identificar associação entre os principais componentes destes 2 fatores, através de representação gráfica, ficando evidente as relações de proximidade entre os valores do ISI e as

alterações histopatológicas associadas à DNI-B, representadas principalmente pela hiperganglionose. Estes componentes levaram à uma mesma direção no gráfico, contribuindo para um mesmo sentido clínico, nas relações investigadas entre sintomas e alterações histopatológicas. **Conclusão:** Há associação entre sintomas e alterações histopatológicas na DNI-B. Isto reforça a teoria de que a DNI-B seja realmente uma doença, com sintomas específicos e alterações orgânicas no trato gastrointestinal.

Abstract

Introduction: Intestinal Neuronal Dysplasia type B (IND-B) is a pathological entity belonging to gastrointestinal neuromuscular diseases. The diagnosis of IND-B is based on the pathological analysis of rectal biopsies from patients with constipation, with signs of submucosal nerve plexus hyperplasia. The lack of definition about the causal relationship between histological findings and clinical symptoms has been pointed as the primary point that needs to be elucidated in the scientific investigation related to IND-B. This point seems to be the link still pending for the accurate characterization of IND-B as a disease and the definitive establishment of its diagnostic criteria and therapeutic possibilities. **Objective:** to investigate the association between the histopathological findings identified in patients with IND-B and the clinical symptoms present at the time of diagnosis. **Methods:** This is a single-center, retrospective, uncontrolled, descriptive, and analytical study. The Institution's Research Ethics Committee approved this study. We included 27 patients, aged between 0 and 15 years, who had received the diagnosis of IND-B, based on the pathological criteria proposed in the Frankfurt Consensus (1990), and who had undergone surgical treatment through extensive resections of the colon and rectum. We retrieved medical records to obtain data related to bowel habits present at the time of diagnosis, including the Intestinal Symptom Index (ISI), an index proposed to summarize the most common signs and symptoms in the clinical course of IND-B. Data from the detailed pathological analysis of the surgical specimens were also obtained. Exploratory factor analysis was performed, applying the principal components method for clusters with Varimax rotation. We established a cut-off point of 0.5 for factor loadings. The distribution of scores for the two factors determined was performed using a score chart. The significance level was 5%, and the analysis was performed using the SAS v software. 9.4. **Results:** Exploratory factor analysis allowed the investigation of the relationship between clinical symptoms and pathological features. This analysis determined two main factors, which explain almost half of the possible variations. Factor 1, responsible for most of the described variations, was composed of pathological variables and some clinical variables of severity, such as the need to perform intestinal washouts and the presence of bloody stools. Factor 2 was composed of the main symptoms, including ISI. After the factorial rotation procedure, we could identify an association between the main components of these two factors through graphic representation, showing the close relationships between the ISI values and the pathological alterations associated with IND-B, represented mainly by hyperganglionsis. These components lead to the same direction in

the graph, contributing to the same clinical meaning in the investigated relationships between symptoms and pathological alterations. **Conclusion:** There is an association between symptoms and pathological changes in IND-B, reinforcing the theory that IND-B is a disease with specific symptoms and organic changes in the gastrointestinal tract.

1. Introdução

A Displasia Neuronal Intestinal do tipo B (DNI-B) é uma condição patológica que afeta os plexos nervosos submucosos do intestino, de forma isolada ou em associação com outras neuropatias, como a Doença de Hirschsprung (DH). A DNI-B habitualmente está associada a quadros de constipação intestinal grave, em diferentes faixas etárias^{1,2}.

A patogenia da DNI-B, assim como sua definição e diagnóstico, ainda faz parte das incertezas que cercam esta doença. Várias hipóteses são discutidas, entretanto nenhuma delas ainda é amplamente aceita^{2,3}. As alterações histopatológicas que caracterizam a DNI-B podem se originar de uma alteração primária, determinada geneticamente, exercendo influência direta no desenvolvimento embriológico dos tecidos derivados da crista neural². Entretanto, estes achados foram determinados apenas através de estudos experimentais em animais^{4,5}. Por outro lado, a DNI-B foi encontrada como uma alteração histopatológica secundária a fenômenos intestinais obstrutivos ou inflamatórios⁶, ocorridos no período fetal^{7,8}, perinatal ou pós-natal em humanos^{9,10}. Esta resposta histopatológica secundária a uma obstrução intestinal também foi reproduzida através de estudos experimentais em animais^{11,12}.

A constipação intestinal crônica é o quadro clínico mais comumente apresentado pelos pacientes, nas diferentes séries de casos de DNI-B^{2,8}. Em alguns casos, estes sintomas podem ter início nos primeiros dias de vida, com atraso na eliminação do mecônio, distensão abdominal, vômitos e dificuldade de alimentação¹³. Uma parte dos pacientes mantém sintomas ao longo da vida, habitualmente apresentando constipação intestinal grave, refratária a diferentes tipos de tratamentos^{14,15}. Sintomas de maior gravidade, como episódios de enterocolite, obstrução intestinal, volvo ou intussuscepção, embora raros, também são descritos como possíveis complicações na evolução clínica, em diferentes faixas etárias^{16,17}.

O diagnóstico da DNI-B depende fundamentalmente da análise histopatológica de biópsias do reto^{18,19}. Entretanto, os critérios morfológicos para o seu diagnóstico mudaram ao longo dos anos^{18,20-22} expondo a falta de consenso sobre a doença e dificultando a comparação entre os estudos realizados^{2,23}. A hiperplasia dos plexos nervosos da submucosa é o achado morfológico que define a DNI-B, mas que é diferentemente caracterizada pelos critérios²⁴.

As duas possibilidades terapêuticas propostas para pacientes com DNI-B são o tratamento clínico conservador e o tratamento cirúrgico⁸. O tratamento conservador é realizado a partir de modificações na dieta, uso de medicações laxativas e lavagens intestinais

nos casos de retenção fecal^{2,25}. O tratamento cirúrgico, por outro lado, pode ser realizado através de esfínterectomia²⁶, ressecção cirúrgica ampla²⁷ ou colostomia temporária^{28,29}. Atualmente, a tendência mais aceita é que os pacientes com diagnóstico de DNI-B que não apresentem complicações recebam tratamento clínico conservador^{24,30-32}.

Um dos principais pontos de controvérsia no estudo da DNI-B diz respeito à existência ou não de uma relação causa-efeito entre os seus achados histopatológicos e os sintomas clínicos. Na maioria dos casos, o diagnóstico de DNI-B é realizado a partir da análise histopatológica das biópsias de reto de pacientes que apresentam constipação intestinal, habitualmente refratária ao tratamento clínico. Uma minoria dos casos pode apresentar obstrução intestinal aguda ou enterocolite². Por outro lado, alterações histopatológicas compatíveis com o diagnóstico de DNI-B foram encontradas em segmentos de cólon de 36 crianças completamente assintomáticas³³. Outros estudos não conseguiram demonstrar correlação direta entre os achados histopatológicos, os sintomas clínicos e as alterações radiológicas e manométricas^{34,35}. Frente a estas controvérsias, vários autores chegam até mesmo a não considerar a DNI-B como uma entidade clínica verdadeira, mas apenas como uma alteração histopatológica do sistema nervoso entérico que pode ou não apresentar sintomas^{2,3,31,36,37}.

A indefinição sobre a relação causal entre os achados histológicos e os sintomas clínicos vem sendo apontada como o principal ponto a ser elucidado na investigação científica relacionada à DNI-B^{2,30,31,37,38}. Este parece ser o principal elo ainda pendente para a real caracterização da DNI-B como uma doença e para o estabelecimento definitivo de seus critérios diagnósticos e possibilidades terapêuticas³⁹.

Por tudo isso, o objetivo deste estudo foi investigar a associação entre os achados histopatológicos, identificados em pacientes com DNI-B, e os sintomas clínicos presentes no momento do diagnóstico e após seguimento clínico de longo prazo.

2. Pacientes e Métodos

Foi realizado um estudo de centro único, retrospectivo, não-controlado, descritivo e analítico. Foram incluídos pacientes de até 15 anos de idade, que haviam recebido o diagnóstico de DNI-B, estabelecido por meio de análise histopatológica de biópsias do reto, de acordo com critérios propostos no Consenso de Frankfurt (1990)²² e que haviam sido submetidos a tratamento cirúrgico, por meio de ressecções extensas do cólon e do reto, e posteriormente convidados para uma consulta de reavaliação após um tempo mínimo de 5 anos do tratamento cirúrgico. Foram excluídos os indivíduos que não compareceram às consultas de reavaliação clínica de longo prazo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (CAAE nº 80018217.1.0000.5411) (Anexo 1), com dispensa da necessidade de aplicação do termo de consentimento.

2.1. Delineamento

Foram recuperadas as informações dos prontuários médicos dos pacientes elegíveis para o estudo. Os prontuários foram obtidos no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do HC-FMB-UNESP. Os seguintes dados clínicos de interesse foram recuperados e tabulados: idade do início dos sintomas, idade no momento do diagnóstico, sexo, idade gestacional, peso ao nascimento, evolução clínica no período neonatal, atraso na eliminação de mecônio, presença de malformações associadas, história de obstrução intestinal aguda e o motivo para indicação cirúrgica. Além disso, foram obtidas informações específicas do hábito intestinal, relacionadas principalmente aos sintomas relacionados à constipação intestinal crônica, antes da instituição do tratamento cirúrgico, incluindo: frequência evacuatória, aspecto das fezes, evacuações dolorosas ou com esforço, sangramento evacuatório, dor abdominal, presença de fecaloma, necessidade de lavagens intestinais e incontinência fecal. As informações obtidas permitiram avaliar a presença de cada um dos 6 critérios de Roma IV^{40,41} para o diagnóstico de constipação em crianças (Q1: < 2 evacuações por semana; Q2: > 1 episódio de incontinência fecal por semana; Q3: história de episódios de retenção fecal; Q4: esforço e evacuações dolorosas; Q5: presença de fecalomas e Q6: presença de evacuações com fezes volumosas que entopem o vaso sanitário) e aplicar o Intestinal Symptom Index, que é um índice proposto para resumir estes sinais e sintomas mais comuns no curso clínico desta entidade patológica (Anexo 2)⁴².

Posteriormente, foram recuperadas informações clínicas referentes ao seguimento clínico a longo prazo destes pacientes, obtidas após um intervalo de tempo mínimo de 5 anos após o tratamento cirúrgico. Estes dados haviam sido previamente obtidos para o projeto de pesquisa “Seguimento clínico a longo prazo de crianças com displasia neuronal intestinal”, registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob nº RBR-8r3b7y, desenvolvido por este mesmo grupo de pesquisa^{32,42}. Estas informações incluíram dados relacionados ao resultado funcional do hábito intestinal (frequência evacuatória, aspecto das fezes, evacuações dolorosas ou com esforço, sangramento evacuatório, presença de fecaloma, necessidade de lavagens intestinais, dor abdominal e incontinência fecal) e à qualidade de vida (restrições de atividades, necessidade de uso de fraldas), além de resultados mensurados pelo Escore de Templeton&Ditesheim (1985)⁴³ para avaliação da incontinência fecal (Anexo 3), pela Escala de Bristol modificada para crianças para análise da consistência das fezes (Anexo 4)⁴⁴⁻⁴⁶ e os resultados da aplicação de índices para mensuração dos resultados a longo prazo do tratamento instituído, representados pelo BowelFunction Score (BF-S) (Anexo 5)⁴⁷⁻⁴⁹, pelo Intestinal Symptom Index (Anexo 2)⁴² e pela Classificação de prognóstico clínico proposta por Tran et al. (2016) (Anexo 6)⁵⁰.

Além disso, foram recuperados os dados obtidos no estudo “Displasia Neuronal Intestinal: Análise de Critérios Morfológicos e Comparação de Métodos Diagnósticos”, desenvolvido também por este grupo de pesquisa, que realizou análise histopatológica pormenorizada das peças cirúrgicas destes mesmos pacientes⁵¹. Esta análise havia sido realizada a partir de cortes histológicos processados pela histologia padrão (hematoxilina e eosina) e pelo método imunohistoquímico da calretinina, analisados em conjunto por duas médicas patologistas, com experiência no diagnóstico de disganglionoses intestinais, sem conhecimento das informações clínicas dos pacientes. Foram recuperados os dados da análise descritiva dos plexos nervosos submucosos, incluindo a presença de gânglios com sinais de imaturidade, a identificação de neurônios pequenos, de tamanho normal, anisomórficos, hipogênicos ou grandes, presença de grupo de células nervosas ao longo ou ao redor de fibras aferentes espessas (“bud-likenervecells”) e a imunoexpressão para calretinina em neurônios nos plexos, nas fibrilas nervosas na mucosa e em neurônios heterotópicos na lâmina própria ou na muscular da mucosa. Além disso, foram também recuperados os dados da análise morfométrica quantitativa dos plexos nervosos da submucosa, incluindo o número de neurônios em 25 gânglios, o número máximo de neurônios por gânglio, o número de campos analisados necessários para identificar 25 gânglios, a espessura máxima de um tronco nervoso (μm), a área de um neurônio (μm^2) e o número de gânglios gigantes (com mais de 8 células ganglionares) em 25 gânglios analisados.

2.2. Análise dos resultados

A lista das informações obtidas nas análises retrospectivas dos prontuários e nos estudos prévios está sumarizada no Quadro 1. Os dados obtidos foram submetidos à análise descritiva, permitindo a caracterização clínica e patológica dos pacientes incluídos no estudo. Em seguida, os dados foram submetidos à análise estatística analítica, objetivando investigar as relações entre os achados clínicos do período pré-operatório, antes da instituição do tratamento, e os resultados das análises histopatológicas das amostras de reto destes pacientes. Além disso, foi realizada análise de regressão para avaliação da potencial influência dos achados histopatológicos sobre os resultados do tratamento, mensurados pelos escores clínicos e índices de prognóstico, obtidos nas reavaliações clínicas realizadas a longo prazo (após 5 anos do tratamento cirúrgico).

Quadro 1: Lista das informações clínica se histopatológicas disponíveis.

Dados obtidos no momento do diagnóstico (pré-tratamento)	Dados obtidos no momento da reavaliação (tempo após tratamento ≥ 5 anos)	Dados da análise histopatológica das peças cirúrgicas
Variáveis demográficas e antecedentes pessoais	Variáveis clínicas	Análise descritiva
Sexo	Frequência evacuatória	Gânglios com sinais de imaturidade
Idade gestacional	Aspecto das fezes	Neurônios pequenos
Peso ao nascimento	Evacuações dolorosas ou com esforço	Neurônios de tamanho normal (plexos com células normais)
Outras malformações	Sangramento evacuatório	Neurônios anisomórficos
Evolução clínica no período neonatal	Dor abdominal	Neurônios hipogênicos
Atraso na eliminação de mecônio		Neurônios grandes
Idade no início dos sintomas	Presença de fecaloma	Presença de grupo de células nervosas ao longo ou ao redor de fibras aferentes espessas (“bud-likenervecells”)
História de obstrução intestinal aguda		
Presença de outras malformações associadas	Postura retentiva para defecação	Imunoexpressão para calretinina em neurônios nosplexos
Idade do diagnóstico	Necessidade de lavagens intestinais	Imunoexpressão para calretinina nas fibrilas nervosas na mucosa
Comorbidades		
Variáveis Clínicas	Incontinência fecal	Imunoexpressão para calretinina em neurônios heterotópicos na lâmina própria
Necessidade de lavagens intestinais	Escores clínicos e Índices para avaliação do resultado do tratamento (prognóstico)	Imunoexpressão para calretinina em neurônios heterotópicos na muscular da mucosa.
Q1: < 2 evacuações por semana		
Q2: > 1 episódio de incontinência fecal por semana	Escore de Templeton& Ditesheim (incontinência fecal) ⁴³	Análise morfométrica quantitativa
Q3: história de episódios de retenção fecal	Escala de Bristol modificada para crianças (consistência das fezes) ^{44,45}	Número de neurônios em 25 gânglios
Q4: esforço e evacuações dolorosas	Bowel Function Score (BF-S) ⁴⁸	Número máximo de neurônios por gânglio
Q5: presença de fecalomas		Número de campos necessários para identificar 25 gânglios
Q6: presença de evacuações com fezes volumosas que entopem o vaso sanitário		
Distensão abdominal		Largura máxima de um tronco nervoso (μm)
Dor abdominal	Intestinal Symptom Index ⁴²	Área de um neurônio (μm^2)
Sangramento evacuatório	Classificação de prognóstico clínico de Tran et al. (2016) ^{42,50}	Média de neurônios por gânglio
Intestinal Symptom Index ⁴⁰		Número de gânglios gigantes (com mais de 8 células ganglionares) em 25 gânglios analisados

2.3. Análise estatística

A análise descritiva foi realizada por meio dos números absolutos e respectivas porcentagens e da determinação dos valores de média $\pm$ desvios-padrão e de mediana (mínimo/máximo).

A seguir, com os dados quantitativos (clínicos do momento pré-operatório e histopatológicos) foi realizada análise fatorial exploratória, aplicando o método de componentes principais para agrupamentos, com rotação Varimax. Trata-se de uma análise multivariada, que busca identificar quais das variáveis medidas são mais importantes para determinar um fenômeno. Esta análise converte um conjunto de dados possivelmente correlacionados em um conjunto de variáveis linearmente não correlacionadas, de onde se originam, então, os componentes principais. Uma boa correlação de dados entre dois fatores representa que ambos estão intrinsecamente ligados^{52,53}.

Na presente análise, não foram realizados os testes de Kaiser – Meyer – Oklin (KMO) e de esfericidade pelo fato de o número de variáveis ser maior que o número de observações. Uma parte da variância de uma determinada variável que contribui para a formação dos fatores é chamada de comunalidade. Ela é obtida pela soma de quadrados dos componentes dos autovetores (cargas fatoriais) de cada fator. Foi estabelecido o ponto de corte de 0,5 para as cargas fatoriais (autovetores)^{52,53}. Os autovetores fornecem a variação explicada por cada fator. Após a determinação dos fatores, foi aplicada uma rotação fatorial, que é o processo de manipulação ou de ajuste dos eixos fatoriais para conseguir uma solução fatorial mais simples e pragmaticamente mais significativa, cujos fatores sejam mais facilmente interpretáveis. As rotações podem ser ortogonais (preservam os eixos originais) ou oblíquas (variam conforme o ângulo a ser especificado para os eixos). A rotação mais utilizada é a Varimax. A rotação Varimax é uma rotação ortogonal dos eixos fatoriais para maximizar a variância das cargas de um fator (coluna) em todas as variáveis (linhas) em uma matriz fatorial, que tem o efeito de diferenciar as variáveis originais por fator extraído. Cada fator tenderá a ter cargas grandes ou pequenas de qualquer variável em particular. Uma solução Varimax produz resultados que facilitam ao máximo a identificação de cada variável com um único fator. A distribuição dos escores dos fatores determinados foi realizada por meio de gráfico de escores, possibilitando a detecção de agrupamentos, outliers e tendências.

Além disso, foram realizadas análises de regressão linear múltipla e análises de regressão logística simples, tomando-se como variáveis dependentes os escores clínicos e de

prognóstico analisados no seguimento de longo prazo e como variáveis independentes as características da análise histopatológica das amostras de reto previamente identificadas como associadas às variáveis clínicas de pré-operatório pela análise de componentes principais com rotação fatorial. O nível de significância considerado foi de 5% e a análise foi realizada no software SAS para o Windows, v. 9.4.

3. Resultados

Foram selecionados 29 pacientes, com idade entre 0 e 15 anos, que haviam recebido o diagnóstico de DNI-B, estabelecido por meio de análise histopatológica de biópsias do reto, e que haviam sido, posteriormente, submetidos a tratamento cirúrgico, por meio de ressecções extensas do cólon e do reto. Dois pacientes foram excluídos por não comparecerem às consultas de reavaliação clínica, para obtenção dos dados de seguimento a longo prazo.

3.1. Período Pré-tratamento

A análise retrospectiva dos prontuários médicos dos 27 pacientes incluídos no estudo permitiu o acesso a informações relevantes do momento da admissão dos pacientes no serviço, antes da realização do tratamento cirúrgico. A Tabela 1 apresenta as principais informações demográficas e de antecedentes pessoais, com enfoque principalmente no período neonatal. A média de idade dos pacientes, no momento da cirurgia foi de $26,71 \pm 38,7$ meses, com mediana de 4 meses (0,06 a 172 meses).

Tabela 1: Variáveis demográficas e antecedentes pessoais dos pacientes incluídos no estudo.

Variáveis demográficas e antecedentes pessoais		n	%
Sexo	Masculino	18	66,7
	Feminino	9	33,3
Peso ao nascimento	< 3 kg	13	50
	≥ 3 kg	13	50
Problemas no período neonatal	Presente	9	34,6
	Ausente	17	65,4
	Sem informação	1	-
Outras malformações congênicas	Presente	1	3,8
	Ausente	25	96,2
	Sem informação	1	-
Faixa Etária no início dos sintomas	Neonatal	20	76,9
	Lactente	4	15,4
	> 2 anos	2	7,7
	Sem informação	1	-
Atraso na eliminação de mecônio	Presente	11	44,0
	Ausente	14	56,0
	Sem informação	2	-
Principal manifestação clínica	Abdome agudo obstrutivo no período neonatal	3	11,1
	Abdome agudo obstrutivo em outras faixas etárias	3	11,1
	Enterocolite	1	3,7
	Constipação intestinal crônica	20	74,1
Idade no momento da cirurgia	< 1 ano	15	55,6
	1-5 anos	9	33,3
	>6 anos	3	11,1

n: número de pacientes; %: distribuição percentual.

A Tabela 2 apresenta as principais variáveis clínicas, relacionadas ao hábito intestinal e aos sintomas abdominais dos pacientes, antes da instituição do tratamento cirúrgico. Os pacientes apresentavam, em média, $2,26 \pm 3,16$ evacuações por semana, com mediana de 1 (0-14) evacuações por semana. A média do número máximo de dias sem evacuar era de $9,07 \pm 6,24$, com mediana de 7 (1-25) dias. Excetuando-se os pacientes que apresentaram quadro de abdome agudo obstrutivo no período neonatal e um paciente que possuía informações incompletas no prontuário, todos os outros 23 pacientes contemplavam os critérios de Roma IV^{40,41} para o diagnóstico de constipação intestinal. Todos os pacientes foram tratados cirurgicamente: 21 pela técnica de abaixamento endorretaltransanal, 3 por colostomias e subsequente abaixamento de cólon à Soave e 3 por colostomias e subsequente abaixamento de cólon pela Técnica de Duhamel.

Tabela 2: Variáveis clínicas relacionadas ao hábito intestinal e a sintomas abdominais, antes do tratamento.

Variáveis clínicas analisadas		n	%
Fecaloma	Presente	7	30,4
	Ausente	16	69,6
	Sem informação	4	-
Fezes volumosas que entopem o vaso sanitário	Presente	5	21,7
	Ausente	18	78,3
	Sem informação	4	-
Postura retentiva	Presente	22	95,6
	Ausente	1	4,4
	Sem informação	4	-
Distensão abdominal	Presente	20	86,9
	Ausente	3	13,1
	Sem informação	4	-
Dor abdominal	Presente	19	82,6
	Ausente	4	17,4
	Sem informação	4	-
Sangramento evacuatório	Presente	6	26,1
	Ausente	17	73,9
	Sem informação	4	-
Necessidade de lavagens intestinais	Presente	19	73,1
	Ausente	7	26,9
	Sem informação	1	-
Incontinência fecal	Presente	6	60,0
	Ausente	4	40,0
	Sem informação ou com idade < 3anos	13	-

n: número de pacientes; %: distribuição percentual.

3.2. Período Pós-tratamento (reavaliação a longo prazo)

A média de idade dos pacientes no momento das consultas de reavaliação foi de $10 \pm 4,08$ anos, com mediana de 9 (4-20) anos. O tempo médio transcorrido entre o momento de avaliação inicial (antes do tratamento cirúrgico) e a momento da reavaliação foi de $7,81 \pm 2,78$ anos, com mediana de 8 (5-15) anos. Os pacientes apresentavam, em média, $10,96 \pm 6,85$ evacuações por semana, com mediana de 7 (1-28) evacuações por semana. A média do número máximo de dias sem evacuar era de $1,07 \pm 1,85$, com mediana de 1 (0-7) dias. A Tabela 3 apresenta as principais informações clínicas, relacionadas ao hábito intestinal e a sintomas abdominais, obtidas no momento de reavaliação. Onze pacientes (40,7%) mantiveram o diagnóstico de constipação intestinal com base nos critérios de Roma IV^{40,41} no momento da reavaliação a longo prazo.

Tabela 3: Variáveis clínicas relacionadas ao hábito intestinal e a sintomas abdominais, no momento de reavaliação.

Variáveis clínicas presentes, analisadas no momento da reavaliação	n	%
Fecaloma	1	3,7
Fezes volumosas que entopem o vaso sanitário	7	25,9
Postura retentiva	7	25,9
Distensão abdominal	9	33,3
Dor abdominal	8	29,6
Sangramento evacuatório	6	22,2
Necessidade de lavagens intestinais	2	7,4
Incontinência fecal	13	48,2

n: número de pacientes; %: distribuição percentual.

A Tabela 4 apresenta os resultados dos escores de avaliação de função intestinal e da incontinência fecal e do resultado do tratamento, obtidos no momento da reavaliação clínica.

Tabela 4: Escores de avaliação da função intestinal, incontinência fecal e do resultado de tratamento, mensurados no momento da reavaliação.

Escore	Resultado
Bowel Function Score (BF-S)	Média: 13,14 $\pm$ 6,09 Mediana: 14 (1-20)
Intestinal Symptom Index (ISI)	Média: 1,43 $\pm$ 1,64 Mediana: 1,0 (0-6)
Templeton&Ditesheim	Média: 4,29 $\pm$ 1,11 Mediana: 5 (1-5)
Escala de Bristol modificada para crianças para análise da consistência das fezes	Tipo 1: 1 Tipo 2: 6 Tipo 3: 14 Tipo 4: 6 Tipo 5: 0 Mediana: 3 (1-4)
Classificação de prognóstico clínico de Tran et al. (2016)	1: 8 pacientes (29,6%) 2: 3 pacientes (11,1%) 3: 16 pacientes (59,3%)

3.3. Análise histopatológica das peças cirúrgicas

Os dados da análise histopatológica realizadas nas peças cirúrgicas dos pacientes incluídos nesta série são apresentados a seguir. Estes dados foram recuperados do estudo Displasia Neuronal Intestinal: Análise de Critérios Morfológicos e Comparação de Métodos Diagnósticos”, desenvolvido também por este grupo de pesquisa⁵¹.

A Tabela 5 apresenta a análise estatística dos dados obtidos na análise morfométrica quantitativa das peças cirúrgicas processadas pela hematoxilina e eosina, dos 27 pacientes. A análise quantitativa pela histologia padrão demonstrou valores elevados para o número máximo de neurônios por gânglio nervoso, em média 10,7 ($\pm$ 4,29) neurônios por gânglio. Os valores máximos de diâmetro de um tronco nervoso também foram bastante elevados, com mediana superior a 40 μ m.

Tabela 5: Análise morfométrica quantitativa das peças cirúrgicas processadas pela hematoxilina e eosina.

Variável	Média	$\pm$ desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
% de plexos com mais de 7 neurônios	13,44	7,08	12	2	28
Quantidade de gânglios gigantes	1,85	1,83	2	0	7
% de gânglios gigantes	7,4	7,33	8	0	28
Quantidade de campos para localizar 25 gânglios	17,96	2,42	18	13	22
Quantidade de neurônios	92	21,64	96	51	130
Número máximo de neurônios por gânglio	10,7	4,29	10	5	20
Largura máxima de um plexo	42,99	9,38	45,13	24,03	61,9
Área de um neurônio	101,4	35,61	96,59	57,92	239,75
Número médio de neurônios por gânglio	3,68	0,86	3,84	2,04	5,2
Número de gânglios gigantes por mm ²	0,50	0,56	0,42	0	2,49

A Tabela 6 apresenta a análise morfológica descritiva das peças cirúrgicas processadas pela hematoxilina e eosina. Os plexos nervosos da submucosa apresentaram alterações em todos os casos, com hiperplasia dos plexos nervosos submucosos, caracterizadas por hiperganglionose e hipertrofia dos troncos nervosos parassimpáticos, por vezes com conexões “em botão” entre grupos de neurônios. A maior parte dos casos apresentava gânglios com sinais de imaturidade, caracterizados por vacuolização, com neurônios pequenos e anisomórficos.

Tabela 6: Análise morfológica descritiva das peças cirúrgicas processadas pela hematoxilina eosina.

Variáveis clínicas presentes nas peças cirúrgicas processadas	n	%
Presença de células “em botão”	6	22,2
Plexos com células hipogênicas	12	44,4
Plexos com sinais de imaturidade	20	74,1
Presença de células grandes	6	22,2
Presença de células de tamanho normal	18	66,7
Presença de células pequenas	20	74,1
Presença de células anisomórficas	16	59,3

n: número de pacientes; %: distribuição percentual.

A Tabela 7 apresenta a análise morfológica das peças cirúrgicas processadas pelo método imunohistoquímico da calretinina. Houve imunomarcação para calretinina nos neurônios dos plexos nervosos da submucosa em todos os casos analisados. Entretanto, nem todos os neurônios identificados previamente pela histologia padrão, foram corados pela calretinina. A análise imunohistoquímica permitiu a identificação de neurônios heterotópicos em 25 casos (92,6%), 14 deles com neurônios presentes na lâmina própria e outros 11 com neurônios localizados na muscular da mucosa. Houve expressão imunohistoquímica para esta proteína nas fibrilas nervosas na lâmina própria e na muscular da mucosa. Esta expressão apresentou notável variação entre os casos, sendo mais comuns as expressões focais, visualizadas nos aumentos de 200 e 400 vezes.

Tabela 7: Análise morfológica descritiva das peças cirúrgicas processadas pela hematoxilina eosina.

Presença de expressão imunohistoquímica para calretinina		n	%
Fibrilas nervosas do sistema nervoso intrínseco	+	11	40,8
	++	13	48,1
	+++	03	11,1
Células ectópicas na muscular da mucosa		11	40,8
Células ectópicas na lâmina própria da mucosa		14	51,9
Em todos os tipos de neurônios		03	11,1

n: número de pacientes; %: distribuição percentual.

3.4. Análise fatorial com componentes principais

A Tabela 8 resume a análise fatorial exploratória entre os dados clínicos pré-operatórios e os resultados da análise histopatológica das amostras de reto, com a determinação de 2 fatores pelo método de componentes principais com rotação Varimax, com 28% de variação explicada pelo Fator 1 e 17% para o Fator 2, totalizando 45% de variação explicadas pelos fatores.

Tabela 8: Análise fatorial com componentes principais: dados clínicos pré-operatórios e análise histopatológica.

Variáveis (sigla representativa)	Fator 1	Fator 2	Comunalidades
Sexo	-0.36976	-0.11383	0.14968337
Termo	0.14257	0.59061	0.36914302
Peso ao nascimento (pesonasc)	0.32672	-0.39439	0.26228682
Problemas no período neonatal (probneo)	0.63274	0.30084	0.49086572
Outras malformações (omalf)	0.24566	0.16446	0.08739573
Atraso para eliminação do mecônio (meconio)	0.25442	0.06318	0.06872026
Idade do início dos sintomas (idinisint)	-0.29863	0.14387	0.10988133
Número máximo de dias sem evacuar (maxsemevacpre)	0.04793	-0.75333	0.56980449
Número de evacuações em 1 semana (maxsemevacpo)	0.00138	0.04238	0.00179796
Idade do diagnóstico (iddiagn)	-0.70306	0.43236	0.68122894
Necessidade de lavagens (lavagempre)	0.55462	-0.2281	0.35964037
< de 2 evacuações por semana (q1pre)	0.59909	-0.3154	0.45838443
> 1 episódio de incontinência fecal por semana (q2pre)	-0.24887	0.6455	0.47860546
História de episódios de retenção fecal (q3pre)	0.27569	0.92252	0.92704185
Esforço e evacuações dolorosas (q4pre)	0.27569	0.92252	0.92704185
Presença de fecalomas (q5pre)	0.93576	0.24813	0.93721924
Presença de evacuações com fezes volumosas que entopem o vaso sanitário (q6pre)	0.41256	0.17498	0.20082856
Distensão abdominal (distabdpre)	0.27569	0.92252	0.92704185
Dor abdominal (dorabdpre)	0.27569	0.92252	0.92704185
Sangramento evacuatório (sangpre)	0.58657	0.33643	0.45725263
Intestinal Symptom Index (isipre)	0.59803	0.68232	0.82320183
Plexos com células normais (plexceln)	-0.55234	0.13644	0.32369045
Número de gânglios gigantes (galggig)	0.81355	0.1761	0.69287359
Número de neurônios em 25 gânglios (qneuron)	0.78385	0.46596	0.831539
Número máximo de neurônios por gânglio (maxneur)	0.65466	0.26321	0.49785417
Largura máxima de um plexo (largmaxplexogang)	-0.13106	-0.14222	0.03740139
Área de um neurônio (areaneuro)	-0.70673	0.33984	0.6149547
Média de neurônios por gânglio (medianeurogang)	0.78385	0.46596	0.831539

Presença de agrupamentos com aspecto “em botão” (budlike)	0.45286	-0.00031	0.20508568
Plexos com células hipogênicas (plexohypo)	0.5995	0.08032	0.36585288
Plexos com sinais de imaturidade (plexoimat)	0.38736	0.38166	0.29571201
Presença de células pequenas (celpeq)	0.11609	-0.29623	0.10122901
Presença de neurônios anisomórficos (anisom)	-0.5993	0.07521	0.36481879
Expressão positiva de calretinina em fibras nervosas (fibrilacalret)	-0.34273	-0.03628	0.11877902
Presença de heterotopia celular na muscular da mucosa pela calretinina (hmusclaret)	-0.03404	-0.65429	0.42926056
Presença de heterotopia celular na lâmina própria pela calretinina (hlpcalret)	-0.4923	0.48742	0.47993282

Aplicando-se um ponto de corte de 0,5 para as cargas fatoriais, foi possível a determinação das variáveis principais que compuseram 2 fatores:

- **Fator 1 (fator histopatológico e de gravidade clínica)** – composto pelas variáveis: número de gânglios gigantes, número de neurônios em 25 gânglios, média de neurônios por gânglio, número máximo de neurônios por gânglio, plexos com neurônios hipogênicos, presença de problemas no período neonatal, presença de fecaloma, menos de 2 evacuações por semana, presença de episódios de sangramento evacuatórios, necessidade de lavagens intestinais.

- **Fator 2 (fator sintomas clínicos)** – composto pelas variáveis: valor do Intestinal Symptom Index (ISI), história de retenção fecal, esforço e evacuações dolorosas, presença de distensão abdominal, presença de dor abdominal, presença de pelo menos 1 episódio de incontinência fecal por semana e nascimento à termo.

A seguir, foi processada uma rotação fatorial, que é um processo de ajuste dos eixos fatoriais para conseguir uma solução fatorial mais simples e pragmaticamente mais significativa, cujos fatores sejam mais facilmente interpretáveis. A Figura 1 apresenta a distribuição gráfica do resultado deste processo, com os escores do segundo fator *versus* os escores do primeiro fator. Esta análise permite detectar agrupamentos, outliers e tendências. O quadrante superior direito da figura indica variáveis que levam a uma mesma direção (sentido positivo x sentido positivo), indicando que as variáveis presentes nesse mesmo quadrante possuem efeitos próximos. Assim, observamos a presença neste quadrante do escore referente ao Intestinal Symptom Index (isipre) e dos escores referentes às principais alterações histopatológicas das amostras de reto, incluindo média de neurônios por gânglio (medianeurogang), número de neurônios em 25 gânglios (qneuron), número de gânglios gigantes (gangig) e plexos imaturos (plexoimat) e com células hipogênicas (plexohypo).

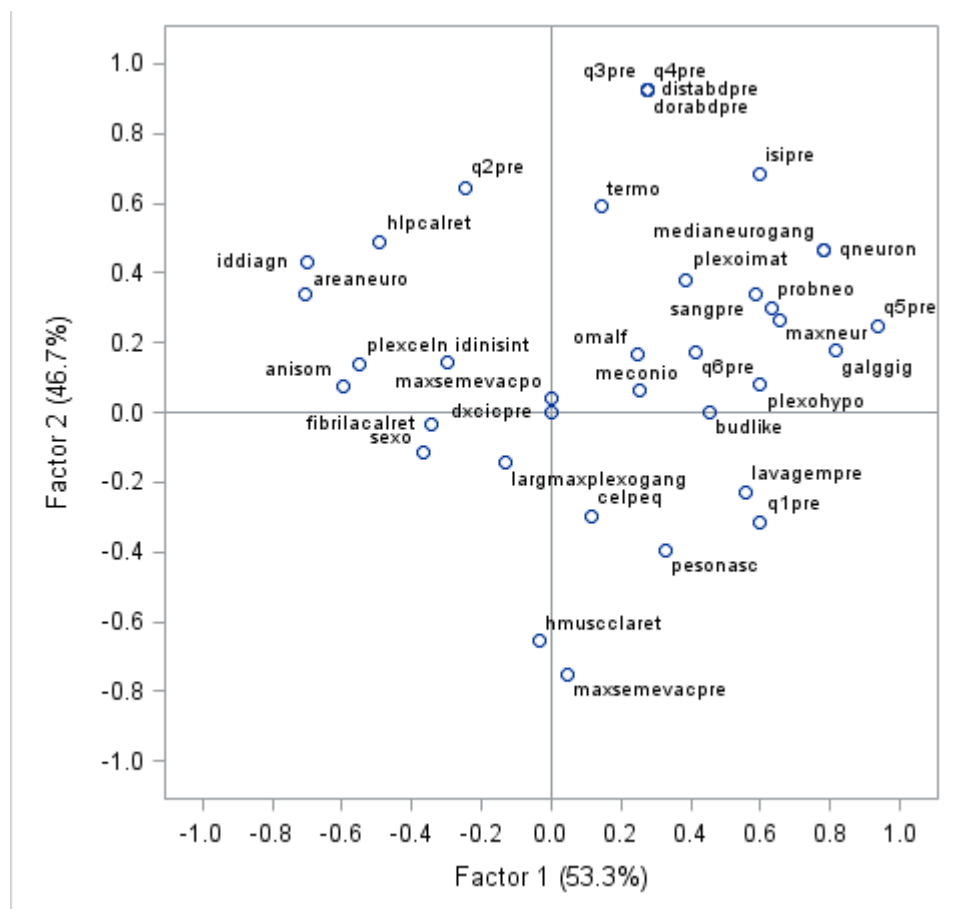


Figura 1. Gráfico de escores (Fator 1 x Fator 2)

3.5. Análises de regressão

A Tabela 9 apresenta os resultados de análises de regressão linear múltipla envolvendo como desfechos os valores de BowelFunction Score (BF-S)⁴⁷⁻⁴⁹, Intestinal Symptom Index (ISI)⁴², Escore de Templeton& Diteshein⁴³, Escala de Bristol⁴⁴⁻⁴⁶ modificada para crianças para análise da consistência das fezes e da Classificação de prognóstico⁵⁰, obtidos no momento da reavaliação em seguimento clínico de longo prazo, e como variáveis independentes as características da análise histopatológica das amostras de reto identificadas como associadas às variáveis clínicas de pré-operatório, pela análise de componentes principais com rotação fatorial (média de neurônios por gânglio, número de neurônios em 25 gânglios, número de gânglios gigantes, plexos com neurônios imaturos e plexos com células hipogênicas). Não foram observadas associações significativas entre as variáveis e os desfechos analisados.

Tabela 9: Regressões lineares múltiplas entre as variáveis independentes histopatológicas e os desfechos clínicos avaliados no momento da reavaliação a longo prazo.

Desfechos clínicos	R quadrado ajustado	Z	p *
Bowel Function Score (BF-S)	-1,00	0,409	0,800
Intestinal Symptom Index (ISI)	0,19	0,086	0,986
Escore de Templeton&Ditesheim	0,035	1,236	0,324
Escala de Bristol modificada para crianças para análise da consistência das fezes	-0,127	0,269	0,895
Classificação de prognóstico clínico de Tran et al. (2016)	-0,126	0,274	0,891

* p valor associado aos modelos de regressão linear múltipla.

A Tabela 10 apresenta os resultados de análises de regressão logística simples, tendo como desfechos o prognóstico clínico determinado pela classificação proposta por Tran et al., 2016⁵⁰ (Anexo 6), subdividido como tratamento bem sucedido (status funcional 1 e 2 da classificação) e tratamento sem sucesso (status funcional 3 da classificação) e como variáveis independentes as seguintes características da análise histopatológica das amostras de reto ou identificadas como associadas às variáveis clínicas de pré-operatório pela análise de componentes principais com rotação fatorial (média de neurônios por gânglio, número de neurônios em 25 gânglios, número de gânglios gigantes, plexos com neurônios imaturos e plexos com células hipogênicas). Não foram observadas associações significativas entre as variáveis e os desfechos analisados.

Tabela 10: Regressões logísticas simples entre as variáveis independentes histopatológicas e o desfecho de sucesso no tratamento, de acordo com a Classificação de Tran et al., 2016

Variáveis histopatológicas	B	Qui-quadrado de Wald	Graus de liberdade	Exp(B)	IC95%	p*
Média de neurônios por gânglio	-0,025	0,003	1	0,975	0,40 – 2,41	0,956
Quantidade de neurônios em 25 gânglios	-0,001	0,003	1	0,999	0,96 – 1,04	0,956
Quantidade de gânglios gigantes	0,077	0,125	1	1,079	0,71 – 1,65	0,723
Plexos imaturos	0,716	0,568	1	2,04	0,32 – 13,16	0,451
Plexos com células hipogenéticas	0,069	0,008	1	1,071	0,23 – 5,02	0,930

* p valor associado aos testes de regressão logística simples.

4. Discussão

A maior parte dos pacientes com DNI-B incluídos neste estudo é representada por indivíduos do sexo masculino, nascidos à termo, que não haviam apresentado outros problemas clínicos no período neonatal, nem outras malformações congênitas associadas. A maioria destes pacientes iniciou os sintomas da doença já no período neonatal, muitos com atraso para eliminação do mecônio. Desta forma, vários destes pacientes foram submetidos ao tratamento cirúrgico no primeiro ano de vida. Sete pacientes necessitaram de cirurgias em caráter de urgência por quadros de obstrução intestinal aguda ou enterocolite. Os outros 20 pacientes foram operados em caráter eletivo, após quadros de constipação intestinal grave, refratários aos tratamentos clínicos convencionais.

O tempo médio de reavaliação clínica foi próximo de 7 anos. Apesar de apresentarem indicadores claros de melhora do padrão evacuatório, principalmente aqueles relacionados à frequência evacuatória, nota-se que 40,7% destes pacientes mantinham o diagnóstico de CIC, pelos critérios de Roma IV^{40,41}, e 48,2% apresentavam incontinência fecal.

Com relação à análise histopatológica das peças cirúrgicas, todos os pacientes apresentavam as alterações compatíveis com o diagnóstico de DNI-B, caracterizadas por hiperplasia dos plexos nervosos do sistema nervoso entérico parassimpático⁵¹. Todos apresentavam, também, imunoexpressão para calretinina nos neurônios dos plexos.

A análise fatorial exploratória permitiu a investigação das relações entre os sintomas clínicos dos pacientes, presentes antes da instituição do tratamento e das principais características histopatológicas encontradas nas amostras de reto. Esta análise conseguiu determinar 2 fatores principais, capazes de representar quase a metade das variações explicadas. O Fator 1, responsável pela maior parte das variações explicadas, foi composto por variáveis histopatológicas e por algumas variáveis clínicas que podem ser consideradas como variáveis de gravidade como, por exemplo, a necessidade de realização de lavagens intestinais e a presença de evacuações com sangramento. O Fator 2, por outro lado, foi composto pelos principais sintomas clínicos apresentados pelos pacientes com DNI-B, inclusive pelos valores do Intestinal Symptom Index (ISI), que é um índice proposto para resumir estes sinais e sintomas mais comuns no curso clínico desta entidade patológica⁴². Após o procedimento de rotação fatorial, foi possível identificar associação entre os principais componentes destes 2 fatores, através de uma representação gráfica. Assim, ficou evidente as relações próximas existentes entre os valores do Intestinal Symptom Index (ISI) e as alterações histopatológicas

classicamente associadas à DNI-B, representadas principalmente pela hiperganglionose, identificadas pela média de neurônios por gânglio e pela quantidade de neurônios. Estes componentes levam a uma mesma direção no gráfico, contribuindo para um mesmo sentido clínico, nas relações investigadas entre sintomas e alterações histopatológicas. Estes achados são favoráveis ao entendimento de que realmente exista associação entre os sintomas clínicos e as alterações histopatológicas em pacientes com DNI-B. Isto reforça a teoria de que a DNI-B seja realmente uma doença, com sintomas específicos e alterações orgânicas determinadas no trato gastrointestinal.

Por outro lado, não foi possível determinar relações entre os desfechos clínicos pós-tratamento, analisados após seguimento clínico de longo prazo, e as alterações histopatológicas das amostras de reto, não sendo possível determinar que estas alterações influenciem diretamente no prognóstico clínico após a realização do tratamento. O fato de que todos os pacientes foram tratados por meio de ressecções cirúrgicas dos segmentos intestinais que apresentavam estas alterações histopatológicas pode ter influenciado nesta análise.

Algumas limitações precisam ser consideradas, particularmente as relacionadas ao desenho retrospectivo, e origem das informações clínicas obtidas no momento do diagnóstico de DNI-B, a partir da análise de prontuários médicos. O potencial viés relacionado aos diferentes intervalos de tempo, entre o momento do diagnóstico e o momento da reavaliação, pode ser considerado limitado, uma vez que houve um tempo mínimo de cinco anos para reavaliação. Outra limitação do estudo está relacionada à própria DNI-B e às inúmeras incertezas que cercam essa entidade patológica. Todos os pacientes incluídos no estudo haviam recebido o diagnóstico histopatológico de DNI-B com base nos critérios do Consenso de Frankfurt²². Apesar de esses critérios morfológicos serem os mais relatados nas publicações científicas sobre DNI-B^{24,30}, muitos autores vêm defendendo a necessidade de critérios quantitativos, relacionados ao número mínimo de neurônios presentes nos plexos nervosos da submucosa, para a confirmação diagnóstica de DNI-B^{24,25}. Os critérios para o diagnóstico histopatológico quantitativo de DNI-B, propostos por Meier-Ruge et al. (2004)⁵⁴, não foram utilizados porque dependem de material *a fresco*, para cortes de congelação e reações histoquímicas específicas. Entretanto, as características morfológicas que definem a DNI-B, independentemente do critério histopatológico utilizado, representadas por hiperplasia dos plexos nervosos submucosos⁵¹, estavam presentes em todos os casos analisados.

A incerteza relacionada à definição da DNI-B como doença é um dos pontos de maior polêmica nas publicações mais recentes sobre disganglionoses intestinais em crianças. Kapur & Reyes-Mugica (2019)³¹, em recente revisão sobre o assunto, concluem que a DNI-B continua sendo considerada como um fenótipo histopatológico indefinido, com relevância clínica incerta, e que é imprudente tomar decisões clínicas embasadas nesse diagnóstico histopatológico. Estes autores também criticam as publicações científicas mais recentes que

investigaram pacientes com esse diagnóstico, argumentando que elas vêm perpetuando o debate de conceitos duvidosos e polêmicos. Entretanto, na prática médica, continuamos a encontrar crianças com constipação intestinal grave ou com obstruções intestinais, que passam pela investigação diagnóstica para DH, através de biópsias de reto, e apresentam, na análise histopatológica, células ganglionares distribuídas em um padrão anormal nos plexos nervosos da submucosa, com sinais de hiperplasia. De maneira paradoxal, Kapur & Reyes- Mugica (2019)³¹, na mesma revisão em que rechaçam a existência da DNI-B, relatam que este tipo de achado histopatológico pode representar desvios da normalidade. Schmittenbecher et al. (2000)¹⁴ consideram que essas alterações histológicas determinam o diagnóstico da DNI-B, que deve ser considerada como uma entidade clínica, uma vez que os sintomas apresentados por esses pacientes são evidentes e muitas vezes se mantêm por vários anos, influenciando na sua qualidade de vida. Estes autores defendem que os pacientes com DNI-B devem ser tratados de maneira específica e destacam a necessidade da elaboração de algoritmos específicos de tratamento. A maioria dos especialistas presentes no 4º Simpósio Internacional de Doença de Hirschsprung e Neurocristopatias Associadas, que ocorreu em Genova, Itália, em 2004, Martucciello et al. (2005)³ e a maioria dos participantes de um levantamento recente da Associação Europeia de Cirurgiões Pediátricos⁵⁵ afirmam acreditar na existência da DNI-B, justificando a realização e a necessidade de estudos sobre essa doença.

Em meio a estas polêmicas, nosso estudo apresenta evidências de que haja associação entre os sinais e sintomas clínicos apresentados pelos pacientes com DNI-B, antes da instituição do tratamento cirúrgico e as alterações encontradas na análise histopatológica (morfológica e morfométrica) das amostras de reto destes pacientes. O conceito de doença é fundamentado como distúrbios de funções de um órgão, da psique ou do organismo como um todo, associado a sinais e sintomas específicos^{56,57}. Estas relações, comprovadas nesta série de casos de pacientes com DNI-B, entre sintomas e alterações orgânicas do trato gastrointestinal, parecem ser o elo para o entendimento de que realmente a DNI-B seja uma doença, justificando a necessidade de aprimoramento de seus métodos e critérios diagnósticos, bem como do estabelecimento da melhor forma de tratamento. Esperamos que este estudo possa estimular a realização de novas investigações científicas sobre esta doença, melhorando os cuidados clínicos destes pacientes.

5. Conclusões

Há associação entre os achados histopatológicos, identificados em pacientes com DNI-B, e os sintomas clínicos presentes no momento do diagnóstico. Por outro lado, não foram identificadas associações entre estas mesmas variáveis histopatológicas e os indicadores clínicos e de função intestinal avaliados à longo prazo.

6. Referências Bibliográficas

1. Knowles CH, De Giorgio R, Kapur RP, Bruder E, Farrugia G, Geboes K, Lindberg G, Martin JE, Meier-Ruge WA, Milla PJ, Smith VV, Vandervinden JM, Veress B, Wedel T. The London Classification of gastrointestinal neuromuscular pathology: report on behalf of the Gastro 2009 International Working Group. *Gut*. 2010; 59(7):882-7.
2. Holschneider AM, Puri P, Homrighausen LH, Meier-Ruge W. Intestinal Neuronal Malformation (IND): Clinical Experience and Treatment. In: Holschneider AM, Puri P, editors. *Hirschsprung's disease and allied disorders*. 3rd ed. Berlin Heidelberg New York: Springer; 2008; 229-51.
3. Martucciello G, Pini Prato A, Puri P, Holschneider AM, Meier-Ruge W, Jasonni V, Tovar JA, Grosfeld JL. Controversies concerning diagnostic guidelines for anomalies of the enteric nervous system: a report from the Fourth International Symposium on Hirschsprung's disease and related neurocristopathies. *J PediatrSurg*. 2005; 40(10):1527-31.
4. Hatano M, Aoki T, Dezawa M, Yusa S, Iitsuka Y, Koseki H, Taniguchi M, Tokuhisa T. A novel pathogenesis of megacolon in Ncx/Hox11L.1 deficient mice. *J Clin Invest*. 1997; 100(4):795-801.
5. Yanai T, Kobayashi H, Yamataka A, Lane GJ, Miyano T, Hayakawa T, Satoh K, Kase Y, Hatano M. Acetylcholine-related bowel dysmotility in homozygous mutant NCX/HOX11L.1-deficient (NCX-/-) mice-evidence that acetylcholine is implicated in causing intestinal neuronal dysplasia. *J PediatrSurg*. 2004; 39(6):927-30.
6. Sacher P, Briner J, Hanimann B. Is neuronal intestinal dysplasia (NID) a primary disease or a secondary phenomenon? *Eur J PediatrSurg*. 1993; 3(4):228-30.
7. Holschneider AM, Pfrommer W, Gerresheim B. Results in the treatment of anorectal malformations with special regard to the histology of the rectal pouch. *Eur J PediatrSurg*. 1994; 4(5):303-9.
8. Csury L, Peña A. Intestinal neuronal dysplasia. *PediatrSurg Int*. 1995; 10:441-6.
9. Schofield DE, Yunis EJ. Intestinal neuronal dysplasia. *J PediatrGastroenterolNutr* 1991; 12:182-89.
10. Lumb PD, Moore L. Are giant ganglia a reliable marker of intestinal neuronal dysplasia type B (IND B)? *VirchowsArch*. 1998; 432(2):103-6.
11. Pickard LR, Santoro S, Wyllie RG, Haller JA Jr. Histochemical studies of experimental fetal intestinal obstruction. *J Pediatr Surg*. 1981; 16(3):256-60.
12. Gálvez Y, Skába R, Vajtrová R, Frantlová A, Herget J. Evidence of secondary neuronal intestinal dysplasia in a rat model of chronic intestinal obstruction. *J InvestSurg*. 2004; 17(1):31-9.

13. Pini-Prato A, Avanzini S, Gentilino V, Martucciello G, Mattioli G, Coccia C, Parodi S, Bisio GM, Jasonni V. Rectal suction biopsy in the workup of childhood chronic constipation: indications and diagnostic value. *PediatrSurg Int.* 2007; 23(2):117-22.
14. Schmittenebecher PP, Glück M, Wiebecke B, Meier-Ruge W. Clinical long-term follow-up results in intestinal neuronal dysplasia (IND). *Eur J PediatrSurg.* 2000; 10(1):17-22.
15. Mattioli G, Castagnetti M, Martucciello G, Jasonni V. Results of a mechanical Duhamel pull-through for the treatment of Hirschsprung's disease and intestinal neuronal dysplasia. *J PediatrSurg.* 2004; 39(9):1349-55.
16. Sacher P, Briner J, Stauffer UG. Unusual cases of neuronal intestinal dysplasia. *PediatrSurg Int.* 1991; 6:225-6.
17. Jáquez-Quintana JO, González-González JA, Arana-Guajardo AC, Larralde-Contreras L, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado-Garza HJ. Sigmoid volvulus as a presentation of neuronal intestinal dysplasia type B in an adolescent. *RevEspEnferm Dig.* 2013; 105(3):178-9.
18. Meier-Ruge WA, Brönnimann PB, Gambazzi F, Schmid PC, Schmidt CP, Stoss F. Histopathological criteria for intestinal neuronal dysplasia of the submucosal plexus (type B). *VirchowsArch.* 1995; 426(6):549-56.
19. Kobayashi H, Hirakawa H, Puri P. What are the diagnostic criteria for intestinal neuronal dysplasia? *PediatrSurg Int.* 1995; 10:459-64.
20. Meier-Ruge WA. Casuistic of colon disorder with symptoms of Hirschsprung's disease(author's transl). *VerhDtschGesPathol.* 1971; 55:506-10.
21. Schärli AF, Meier-Ruge W. Localised and disseminated forms of neuronal intestinal dysplasia mimicking Hirschsprung's disease. *J PediatrSurg Int.* 1981; 16:164-70.
22. Borchard F, Meier-Ruge W, Wiebecke B, Briner J, Müntefering H, Födisch HF, Holschneider AM, Schmidt A, Enck P, Stolte M. Disorders of the innervation of the large intestine--classification and diagnosis. Results of a consensus conference of the Society of Gastroenteropathology 1 December 1990 in Frankfurt. *Pathologie.* 1991; 12(3):171-4.
23. Mahesha V, Saikia UN, Shubha AV, Rao KL. Intestinal neuronal dysplasia of the myenteric plexus--new entity in humans? *Eur J PediatrSurg.* 2008; 18(1):59-60.
24. Meier-Ruge WA, Bruder E, Kapur RP. Intestinal neuronal dysplasia type B: one giant ganglion is not good enough. *PediatrDevPathol.* 2006; 9(6):444-52.
25. Schimpl G, Uray E, Ratschek M, Höllwarth ME. Constipation and intestinal neuronal dysplasia type B: a clinical follow-up study. *J PediatrGastroenterol Nutr.* 2004; 38(3):308-11.
26. Schärli AF. Neuronal Intestinal dysplasia. *PediatrSurg Int.* 1992; 7:2-7.

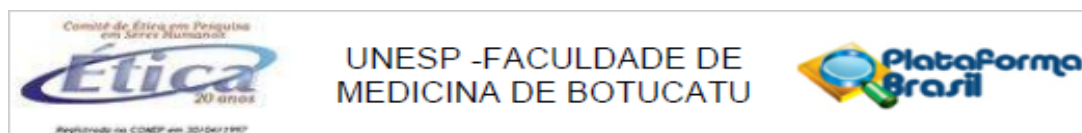
27. Tang ST, Yang Y, Wang GB, Tong QS, Mao YZ, Wang Y, Li SW, Ruan QL. Laparoscopic extensive colectomy with transanal Soave pull-through for intestinal neuronal dysplasia in 17 children. *World J Pediatr*. 2010; 6(1):50-4.
28. Briner J, Oswald HW, Hirsig J, Lehner M. Neuronal intestinal dysplasia--clinical and histochemical findings and its association with Hirschsprung's disease. *Z Kinderchir*. 1986; 41(5):282-6.
29. Rintala R, Rapola J, Louhimo J. Neuronal intestinal dysplasia. *Prog Pediatr Surg*; 1989; 24:186-92.
30. Friedmacher F, Puri P. Classification and diagnostic criteria of variants of Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int*. 2013; 29(9):855-72.
31. Kapur RP, Reyes-Mugica M. Intestinal neuronal dysplasia type B: an updated review of a problematic diagnosis. *Arch Pathol Lab Med*. 2018 Aug 8. doi: 10.5858/arpa.2017-0524-RA.
32. de Arruda Lourenção, PLT, Ortolan, EVP, Rosa, LLM, Angelini, MC, Cassettari, VMG, Terra, SA, & Rodrigues, M. A. M. (2021). What should be the treatment for intestinal neuronal dysplasia type B? A comparative long-term follow-up study. *Journal of Pediatric Surgery*, 56(9), 1611-1617.
33. Coerdts W, Michel JS, Rippin G, Kletzki S, Gerein V, Müntefering H, Arnemann J. Quantitative morphometric analysis of the submucous plexus in age-related control groups. *Virchows Arch*. 2004; 444(3):239-46.
34. Koletzko S, Ballauff A, Hadziselimovic F, Enck P. Is histological diagnosis of neuronal intestinal dysplasia related to clinical and manometric findings in constipated children? Results of a pilot study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1993; 17(1):59-65.
35. Ure BM, Holschneider AM, Meier-Ruge W. Neuronal intestinal dysplasia malformations: a retrospective and prospective study in 203 patients. *Eur J Pediatr Surg*. 1994; 4:279-86.
36. Berry CL. Intestinal neuronal dysplasia: does it exist or has it been invented? *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1993; 422(3):183-4.
37. de la Torre Mondragón L, Reyes-Múgica M (2006) R.I.P. for IND B. *Pediatr and Develop Pathol*. 2006; 9(6): 425-6.
38. Schäppi MG, Staiano A, Milla PJ, Smith VV, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, Mearin ML, Papadopoulou A, Ruemmele FM, Vandenoplas Y, Koletzko S. A practical guide for the diagnosis of primary enteric nervous system disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013; 57(5):677-86.
39. Toledo de Arruda Lourenção PL, Terra SA, Ortolan EV, Rodrigues MA. Intestinal neuronal dysplasia type B: A still little known diagnosis for organic causes of intestinal chronic constipation. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2016 Aug 6; 7(3):397-405.

40. Benninga MA, Faure C, Hyman PE, St James Roberts I, Schechter NL, Nurko S. Childhood Functional Gastrointestinal Disorders: Neonate/Toddler. *Gastroenterology*. 2016 Feb 15. pii: S0016-5085(16)00182-7. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.016. [Epub ahead of print]
41. Hyams JS, Di Lorenzo C, Saps M, Shulman RJ, Staiano A, van Tilburg M. Functional Disorders: Children and Adolescents. *Gastroenterology*. 2016 Feb 15. pii: S0016- 5085(16)00181-5.
42. Lourenção PLTA, Ortolan EVP, Rosa LLM, Angelini MC, Terra SA, Rodrigues MAM. Long-term follow-up of patients with intestinal neuronal dysplasia type B: Protocol for an observational, ambispective, and comparative study. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jul;96(28):e7485.
43. Templeton JM Jr, Ditesheim JA. High imperforate anus--quantitative results of long-term fecal continence. *J PediatrSurg*. 1985 Dec; 20(6):645-52.
44. Chumpitazi BP, Lane MM, Czyzewski DI, Weidler EM, Swank PR, Shulman RJ. Creation and initial evaluation of a Stool Form Scale for children. *J Pediatr*. 2010;157:594-7.
45. Lane MM, Czyzewski DI, Chumpitazi BP, Shulman RJ. Reliability and validity of a modified Bristol Stool Form Scale for children. *J Pediatr*. 2011;159:437-41.
46. Jozala DR, Oliveira ISF, Ortolan EVP, Oliveira Junior WE, Comes GT, Cassettari VMG, et al. Brazilian Portuguese translation, cross-cultural adaptation and reproducibility assessment of the modified Bristol Stool Form Scale for children. *J Pediatr (Rio J)*. 2018 Mar 15. pii: S0021-7557(17)31151-8. doi: 10.1016/j.jped.2018.01.006.
47. Rintala RJ, Lindahl H. Is normal bowel function possible after repair of intermediate and high anorectal malformations? *J PediatrSurg*. 1995;30:491-4.
48. Jarvi K, Laitakari EM, Koivusalo A, Rintala RJ, Pakarinen MP. Bowel function and gastrointestinal quality of life among adults operated for Hirschsprung disease during childhood: a population-based study. *Ann Surg*. 2010;252:977–81.
49. Fernández Ibieta M, Sánchez Morote JM, Martínez Castaño I, CabrejosPerotti K, Reyes Ríos P, Rojas Ticona J, et al. Quality of life and long term results in Hirschsprung's disease (Article in Spanish). *Cir Pediatr*. 2014;27:117-24. Spanish.
50. Tran K, Staller K, Macklin E, Goldstein A, Belkind-Gerson J, Kuo B. Need for rectal biopsy for childhood constipation predicts severity of illness and need for laxatives. *J PediatrGastroenterol Nutr*. 2016;62:834-9.
51. Terra SA, Lourenção PLTA, Silvia MG, Miot HA, Rodrigues MAM. A critical appraisal of the morphological criteria for diagnosing intestinal neuronal dysplasia type B. *Mod Pathol*. 2017;30:978-85.
52. Costello, AB; Osborne, JW. Best practices in exploratory factor analysis: Four recommendations for getting the most from your analysis. *PracticalAssessmentResearch&Evaluation*, 10, 7, p. 13-24, 2005.

53. Laros, JA, O uso da análise fatorial: algumas diretrizes para pesquisadores. Em L. Pasquali (Org.). *Análise fatorial para pesquisadores*. p. 163-184. Brasília: LabPAM, (2006).
54. Meier-Ruge WA, Ammann K, Bruder E, Holschneider AM, Schärli AF, Schmittenebecher PP, Stoss F. Updated results on intestinal neuronal dysplasia (IND B). *Eur J PediatrSurg*. 2004; 14(6):384-91.
55. Zani A, Eaton S, Morini F, Puri P, Rintala R, Heurn EV, Lukac M, BagolanP, Kuebler JF, Friedmacher F, Wijnen R, Tovar JA, Hoellwarth ME, PierroA; EUPSA Network Office. European Paediatric Surgeons' Association Survey on the Management of Hirschsprung Disease.*Eur J PediatrSurg*. 2017 Feb;27(1):96-101.
56. Stedman, TL. *Stedman's Medical Dictionary*. 28ª ed. Filadélfia: Editora Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
57. Dorland, WA. Newman. *Dicionário Médico Ilustrado Dorland*, 1ª ed. Barueri: Editora Manole; 1999.

7. Anexos

Anexo 1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação da relação entre achados clínicos e histopatológicos em pacientes com Displasia Neuronal Intestinal tipo B.

Pesquisador: ANDERSON CESAR GONCALVES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 80018217.1.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Cirurgia e Ortopedia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.425.231

Apresentação do Projeto:

Projeto destinado a obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

A Displasia Neuronal Intestinal do tipo B (DNI-B) é uma entidade patológica, do grupo das doenças neuromusculares gastrointestinais, caracterizada por complexas alterações do sistema nervoso entérico. Na maioria dos casos, este diagnóstico é realizado a partir da análise histopatológica das biópsias de reto de pacientes que apresentam constipação intestinal, habitualmente refratária a tratamento clínico, demonstrando sinais de hiperplasia dos plexos nervosos da submucosa. Apesar de intensa investigação científica realizada, ainda restam lacunas no que diz respeito a definição, etiopatogenia, critérios diagnósticos e possibilidades terapêuticas para DNI-B. A indefinição sobre a relação causal entre os achados histológicos e os sintomas clínicos vem sendo apontada como o principal ponto a ser elucidado. Este parece ser o elo ainda pendente para a real caracterização da DNI-B como uma doença e para o estabelecimento definitivo de seus critérios diagnósticos e possibilidades terapêuticas. Por tudo isso, nós decidimos investigar a correlação entre os achados histopatológicos, identificados em pacientes com DNI-B, e os sintomas clínicos presentes no momento do diagnóstico e após seguimento clínico de longo prazo.

Trata-se de um estudo de centro único, retrospectivo, analítico e de correlação. Este estudo será desenvolvido na Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. Assim, elaboramos estudo de centro único, retrospectivo, analítico e de correlação. Serão incluídos 29 pacientes, com idade entre 0 e 15 anos, que tiveram diagnóstico de DNI-B estabelecido por meio de análise histopatológica de

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

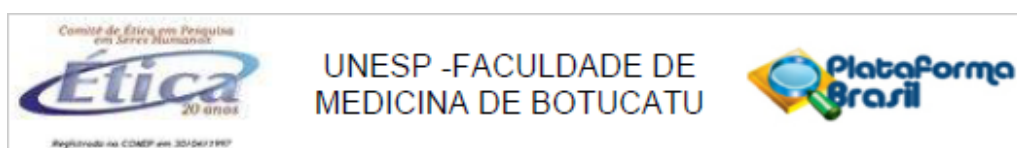
UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.425.231

biópsias do reto, e que haviam sido, posteriormente, submetidos a tratamento cirúrgico, por meio de ressecções extensas do cólon e do reto. Serão analisadas informações dos prontuários médicos para obtenção de dados clínicos relacionados aos sintomas apresentados antes do tratamento. Serão analisadas, também, informações clínicas referentes ao seguimento clínico a longo prazo destes pacientes, obtidas após um intervalo de tempo mínimo de 5 anos após o tratamento cirúrgico. Estas informações incluem dados relacionados ao resultado funcional do hábito intestinal e à qualidade de vida e os resultados da aplicação de índices para mensuração dos resultados do tratamento instituído. Além disso, serão recuperadas informações da análise histopatológica pormenorizada das peças cirúrgicas destes mesmos pacientes, incluindo a análise descritiva e morfométrica quantitativa dos plexos nervosos da submucosa. Será realizada análise de correlação entre as principais variáveis clínicas identificadas no momento do diagnóstico e no momento da reavaliação em longo prazo e as variáveis histopatológicas analisadas nas peças cirúrgicas.

Objetivo da Pesquisa:

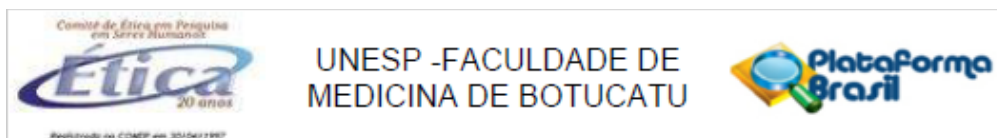
Hipótese: Existe correlação entre os sintomas clínicos e as alterações histopatológicas identificadas em fragmentos de reto de pacientes com Displasia Neuronal Intestinal do tipo B.

Objetivo Primário: Investigar a correlação entre os achados histopatológicos, identificados em pacientes com DNI-B, e os sintomas clínicos presentes no momento do diagnóstico e após seguimento clínico de longo prazo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Somente os relacionados à identidade dos pacientes, será garantido sigilo desta identidade em eventuais publicações científicas resultantes deste projeto de pesquisa. Benefícios: Relacionados ao aumento do conhecimento científico sobre esta entidade patológica ainda pouco conhecida. Ao final do estudo, espera-se que possam ser determinadas relações entre os sintomas clínicos apresentados pelos pacientes e as alterações identificadas na análise histopatológica das peças cirúrgicas. Este pode ser um passo fundamental para a caracterização da relação de causalidade entre as alterações presentes nos plexos nervosos submucosos na DNI-B com os sintomas apresentados por estes pacientes, confirmando a hipótese de que a DNI-B seja realmente uma entidade clínica e não apenas um fenótipo morfológico.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609	E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.425.231

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Dados provenientes de prontuários médicos e dados já obtidos nos estudos anteriores: "Seguimento clínico a longo prazo de crianças com displasia neuronal intestinal", registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob nº RBR-8r3b7y, já aprovado por este CEP (nº CAAE 11520712.6.0000.5411) e "Displasia Neuronal Intestinal: Análise de Critérios Morfológicos e Comparação de Métodos Diagnósticos", também já aprovado neste CE (nº CAAE 46521315.2.0000.5411)

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados os termos necessários para o desenvolvimento da pesquisa.

Solicitado a dispensa do TCLE com a justificativa:

O estudo compreende apenas a análise secundária de dados resultantes de dois projetos de pesquisa já aprovados pelo CEP. A identidade dos pacientes incluídos será preservada em eventuais publicações científicas resultantes deste projeto. Além disso, a grande maioria destes pacientes não faz mais seguimento clínico em nossa instituição. Muitos são de cidades muito distantes e também já não tem mais os seus endereços e telefones atualizados, dificultando, em muito, o contato para obtenção do TCLE.

Recomendações:

Aprovação sem necessidade de envio à CONEP. Com aceite da justificativa de dispensa do TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovação sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

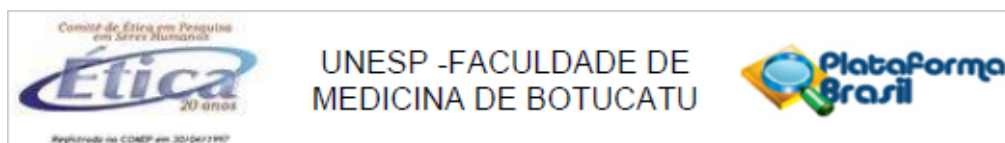
Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 04 dezembro de 2017, o projeto encontra-se APROVADO, sem necessidade de envio à CONEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa, no entanto, informa que ao final da execução da pesquisa, seja enviado o "Relatório Final de Atividades", na forma de "Notificação", via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Endereço: Chácara Butignolli, s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609	E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.425.231

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_992310.pdf	10/11/2017 12:41:19		Aceito
Outros	declaracao_ciencia_uso_dados_simone.pdf	10/11/2017 12:40:19	Pedro Luiz Toledo de Aruda Lourenção	Aceito
Outros	declaracao_ciencia_uso_dados_pedro.pdf	10/11/2017 12:39:57	Pedro Luiz Toledo de Aruda Lourenção	Aceito
Outros	termo_anuencia_anderson.pdf	10/11/2017 12:39:38	Pedro Luiz Toledo de Aruda Lourenção	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_anderson.pdf	10/11/2017 12:33:11	Pedro Luiz Toledo de Aruda Lourenção	Aceito
Folha de Rosto	plat_brasil_anderson.Pdf	10/11/2017 12:31:12	Pedro Luiz Toledo de Aruda Lourenção	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 08 de Dezembro de 2017

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Anexo 2**Índice de Sintomas Intestinais (ISI)**

Sintomas	Pontuação (0 – 7 pontos)
< 2 evacuações por semana	1 ponto
> 1 episódio de incontinência fecal por semana	1 ponto
esforço intenso às evacuações	1 ponto
eliminação de fezes volumosas, que entopem o vaso sanitário	1 ponto
episódios de sangramento às evacuações	1 ponto
necessidade de lavagens intestinais frequentes	1 ponto
episódios de dor abdominal	1 ponto

* Adaptado de Lourenção PLTA, Ortolan EVP, Rosa LLM, Angelini MC, Terra SA, Rodrigues MAM. Long-term follow-up of patients with intestinal neuronal dysplasia type B: Protocol for an observational, ambispective, and comparative study. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jul;96(28):e7485.

Anexo 3

Avaliação Quantitativa de Incontinência Fecal Escore Templeton&Ditesheim, 1985*

1. Treinamento de toilet para evacuações	
(A) bem sucedido	1.0
(B) às vezes bem sucedido (tem consciência da evacuação iminente)	0.5
(C) sem consciência da evacuação iminente	0
2. Acidentes	
(A) sem acidentes ou raros	1.0
(B) 3 acidentes por semana, ou menos	0.5
(C) mais de 3 acidentes por semana	0
3. Necessidade de reforço de roupas íntimas ou forros	
(A) nunca	1.0
(B) somente quando apresenta diarreia	0.5
(C) sempre	0
4. Problemas sociais	
(A) nenhum	1.0
(B) odor é infrequente: não perde escola, mas não dorme fora de casa	0.5
(C) odor é frequente: afeta escola e brincadeiras	0
5. Restrição de atividades	
(A) nenhuma	0.5
(B) evita natação, esportes...	0
6. Dermatite perianal (assaduras)	
(A) não são problemas habituais	0.5
(B) são problemas frequentes	0
Pontuação: 0-5	

* Adaptado de Templeton JM Jr, Ditesheim JA. High imperforate anus--quantitative results of long-term fecal continence. J PediatrSurg. 1985 Dec;20(6):645-52.

Anexo 4**Escala de Bristol de Consistência das fezes modificada para crianças (mBSFS-C) ***

- 1)  BOLINHAS BEM DURAS, SEPARADAS UMAS DAS OUTRAS E DIFÍCEIS DE SAIR
- 2)  UMA MASSA DURA COM PELOTAS
- 3)  UMA BANANA MACIA E SUAVE
- 4)  PEDAÇOS MOLES E IRREGULARES, UM COCÔ MOLE
- 5)  COCÔ SEM PEDAÇOS SÓLIDOS, TIPO ÁGUA

* Versão traduzida e adaptada transculturalmente para a língua portuguesa do Brasil de Chumpitazi BP, Lane MM, Czyzewski DI, Weidler EM, Swank PR, Shulman RJ. Creation and initial evaluation of a stool form scale for children. J Pediatr 2010;157: 594-7 e Lane MM, Czyzewski DI, Chumpitazi BP, Shulman RJ. Reliability and validity of a modified Bristol Stool Form Scale for children. J Pediatr 2011;159:437-41.

Anexo 5**BowelFunction Score (BF-S)**

Fator	Escore
Capacidade de conter a defecação	
- sempre	3
- problemas < 1x/semana	2
- problemas semanais	1
- sem controle voluntário	0
Sente a vontade de defecar	
- sempre	3
- a maior parte das vezes	2
- incerto	1
- ausente	0
Frequência de evacuações	
- todos os dias à duas vezes por dia	2
- mais frequentemente	1
- menos frequentemente	1
Episódios de perdas fecais	
- nunca	3
- “borra” < 1x/semana, sem necessidade de trocar roupa	2

Íntima	
- “borra” e tem perdas frequentes, precisa trocar roupa íntima	1
- perdas diárias, precisa de uso de protetores de roupa íntima	0
Acidentes	
- nunca	3
- < 1x/semana	2
- semanais, frequentemente uso de protetores de roupa íntima	1
- diários, uso de protetores de roupa íntima de dia e a noite	0
Constipação	
- sem constipação	3
- tratada com dieta	2
- tratada com laxantes	1
- tratada com lavagens intestinais	0
Problemas sociais	
- sem problemas sociais	3
- algumas vezes (cheiros desagradáveis)	2
- problemas causando restrições na vida social	1
- problemas sociais maiores/ problemas psicológicos	0

* Adaptado de Jarvi K, Laitakari EM, Koivusalo A, et al. Bowel function and gastrointestinal quality of life among adults operated for Hirschsprung disease during childhood: a population-based study. Ann Surg 2010;252:977–81.

Anexo 6**Classificação de prognóstico clínico proposta por Tran et al. (2016)**

Status funcional	Descrição
1	Tratamento bem sucedido*, sem o uso de laxantes
2	Tratamento bem sucedido*, porém dependente do uso de laxantes.
3	Não preenche os critérios de tratamento bem sucedido*, com ou sem uso de laxantes

* *Tratamento bem sucedido: paciente que apresenta, por um período de no mínimo 4 semanas, mais do que 3 episódios de evacuações por semana, sem dor para evacuar e sem episódios de incontinência fecal*

* Adaptado de Lourenção PLTA, Ortolan EVP, Rosa LLM, Angelini MC, Terra SA, Rodrigues MAM. Long-term follow-up of patients with intestinal neuronal dysplasia type B: Protocol for an observational, ambispective, and comparative study. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jul;96(28):e7485.

Capítulo III

***"Doença de Hirschsprung x Displasia Neuronal
Intestinal Tipo B: existe diferença na apresentação
clínica destas duas patologias?"***

Resumo

Introdução: As manifestações clínicas da Doença de Hirschsprung (DH) e a Displasia Neuronal Intestinal tipo B (DNI-B) são consideradas como semelhantes, parte de um mesmo espectro clínico. No entanto, não há estudos que tenham investigado as potenciais diferenças entre as manifestações clínicas apresentadas por pacientes com DH e com DNI-B. Nós decidimos comparar as manifestações clínicas apresentadas por pacientes com DH e com DNI-B, no momento do estabelecimento do diagnóstico etiológico. **Pacientes e métodos:** Foi realizado um estudo de centro único, retrospectivo, analítico e comparativo. Foram incluídos 119 pacientes com idade entre 0 e 15 anos, que haviam recebido diagnóstico de DH ou DNI-B por meio da análise histopatológica de biópsias de reto, no período de 1998 a 2010. Foram recuperadas as informações dos prontuários médicos destes pacientes, para obtenção de informações demográficas e clínicas, presentes no momento do diagnóstico. Os dados foram comparados estatisticamente, de acordo com as características das variáveis, utilizando-se os testes de Fischer, Qui-quadrado com correção de Yates, Binomial, Mann-Whitney e T de Student. O nível de significância foi de 5%. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local. **Resultados:** 69 pacientes (58.0%) haviam recebido o diagnóstico DH e 50 (42.0%) o de DNI-B. O grupo DH apresentou um número significativamente maior de indivíduos com início dos sintomas no período neonatal ($p = 0,001$), atraso para eliminação de mecônio ($p < 0,001$), déficit para ganho de peso ($p = 0,02$), e que evoluíram com complicações agudas, como enterocolite ($p = 0,049$) ou abdome agudo obstrutivo ($p = 0,031$), necessitando mais comumente de cirurgias de urgência ($p < 0,001$). Os pacientes com DNI-B foram diagnosticados em idades significativamente maiores ($p = 0,002$) e mais comumente tiveram como principal sintoma, quadros crônicos de constipação intestinal ($p = 0,004$), com complicações locais como sangramento evacuatório ($p = 0,007$). **Conclusão:** Houve diferenças significativas entre o quadro clínico apresentado por pacientes com DH e com DNI-B no momento do diagnóstico etiológico. O conhecimento do quadro clínico mais comumente apresentado para cada uma destas etiologias tem potencial para auxiliar no direcionamento das medidas iniciais, diagnósticas e terapêuticas, que são individualizadas para cada uma destas doenças.

Abstract

Introduction: The clinical manifestations of Hirschsprung's Disease (HD) and Intestinal Neuronal Dysplasia type B (IND-B) are considered to be similar, part of the same clinical spectrum. However, there are no studies that have investigated the potential differences between the clinical manifestations presented by patients with HD and with IND-B. We decided to compare the clinical manifestations presented by patients with HD and with IND-B at the time of establishing the etiologic diagnosis. **Patients and methods:** A single-center, retrospective, analytical, comparative study was performed. We included 119 patients aged 0 to 15 years, who had been diagnosed with HD or IND-B by histopathological analysis of rectal biopsies from 1998 to 2010. Information from the medical records of these patients was retrieved to obtain demographic and clinical information present at the time of diagnosis. The data were compared statistically, according to the characteristics of the variables, using the Fischer, Chi-square with Yates correction, Binomial, Mann-Whitney and Student's t tests. The significance level was 5%. The study was approved by the local Ethics Committee. **Results:** 69 patients (58.0%) had been diagnosed with HD and 50 (42.0%) with IND-B. The HD group had significantly more individuals with symptom onset in the neonatal period ($p = 0.001$), delayed meconium clearance ($p < 0.001$), weight gain deficit ($p = 0.02$), and who evolved with acute complications such as enterocolitis ($p = 0.049$) or acute obstructive abdomen ($p = 0.031$), more commonly requiring emergency surgery ($p < 0.001$). Patients with IND-B were diagnosed at significantly older ages ($p = 0.002$) and more commonly had chronic constipation as their main symptom ($p = 0.004$), with local complications such as evacuative bleeding ($p = 0.007$). **Conclusion:** There were significant differences between the clinical picture presented by HD and IND-B patients at the time of etiologic diagnosis. Knowledge of the clinical picture most commonly presented for each of these etiologies has the potential to assist in directing the initial, diagnostic and therapeutic measures, which are individualized for each of these diseases.

1. Introdução

A Doença de Hirschsprung (DH) e a Displasia Neuronal Intestinal do tipo B (DNI-B) são duas disganglionoses intestinais que se apresentam dentro de um mesmo espectro clínico, com constipação intestinal grave na infância, acompanhadas ou não por complicações como obstrução intestinal aguda ou quadros de enterocolite¹⁻⁴. Apesar de os principais sinais e sintomas que compõem a apresentação clínica de cada uma destas duas doenças serem bem estabelecidos na literatura, não há estudos que tenham comparado as principais características clínicas apresentadas por séries de casos de pacientes com DH e com DNI-B. O diagnóstico diferencial entre estas duas etiologias é fundamental, uma vez o plano terapêutico é distinto para cada uma delas^{5,6}. No entanto, atualmente, esta diferenciação está embasada, exclusivamente, na análise histopatológica das biópsias de reto.

Por tudo isso, nós decidimos comparar aspectos clínicos e demográficos apresentados por pacientes com DH e com DNI-B, no momento do estabelecimento do diagnóstico etiológico.

2. Pacientes e Métodos

a. Cenário e Delineamento

Foi realizado um estudo de centro único, retrospectivo, analítico e comparativo. Foram incluídos 119 pacientes, com idade entre 0 e 15 anos, que haviam recebido diagnóstico de DH ou DNI-B por meio da análise histopatológica de biópsias de reto no período de 1998 a 2010, no Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP (HC-FMB-UNESP). O diagnóstico histopatológico de DH havia sido estabelecido a partir da ausência de células ganglionares nos plexos nervosos submucosos e mioentéricos do reto distal⁴³ e o de DNI-B havia sido estabelecido de acordo com os critérios morfológicos propostos pelo Consenso de Frankfurt (1990)⁷.

Estes pacientes foram estratificados em 2 grupos, de acordo com o resultado da análise histopatológica das biópsias do reto:

- Grupo DH: composto por 69 pacientes com diagnóstico histopatológico de DH;
- Grupo DNI-B: composto por 50 pacientes com diagnóstico histopatológico de DNI-B.

b. Obtenção dos dados

Foram recuperadas as informações dos prontuários médicos dos pacientes, obtidos no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do HC-FMB-UNESP. Os seguintes dados foram recuperados e tabulados:

- 1) informações clínicas e demográficas: sexo, idade gestacional, peso ao nascimento, idade do início dos sintomas e idade no momento do diagnóstico;
- 2) informações sobre a evolução clínica no período neonatal: presença de sintomas intestinais, atraso na eliminação de mecônio, presença de malformações associadas;
- 3) informações clínicas presentes no momento do diagnóstico histopatológico: sintomas relacionados ao hábito intestinal (frequência evacuatória, episódios de evacuações dolorosas ou com esforço, sangramento evacuatório, dor abdominal presença de fecaloma, necessidade de lavagens intestinais e incontinência fecal), presença de episódios de enterocolite e/ou de obstrução intestinal aguda e a necessidade de realização de cirurgia em caráter de urgência;
- 4) resultados de exames complementares de triagem diagnóstica: manometria anorretal e enema opaco.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (CAAE nº 55763722.3.0000.5411) (Anexo 1), com dispensa da necessidade de obtenção do termo de consentimento.

c. Análise dos resultados

Foi realizada análise comparativa entre os grupos. Dados numéricos foram apresentados pelos valores de média $\pm$ desvios-padrão ou mediana (desvio interquartilico), de acordo com o tipo de distribuição de normalidade dos dados, previamente avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Proporções foram apresentadas como porcentagens e seus respectivos intervalos de confiança. A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se diferentes testes estatísticos, de acordo com os tipos de variáveis analisadas. Variáveis nominais foram analisadas pelos Teste de Fischer ou Qui-quadrado com correção de Yates. A comparação entre diferentes proporções foi realizada pelo Teste Binomial. Variáveis numéricas contínuas de distribuição não-paramétrica foram comparadas pelo Teste de Mann-Whitney e as de distribuição paramétrica foram comparadas pelo Teste T de Student. Relações e diferenças foram consideradas significativas se $p < 0,05$. A análise foi realizada com o software SPSS v. 22.0., IBM Corp, Armonk, New York, USA. Os resultados foram sumarizados graficamente utilizando-se o diagrama de Venn, construído com a ferramenta Adobe CreativeCloud ®.

3. Resultados

a. Casuística

Foram incluídos 119 pacientes, 88 (74,0%) do sexo masculino e 31 (26,0%) do sexo feminino. A mediana de idade do início dos sintomas foi de 1 (15,5) dia de vida, com 76,8% dos pacientes iniciando sintomas no período neonatal. A mediana de idade do estabelecimento do diagnóstico foi de 83 (1083) dias de vida. Sessenta e nove pacientes (58,0%) haviam recebido o diagnóstico histopatológico DH e 50 (42,0%) o diagnóstico histopatológico de DNI-B, compondo, desta forma, os dois grupos de comparação (grupo DH e grupo DNI-B).

b. Comparação entre grupos DH e DNI-B

Cinquenta e três dos pacientes com DH (76,8%) e 35 (70,0%) dos pacientes com DNI-B eram do sexo masculino. Não houve diferença significativa para a distribuição entre os sexos ($p = 0,532$; teste de qui-quadrado) e para a idade de início dos sintomas (DH: 0 (6,5) dias x DNI-B: 2,5 (90) dias; $p = 0,144$; teste de Mann-Whitney). Entretanto, o início dos sintomas no período neonatal foi significativamente mais prevalente ($p = 0,03$; teste de qui-quadrado) entre os pacientes com DH (86,3%) do que entre os pacientes com DNI-B (66,7%).

A comparação entre as características clínicas apresentadas no período neonatal entre os pacientes dos dois grupos está apresentada na Tabela 1. Atraso de eliminação de mecônio ($p < 0,001$) e presença de sintomas intestinais ($p = 0,001$) estiveram associados ao diagnóstico de DH.

Tabela 1. Comparação das características clínicas apresentadas pelos pacientes com DH e com DNI-B no período neonatal

Características clínicas	DH			DNI-B			p
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Baixo peso ao nascimento	4/28	14,3	5,7 – 31,5	8/48	16,7	8,7 – 29,6	1,00 *
Prematuridade	4/32	12,5	5,0 – 28,1	10/48	20,8	11,7 – 34,3	0,385 *
Sintomas intestinais	30/41	73,2	58,1 – 84,3	16/48	33,3	21,7 – 47,5	<0,001 #
Presença de outras malformações	6/40	15,0	7,1 – 29,1	3/48	6,3	2,2 – 16,8	0,289 *
Atraso na eliminação do mecônio	36/46	78,3	64,4 – 87,7	18/41	43,9	29,9 – 59,0	0,001 #

n: proporção de indivíduos que apresentavam determinada característica clínica, %: distribuição percentual; IC 95%: intervalo de confiança 95%, * p valor associado ao teste exato de Fisher, # p valor associado ao teste de qui-quadrado.

O grupo de pacientes com DNI-B apresentou idade significativamente maior ao diagnóstico do que o grupo de pacientes com DH (DH: 50 (275) dias x DNI-B: 365 (1417) dias; $p = 0,002$; teste de Mann-Whitney). No momento do diagnóstico (Tabela 2), os pacientes com DH apresentavam mais comumente déficit para ganho de peso ($p = 0,02$) e história de episódios prévios de enterocolite ($p = 0,049$). Por outro lado, sangramento evacuatório foi mais comum em pacientes com DNI-B ($p = 0,007$). Não houve diferença significativa para o número máximo de dias sem evacuar (DH: $9,62 \pm 9,26$ dias x DNI-B: $10,87 \pm 8,09$ dias; $p = 0,508$; teste T). Em relação ao principal quadro clínico apresentado no momento do diagnóstico, constipação intestinal foi mais comum em pacientes com DNI-B ($p = 0,004$) e abdome agudo obstrutivo em pacientes com DH ($p = 0,031$). Em vista disso, a necessidade de cirurgia de urgência foi significativamente maior ($p < 0,001$; teste de qui-quadrado) no grupo DH (31/50 – 62,0 (48,1 – 74,1%)) do que no grupo DNI-B (11/48 – 22,9 (13,3 – 36,5%).

Tabela 2. Comparação das características clínicas apresentadas pelos pacientes com DH e com DNI-B no momento do diagnóstico.

Características clínicas	DH			DNI-B			p
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Distensão abdominal	59/60	98,3	91,1 – 99,7	43/48	89,6	77,8 – 95,5	0,086 *
Dor abdominal	34/45	75,6	61,3 – 85,8	39/48	81,2	68,1 – 89,8	0,504 #
Sangramento evacuatório	5/41	12,2	5,3 – 25,5	18/41	43,9	29,9 – 59,0	0,007 *
Massa abdominal palpável	11/43	25,6	14,9 – 40,2	17/48	35,4	23,4 – 49,6	0,310 #
Necessidade de lavagens intestinais	30/46	65,2	50,8 – 77,3	37/48	77,1	63,5 – 86,7	0,203 #
Episódios prévios de enterocolite	12/41	29,3	17,6 – 44,5	6/48	12,5	5,9 – 24,7	0,049 #
Déficit para ganho de peso	15/28	53,6	35,8 – 70,5	13/48	27,1	16,6 – 41,0	0,020 #

n: proporção de indivíduos que apresentavam determinada característica clínica, %: distribuição percentual; IC 95%: intervalo de confiança 95%, * p valor associado ao teste exato de Fisher, # p valor associado ao teste de qui-quadrado.

Tabela 3. Comparação do quadro clínico principal apresentado pelos pacientes com DH e com DNI-B no momento do diagnóstico.

Quadro clínico principal	DH			DNI-B			p
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Distensão abdominal	12/51	23,5	14,3 – 36,8	6/48	12,5	5,9 – 24,7	0,155 #
Constipação intestinal	25/51	49,0	35,9 – 62,3	37/48	77,1	63,5 – 86,7	0,004 #
Abdome agudo obstrutivo	14/51	27,5	17,1 – 40,9	5/48	10,4	4,5 – 22,2	0,031 #

n: proporção de indivíduos que apresentavam determinada característica clínica, %: distribuição percentual; IC 95%: intervalo de confiança 95%, # p valor associado ao teste de qui-quadrado.

Em relação aos exames complementares de triagem diagnóstica (Tabela 4), a ausência de reflexo inibitório reto-anal na manometria anorretal foi mais comum em pacientes com DH ($p = 0.028$).

Tabela 4. Comparação dos resultados dos exames de triagem diagnóstica dos pacientes com DH e com DNI-B.

Resultados de exames de triagem diagnóstica	DH			DNI-B			p
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Identificação de zona de transição no enema opaco	23/32	71,9	54,6 – 84,4	6/11	54,5	28,0 – 78,7	0,456 *
Ausência de reflexo inibitório reto-anal na manometria anorretal	43/48	89,6	77,8 – 95,5	30/48	62,5	48,4 – 74,8	0,028 #

n: proporção de indivíduos com determinado resultado do exame, %: distribuição percentual; IC 95%: intervalo de confiança 95%, * p valor associado ao teste exato de Fisher, # p valor associado ao teste de qui-quadrado

O diagrama de Venn apresentado na Figura 1 resume a distribuição dos principais aspectos clínicos e demográficos encontrados na comparação entre o grupo de pacientes com DH e o grupo de pacientes com DNI-B.

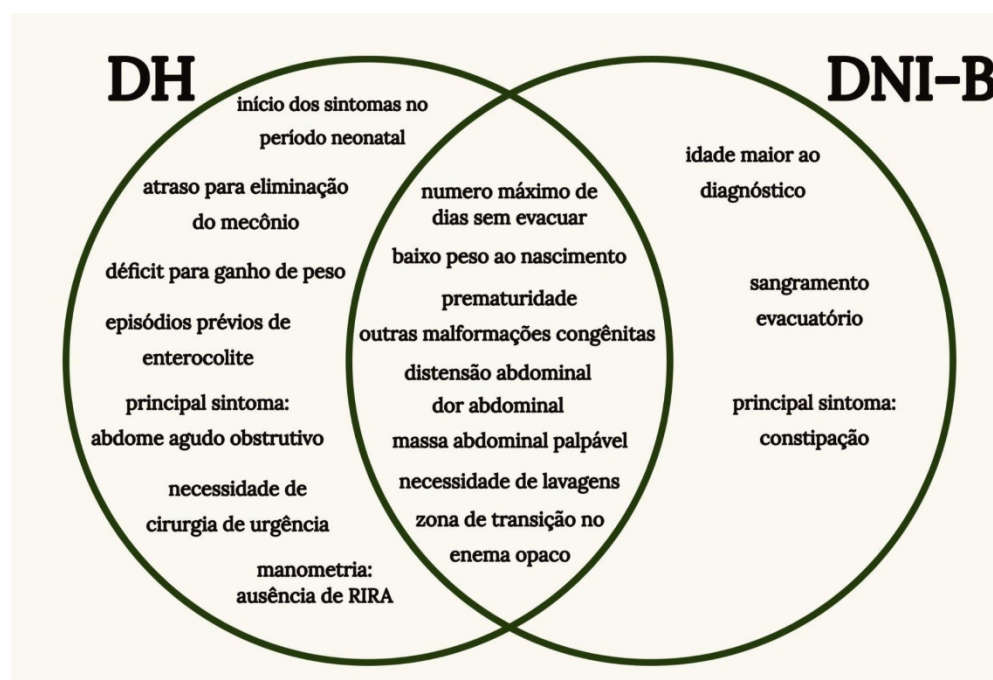


Figura 1. Diagrama de Venn: principais aspectos clínicos e demográficos no momento do diagnóstico na comparação entre DH e DNI-B.

4. Discussão

A DH e a DNI-B manifestam-se clinicamente com quadros de constipação intestinal na infância. A diferenciação entre estas duas doenças neuromusculares gastrointestinais pode ser estabelecida somente pela análise histopatológica das biópsias de reto^{4,8}. Entretanto, o conhecimento de especificidades da apresentação clínica de cada uma destas etiologias, incluindo variáveis demográficas e os sinais e sintomas apresentados pelos pacientes, pode ser útil para direcionar as medidas iniciais, diagnósticas e terapêuticas, que são individualizadas para cada uma destas doenças.

Em nosso estudo, houve predominância de indivíduos do sexo masculino nos pacientes com DH e com DNI-B. Para a DH, é bem definida a prevalência do sexo masculino, em proporções que variam de 3:1 a 4:1⁹. Esta razão é influenciada pela extensão da região aganglionar, com taxas que variam de 1:1 a 2:1 nas formas longas a até 0,8:1 na aganglionosecolônica total. A maior prevalência do sexo masculino foi relatada para a DNI-B em outras séries de casos¹⁰⁻¹⁶.

O número de pacientes nascidos prematuros ou com baixo peso foi limitado e não diferiu entre as duas doenças. A DH e a DNI-B tipicamente afetam crianças a termo, com peso adequado ao nascimento^{13,17-19}. O surgimento de sintomas no período neonatal, incluindo atraso para eliminação do mecônio, foi mais comum em pacientes com DH do que em pacientes com DNI-B. As manifestações clínicas da DH dependem diretamente da extensão e do grau de espasticidade do segmento aganglionar²⁰. Na maior parte dos casos, os sintomas surgem nos primeiros dias de vida, com alterações de hábito intestinal, restrições alimentares, atraso no desenvolvimento pôndero-estatural, flatulência e vômitos²¹. Até 90% dos casos se apresentam no período neonatal, caracteristicamente, como obstrução intestinal^{20,22}. O atraso na eliminação do mecônio, nas primeiras 24 a 48 horas de vida, é relatado em até 90% dos pacientes com DH^{18,19}. Uma minoria dos pacientes não apresenta sintomas no período neonatal e apresentam constipação intestinal grave ao longo da infância^{19,21,23}. Em relação à DNI-B, alguns estudos demonstraram que a maioria dos pacientes apresentam sintomas no primeiro ano de vida, mas sem especificar se no período neonatal ou nos meses subsequentes^{13,14}. O atraso para eliminação de mecônio também pode ser relatado, mas com ocorrência menos comum do que na DH^{11,14,15}.

A ocorrência de quadros de maior gravidade, seja por complicações agudas ou crônicas, foi maior nos pacientes com DH do que nos pacientes com DNI-B. Os pacientes com DH

apresentaram mais déficit para ganho de peso, episódios de enterocolite, quadros de obstrução intestinal aguda e, por tudo isso, necessitaram de um número maior de abordagens cirúrgicas em caráter de urgência. A enterocolite associada à DH é a mais grave complicação clínica relacionada à doença, podendo evoluir com desidratação, sepse e óbito^{19,24}. Sua incidência na DH varia de 12 a 58% dos pacientes, e pode ocorrer antes ou após o tratamento cirúrgico²⁵. Essa complicação pode atingir taxas de mortalidade de 1 a 10%, sendo mais frequente em recém-nascidos, antes da cirurgia definitiva²⁶. A ocorrência de quadros clínicos compatíveis com diagnóstico de enterocolite em pacientes com DNI-B é descrita em algumas séries de casos, mas de forma menos comum do que na DH^{8,27}. A DH representa 20 a 25% dos casos de obstrução intestinal no período neonatal²⁸. Quadros obstrutivos agudos também podem ocorrer em crianças mais velhas. Uma parcela significativa destes pacientes não responde positivamente às medidas iniciais de tratamento clínico, e necessitam de abordagens cirúrgicas em caráter de urgência, com realização de derivações intestinais temporárias^{23,29}. A evolução para quadros obstrutivos intestinais agudos também pode ocorrer em pacientes com DNI-B, mas parece ser menos comum do que na DH. Trata-se da complicação mais frequentemente relatada em pacientes com DNI-B e, muitas vezes, é a determinante para a indicação de tratamento cirúrgico^{12,14,27}.

Por outro lado, a presença de constipação intestinal crônica como principal sintoma foi mais comum em pacientes com DNI-B do que nos pacientes com DH. Constipação intestinal, em diferentes gravidades, é o quadro clínico mais comumente apresentado pela maioria dos pacientes com DNI-B, nas diferentes séries de casos^{12,13,16,30}. A maior parte destes casos evolui de forma insidiosa, com pouca resposta ao tratamento convencional para constipação e sem evoluir com complicações agudas. Isso corrobora o fato de termos observado que a idade ao diagnóstico foi significativamente maior nos pacientes com DNI-B do que nos pacientes com DH. Sintomas de menor gravidade, com evolução crônica, sem complicações agudas, que podem levar a atraso para encaminhamento a serviços especializados e, conseqüentemente, ao atraso no diagnóstico. Publicações das últimas duas décadas têm destacado o número crescente de casos de DNI-B diagnosticados em adultos, alguns com sintomas de constipação desde a infância³¹⁻³³. Em nossa série, dentre os sintomas crônicos relacionados à defecação, houve diferença significativa para a presença de sangramento evacuatório, mais comum nos pacientes com DNI-B do que nos pacientes com DH. Este tipo de sangramento está associado à evacuação de fezes volumosas e ressecadas que levam a lesões da mucosa perianal e pode ser considerado um sinal de gravidade local.

Dentre os exames complementares habitualmente utilizados para a investigação diagnóstica inicial de DH, observamos que houve diferença significativa para a ausência de reflexo inibitório retoanal pela manometria anorretal, mais comum em pacientes com DH do que em pacientes com DNI-B. A manometria anorretal é considerada um método de triagem inicial na investigação da DH^{8,34}, com taxas de especificidade de 93%, sensibilidade de 87% e com os resultados falso-negativos que variam de 0 a 24% e falso positivos que variam de 0 a 62%⁹. Caso o resultado seja ausência do reflexo inibitório reto-anal, essa criança deve ser submetida à biópsia retal para complementação diagnóstica. Por outro lado, o uso da manometria anorretal na investigação diagnóstica de DNI-B permanece controverso, com resultados muito variáveis³⁴⁻³⁷. Cabe destacar que, em nossa série, a ausência de reflexo ocorreu em 62,5% dos pacientes com DNI-B. Durante a investigação diagnóstica para DH, este resultado levou a realização de biópsias retais que acabaram diagnosticando DNI-B.

A identificação de zona de transição entre o segmento espásticoagangliônico e o cólon dilatado no enema opaco é outro método utilizado na triagem diagnóstica para DH, com taxas de sensibilidade de 76% e especificidade de 97%^{9,24,38}. Apesar de 75% dos neonatos com DH apresentarem o cone de transição, a ausência deste sinal não exclui a possibilidade de aganglionose²³. A utilização deste achado radiológico na investigação diagnóstica inicial de pacientes com DNI-B é bastante controversa. A maioria dos pacientes com DNI-B não exibe nenhuma característica radiológica específica ao enema opaco. Habitualmente, há aumento do calibre do reto e do sigmóide, de forma semelhante ao que acontece com grande parte dos pacientes com constipação intestinal. Uma minoria dos pacientes pode apresentar dilatação do cólon, de aspecto cônico, de forma semelhante ao que acontece na DH^{36,39}. Em nossa série, não houve diferença significativa na identificação de zona de transição entre os pacientes com DH e DNI-B. Cabe destacar, entretanto, que quase a metade dos pacientes com DNI-B não apresentaram este achado no enema opaco. Considerando que a utilização do enema opaco é habitualmente focada como triagem diagnóstica apenas para DH, e a identificação de zona de transição é o critério para realização de biópsia retal, a ausência deste achado poderia levar a atraso ou equívocos no diagnóstico de pacientes com DNI-B.

Algumas limitações deste estudo podem ser consideradas, como o desenho retrospectivo, com origem em informações clínicas obtidas de prontuários médicos. Algumas informações específicas da história clínica e dos exames complementares não estavam disponíveis e, por isso, o número de pacientes incluídos em cada uma das análises comparativas foi variável. Além disso, a maioria das imagens radiográficas dos enemas opacos não estava disponível para serem reanalisadas. Por este motivo, a análise foi realizada utilizando-se apenas os laudos dos exames.

Por outro lado, este é o primeiro estudo que comparou os sintomas clínicos apresentados por pacientes com DH e com DNI-B. O número de pacientes incluído também pode ser considerado como um ponto forte do estudo, visto se tratar de duas doenças raras.

Nossos resultados levam a identificação de dois quadros clínicos distintos, um para cada uma destas doenças, com base nas diferenças significativas encontradas nas análises comparativas. Os pacientes com DH, na maioria das vezes, iniciaram sintomas no período neonatal, com atraso para eliminação do mecônio. Além disso, apresentaram quadros mais graves, caracterizados por complicações sistêmicas agudas, como quadros de enterocolite e de abdome agudo obstrutivo, ou crônicas, como déficit de ganho de peso. Em vista disso, mais comumente necessitaram de cirurgias em caráter de urgência. Os pacientes com DNI-B, na maioria das vezes, foram diagnosticados tardiamente, com quadros crônicos e insidiosos de constipação intestinal, refratários aos tratamentos convencionais. As complicações apresentadas por estes pacientes foram locais, relacionadas aos sintomas evacuatórios, como a presença de sangramento evacuatório. Estes achados representam os quadros mais comumente apresentados, mas deve-se ter a ressalva de que a apresentação clínica de cada doença depende do indivíduo, com potencial para amplas variações caso a caso. Além disso, alguns sinais e sintomas estiveram distribuídos de forma semelhante entre os grupos, demonstrando que estas duas doenças fazem parte de um mesmo espectro clínico.

Portanto, há particularidades no quadro clínico apresentado por pacientes com DH e com DNI-B. O conhecimento dos sinais e sintomas mais comumente apresentados para cada uma destas etiologias tem potencial para auxiliar no direcionamento das medidas iniciais, diagnósticas e terapêuticas, que são individualizadas para cada uma destas doenças. Pacientes cuja suspeita clínica principal for para DNI-B, em que os exames de triagem pouco auxiliam no diagnóstico, podem se beneficiar da realização imediata de biópsia retal, com diminuição dos custos e do tempo para o início do tratamento. Considerando que, na maioria das vezes, estes pacientes são mais velhos e que os resultados de biópsias por sucção podem ser piores neste público, pela falta de colaboração ao exame e maior hipertrofia da camada muscular da mucosa^{1,40,41}, e que, além disso, para análise histopatológica de DNI-B, fragmentos maiores, incluindo camadas mais profundas da parede retal, podem ser mais adequados^{36,42,43}, a realização de biópsias retais cirúrgicas pode ser uma opção de primeira escolha, com maior chance de resultados conclusivos. Estas hipóteses, no entanto, necessitam de confirmação por meio de estudos com delineamento prospectivo e randomizados, preferencialmente multicêntricos.

5. Referências Bibliográficas

1. Kapur RP. Hirschsprung disease and other enteric dysganglionoses. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1999;36:225-73.
2. Montedonico S, Cáceres P, Muñoz N, Yáñez H, Ramírez R, Fadda B. Histochemical staining for intestinal dysganglionosis: over 30 years experience with more than 1,500 biopsies. *Pediatr Surg Int.* 2011;27:479-86.
3. Westfal ML, Goldstein AM. Pediatric enteric neuropathies: diagnosis and current management. *Curr Opin Pediatr.* 2017;29:347-53.
4. Moore SW. Advances in understanding functional variations in the Hirschsprung disease spectrum (variant Hirschsprung disease). *Pediatr Surg Int.* 2017; 33:285-98.
5. Zani A, Eaton S, Morini F, Puri P, Rintala R, Heurn EV, et al. European Paediatric Surgeons' Association Survey on the management of Hirschsprung Disease. *Eur J Pediatr Surg.* 2017;27:96-101.
6. Lourenção, P LTDA., Valerini, FG, Cataneo, AJM, Ortolan EVP., Silveira, G. L. D., Piva, M. F. L., ... & Rodrigues, M. A. M. (2019). Barium Enema Revisited in the Workup for the Diagnosis of Hirschsprung's Disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 68(4), e62-e66.
7. Borchard F, Meier-Ruge W, Wiebecke B, Briner J, Müntefering H, Födisch HF, Holschneider AM, Schmidt A, Enck P, Stolte M. Disorders of the innervation of the large intestine--classification and diagnosis. Results of a consensus conference of the Society of Gastroenteropathology 1 December 1990 in Frankfurt/Main. *Pathologe.* 1991;12(3):171-4.
8. Holschneider AM, Steinwegs I. Functional diagnosis. In: Holschneider AM, Puri P, editors. *Hirschsprung's disease and allied disorders*. 3rd ed. Berlin Heidelberg New York: Springer; 2008; p.153-84.
9. Takawira C, D'Agostini S, Shenouda S, Persad R, Sergi C. Laboratory Procedures update on Hirschsprung disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 60(5):598-605.
10. Fadda B, Maier WA, Meier-Ruge W, Schärli A, Daum R. Neuronal intestinal dysplasia – Critical 10-years' analysis of clinical and biopsy diagnosis. *Z Kinderchir.* 1983;38:305-11.
11. Gillick J, Tazawa H, Puri P. Intestinal neuronal dysplasia: results of treatment in 33 patients. *J Pediatr Surg.* 2001;36:777-9.
12. Montedonico S, Acevedo S, Fadda B. Clinical aspects of intestinal neuronal dysplasia. *J Pediatr Surg.* 2002;37:1772-4.

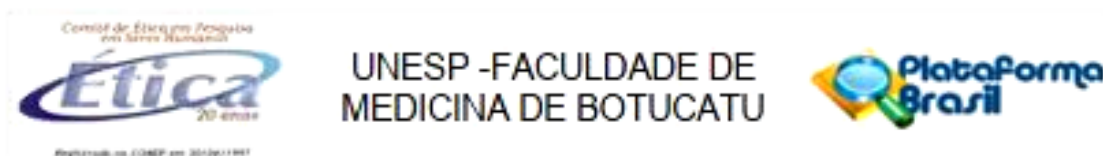
13. Schimpl G, Uray E, Ratschek M, Höllwarth ME. Constipation and intestinal neuronal dysplasia type B: a clinical follow-up study. *J PediatrGastroenterol Nutr.* 2004; 38:308-11.
14. Pini-Prato A, Avanzini S, Gentilino V, Martucciello G, Mattioli G, Coccia C, et al. Rectal suction biopsy in the workup of childhood chronic constipation: indications and diagnostic value. *Pediatr Surg Int.* 2007; 23:117-22.
15. Tang ST, Yang Y, Wang GB, Tong QS, Mao YZ, Wang Y, et al. Laparoscopic extensive colectomy with transanal Soave pull-through for intestinal neuronal dysplasia in 17 children. *World J Pediatr.* 2010;6:50-4.
16. Schmittenbecher PP, Glück M, Wiebecke B, Meier-Ruge W. Clinical long-term follow-up results in intestinal neuronal dysplasia (IND). *Eur J Pediatr Surg.* 2000; 10:17-22.
17. Haricharan RN, Georgeson KE. Hirschsprung disease. *Semin Pediatr Surg.* 2008; 17(4):266-75.
18. Duess JW, Hoffmann AD, Puri P. Prevalence of Hirschsprung's disease in premature infants: a systematic review. *Pediatr Surg Int.* 2014; 30:791-795.
19. Puri P, Montedonico S. Hirschsprung's disease: Pathophysiology of Hirschsprung's disease. In: Holschneider AM, Puri P, editors. *Hirschsprung's disease and allied disorders*. 3rd ed. Berlin Heidelberg New York: Springer; 2008; p. 95-106.
20. Maksoud JG. Moléstia de Hirhsprung. In Maksoud JG. *Cirurgia Pediátrica 2ª edição*. Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p. 806-825.
21. Szyllberg T, Marszatek A. Diagnosis of Hirschsprung's Disease with particular emphasis on histopathology. A systematic review of current literature. *Prz Gastroenterol.* 2014; 9(5):264-9.
22. Martucciello G. Hirschsprung's disease, one of the most difficult diagnoses in pediatric surgery: a review of the problems from clinical practice to the bench. *Eur J Pediatr Surg.* 2008;18(3):140-9
23. Dasgupta R, Langer JC. Hirschsprung disease. *CurrProbl Surg.* 2004; 41(12):942-88.
24. Schäppi MG, Staiano A, Milla PJ, Smith VV, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, Mearin ML, Papadopoulou A, Ruemmele FM, Vandenplas Y, Koletzko S. A practical guide for the diagnosis of primary enteric nervous system disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 57(5):677-86.
25. Nakamura H, Lim T, Puri P. Probiotics for the prevention of Hirschsprung-associated enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Surg Int.* 2018; 34:189-93.
26. Gosain A, Frykman PK, Cowles RA, Horton J, Levitt M, Rothstein DH, Langer JC, Goldstein AM. *Pediatr Surg Int.* 2017; 33:517-21.

27. Mattioli G, Castagnetti M, Martucciello G, Jasonni V. Results of a mechanical Duhamel pull-through for the treatment of Hirschsprung's disease and intestinal neuronal dysplasia. *J Pediatr Surg*. 2004;39:1349-55.
28. Loening-Baucke V, Kimura K. Failure to pass meconium: diagnosing neonatal intestinal obstruction. *Am Fam Physician*. 1999; 60(7):2043-50.
29. Green HL, Rizzolo D, Austin M. Surgical Management for Hirschsprung disease: A review for primary care providers. *JAAPA*. 2016; 29(4):24-9.
30. Taguchi T, Kobayashi H, Kanamori Y, Segawa O, Yamataka A, Sugiyama M, et al. Isolated intestinal neuronal dysplasia Type B (IND-B) in Japan: results from a nationwide survey. *Pediatr Surg Int*. 2014;30:815-22.
31. Vijayaraghavan R, Chandrashekar R, MelkoteJyotiprakash A, Kumar R, Rashmi MV, et al. Intestinal neuronal dysplasia (type B) causing fatal small bowel ischaemia in an adult: a case report. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 18:773-6.
32. Voderholzer WA, Wiebecke B, Gerum M, Müller-Lissner SA. Dysplasia of the submucous nerve plexus in slow-transit constipation of adults. *Eur J GastroenterolHepatol*. 2000;12:755-9.
33. Vougas V, Vardas K, Christou C, Papadimitriou G, Florou E, Magkou C, et al. Intestinal neuronal dysplasia type B in adults: a controversial entity. *Case Rep Gastroenterol*. 2014; 8:7-12.
34. De Lorijn F, Kremer LC, Reitsma JB, Benninga MA. Diagnostic tests in Hirschsprung disease: a systematic review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;42:496-505.
35. Friedmacher F, Puri P. Classification and diagnostic criteria of variants of Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int*. 2013; 29:855-72.
36. Gil-Vernet JM, Broto J, Guillén G. [Hirschsprung-neurointestinaldysplasia: differential diagnosis and reliability of diagnostic procedures]. *Cir Pediatr*. 2006; 19(2):91-4.
37. Guo X, Feng J, Wang G. Anorectal electromanometrical patterns in children with isolated neuronal intestinal dysplasia. *Eur J PediatrSurg*. 2008;18:176-9.
38. Lourenção, P. L. T. D. A., Valerini, F. G., Cataneo, A. J. M., Ortolan, E. V. P., Silveira, G. L. D., Piva, M. F. L., ... & Rodrigues, M. A. M. (2019). Barium Enema Revisited in the Workup for the Diagnosis of Hirschsprung's Disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 68(4), e62-e66.
39. Puri P. Intestinal dysganglionosis and other disorders of intestinal motility. In: Coran AG, Adzick NS, Caldamone AA, Krummel TM, Laberge J, Shamberger RC, editors. *Pediatric surgery*. Philadelphia: Elsevier Inc; 2012. p. 1279-87.
40. Muise ED, Cowles RA. Rectal biopsy for Hirschsprung's disease: a review of techniques, pathology, and complications. *World J Pediatr*. 2016; 12(2):135-41.

41. Croffie JM, Davis MM, Faught PR, Corkins MR, Gupta SK, Pfefferkorn MD, Molleston JP, Fitzgerald JF. At what age is a suction rectal biopsy less likely to provide adequate tissue for identification of ganglion cells? *J PediatrGastroenterol Nutr.* 2007 Feb; 44(2):198-202.
42. Terra SA, Lourenção PLTA, Silvia MG, Miot HA, Rodrigues MAM. A critical appraisal of the morphological criteria for diagnosing intestinal neuronal dysplasia type B. *Mod Pathol.* 2017;30:978-85.
43. Hall NJ, Kufeji D, Keshtgar A. Out with the old and in with the new: a comparison of rectal suction biopsies with traditional and modern biopsy forceps. *J PediatrSurg.* 2009; 44(2):395-8.

6. Anexos

Anexo I



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Doença de Hirschsprung e Displasia Neuronal Intestinal do Tipo B: existem diferenças na apresentação clínica destas duas patologias?

Pesquisador: Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 55763722.3.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Cirurgia e Ortopedia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.278.744

Apresentação do Projeto:

As informações apresentadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa.

A doença de Hirschsprung (DH) é uma malformação congênita do sistema nervoso enterico caracterizada pela ausência de células ganglionares nos plexos submucosos e mioentericos, resultando em um segmento aperistáltico e espástico do colon. A Displasia Neuronal Intestinal (DNI) é uma doença neuromuscular gastrointestinal, com complexas alterações do sistema nervoso enterico. As manifestações clínicas da DH e da DNI são semelhantes, porém a abordagem diagnóstica e terapêutica iniciais são distintas. Entretanto, não há estudos que tenham investigado as diferenças entre as manifestações clínicas apresentadas por pacientes com DH e com DNI-B. Por tudo isso, nos decidimos investigar as diferenças das manifestações clínicas apresentadas por pacientes com DH e com DNI-B, no momento do estabelecimento do diagnóstico etiológico.

Hipótese:

Há diferenças nas manifestações clínicas apresentadas por pacientes com DH e com DNI-B, no momento do estabelecimento do diagnóstico etiológico.

Metodologia

Cenário e Delimitação: Será realizado um estudo de centro único, retrospectivo, analítico e comparativo.

Serão incluídos 119 pacientes, com idade entre 0 e 15 anos, que haviam recebido diagnóstico de

Endereço: Chácara Butignoli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Telefone: (14)3880-1609

Município: BOTUCATU

CEP: 13.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



UNESP -FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU



Continuação do Parecer: 5.278.744

DH ou DNI-B por meio da análise histopatológica de biópsias de reto no período de 1998 a 2010, no Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (HC-FMB-UNESP). O diagnóstico histopatológico de DH havia sido estabelecido a partir da ausência de células ganglionares nos plexos nervosos submucosos e mioentericos do reto distal⁴³ e o de DNI-B havia sido estabelecido de acordo com os critérios morfológicos propostos pelo Consenso de Frankfurt (1990)⁴⁴. Estes pacientes serão estratificados em 2 grupos, de acordo com o resultado da análise histopatológica das biópsias do reto:

- Grupo DH: composto por 69 pacientes com diagnóstico histopatológico de DH;
- Grupo DNI-B: composto por 50 pacientes com diagnóstico histopatológico de DNI-B.

Obtenção dos dados Serão recuperadas as informações dos prontuários médicos dos pacientes, obtidos no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do HC-FMB-UNESP. Os seguintes dados serão recuperados e tabulados:

- 1) informações clínicas e demográficas: sexo, idade gestacional, peso ao nascimento, idade do início dos sintomas e idade no momento do diagnóstico;
 - 2) informações sobre a evolução clínica no período neonatal: presença de sintomas intestinais, atraso na eliminação de meconio, presença de malformações associadas;
 - 3) informações clínicas presentes no momento do diagnóstico histopatológico: sintomas relacionados ao hábito intestinal (frequência evacuatória, episódios evacuações dolorosas ou com esforço, sangramento evacuatório, dor abdominal presença de fecaloma, necessidade de lavagens intestinais e incontinência fecal), presença de episódios de enterocolite e/ou de obstrução intestinal aguda e a necessidade de realização de cirurgia em caráter de urgência;
 - 4) resultados de exames complementares de triagem diagnóstica: manometria anorretal e enema opaco.c.
- Análise dos resultados Será realizada análise comparativa entre os grupos.

Dados numéricos serão apresentados pelos valores de média $\pm$ desvios-padrão ou mediana (desvio interquartil), de acordo com o tipo de distribuição de normalidade dos dados, previamente avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

Proporções serão apresentadas como porcentagens e seus respectivos intervalos de confiança. A comparação entre os grupos será realizada utilizando-se diferentes testes estatísticos, de acordo com os tipos de variáveis analisadas.

Variáveis nominais serão analisadas pelos Teste de Fischer ou Qui-quadrado com correção de Yates.

A comparação entre diferentes proporções será realizada pelo Teste Binomial.

Endereço: Chácara Butignoll, s/n

Bairro: Rubião Junior

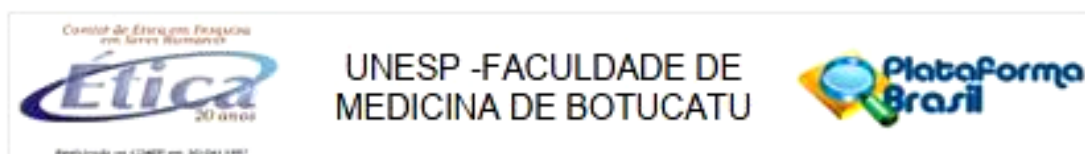
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.278.744

Variáveis numéricas contínuas de distribuição não-paramétrica serão comparadas pelo Teste de Mann-Whitney e as de distribuição paramétrica serão comparadas pelo Teste T.

Relações e diferenças serão consideradas significativas se $p < 0,05$.

A análise será realizada com o software SPSS v. 22.0.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos 119 pacientes, com idade entre 0 e 15 anos, que haviam recebido diagnóstico de DH ou DNI-B por meio da análise histopatológica de biópsias de reto no período de 1998 a 2010

Critério de Exclusão:

não descreve

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

investigar se há diferenças nas manifestações clínicas apresentadas por pacientes com DH e com DNI-B, no momento do estabelecimento do diagnóstico etiológico.

Objetivo Secundário:

- investigar se há diferenças em variáveis clínicas e demográficas entre pacientes com DH e com DNI-B.
- investigar se há diferenças relacionadas à evolução clínica no período neonatal entre pacientes com DH e com DNI-B.
- investigar se há diferenças nos resultados de exames complementares (manometria anorretal e enema opaco) entre pacientes com DH e com DNI-B.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos

Apenas os relacionados à preservação da identidade dos pacientes. No entanto, os autores se comprometem a manter sigilo sobre a identidade dos pacientes incluídos no estudo em quaisquer materiais científicos produzidos ou apresentações resultantes do estudo.

Benefícios

O conhecimento do quadro clínico mais comumente apresentado para cada uma destas etiologias tem potencial para auxiliar no direcionamento das medidas iniciais, diagnósticas e terapêuticas,

Endereço: Chácara Butgnoll, s/n

Bairro: Rubião Junior

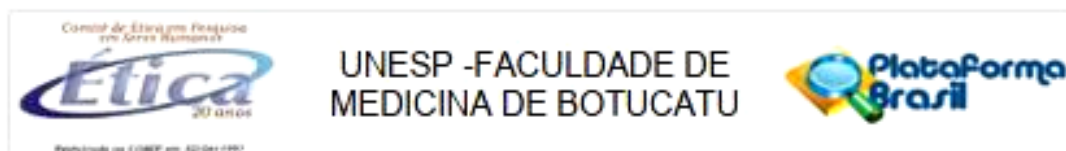
UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 13.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.278.744

que são individualizadas para cada uma destas doenças.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de projeto de pesquisa relevante, unicêntrico, retrospectivo, analítico e comparativo de portadores de Doença de Hirschprung ou Displasia Neuronal Intestinal do Tipo B com foco em variáveis demográficas e dados clínicos no período neonatal e no momento do diagnóstico. Local do estudo: HC FMB Unesp. O custo será de R\$100,00, com financiamento próprio.

Período de coleta de dados do estudo (dados retrospectivos de prontuários via SAME de 1998 a 2010)

Cronograma de execução na PB: 01/03/2022 a 01/03/2023 (coleta de dados prevista após aprovação do CEP em 02/05/2022).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados:

- Folha de rosto, assinada pela Diretora da FMB em 18/01/2022;

- Anuências institucionais:

1. Anuência do HC FMB Unesp para o desenvolvimento da pesquisa, assinado pelo superintendente André Luis Balbi, na data de 27/12/2021
2. Anuência da Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp, emitida pelo EAP e assinada pela Diretora Maria Cristina Pereira Lima, no dia 18 de janeiro de 2022
3. Análise de Viabilidade do DGAA, assinada por Juliana Almeida, em 27/12/2021
4. Carta resposta ao CEP, endereçada à Coordenadora, assinada em 27/01/2022 pelo pesquisador (conteúdo de atendimento às pendências e adequações)
5. Brochura do investigador de 15 páginas, com conteúdo da introdução à referência
6. Os pesquisadores solicitam dispensa de aplicação de TCLE, com a justificativa: O estudo compreende apenas a análise secundária de dados de prontuários médicos de pacientes atendidos em nossa instituição de 1998 a 2010. A identidade dos pacientes incluídos será preservada em eventuais publicações científicas resultantes deste projeto. Além disso, a grande maioria destes pacientes não faz mais seguimento clínico em nossa instituição. Muitos são de cidades muito distantes e também já não tem mais os seus endereços e telefones atualizados, dificultando, em muito, o contato para obtenção do TCLE.

Endereço: Chácara Butignoli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



UNESP -FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU



Continuação do Parecer: 5.278.744

Recomendações:

Apresentar relatório final de atividades após finalização da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO do PROJETO de Pesquisa apresentado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 07/03/2022, do PROJETO de Pesquisa apresentado encontra-se APROVADO. O projeto de pesquisa deverá ter início somente após aprovação deste CEP.

Ao final da execução da pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1877747.pdf	25/01/2022 14:12:18		Aceito
Outros	resposta_CEP.pdf	25/01/2022 14:11:48	Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_v2.pdf	25/01/2022 14:09:43	Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoAssinada.pdf	21/01/2022 17:44:59	Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção	Aceito
Outros	AnáliseDeViabilidadeDoProjetoDePesquisaSipe4402021.pdf	21/01/2022 17:44:53	Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção	Aceito
Outros	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	21/01/2022 17:43:55	Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção	Aceito

Endereço: Chácara Butgnoli, s/n

Bairro: Rubião Junior

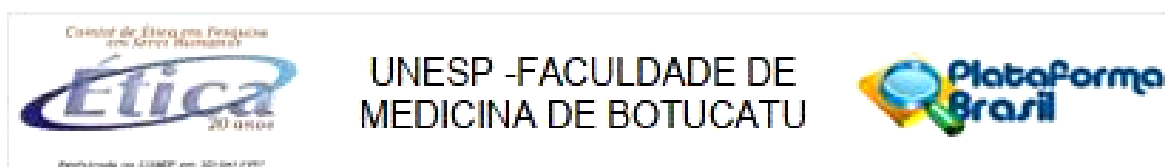
UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.278.744

Outros	AnuenciaHcfmbSipe4402021.pdf	21/01/2022 17:43:38	Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção	Aceito
--------	------------------------------	------------------------	--	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 08 de Março de 2022

Assinado por:
Trajano Sardenberg
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignoli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br