

# AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE CÉLULAS PROGENITORAS DO SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO NOS PLEXOS MIENTÉRICOS DA ÁREA DE TRANSIÇÃO DO COLO DE PACIENTES COM DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG

Palavras-Chave: Doença de Hirschsprung, Plexo Mientérico, Megacolo, Histologia, Microscopia Óptica

Autores(as):

ALICE LOPES DOS SANTOS

ANA CECILIA DE PAULA

ANGELINA DURIGAN

CHRISTIAN RODRIGUES FERREIRA

ENRIQUE ANTONIO LOPEZ PENHA BRUGAL

GIOVANNA QUESIA RODRIGUES DA SILVA

Prof. Dr. JODIR PEREIRA DA SILVA (orientador), COTUCA - Colégio Técnico de Campinas, Unicamp, Prof. Dr. Joaquim Bustorff-Silva (Colaborador) - FCM.

## INTRODUÇÃO:

A Doença de Hirschsprung (DH), que leva esse nome por conta do médico Harald Hirschsprung, por ter sido o primeiro a relatá-la na literatura, é uma patologia que tem uma ligação direta com o Sistema Nervoso Entérico (SNE).

Durante a embriogênese, em crianças com DH, não há a devida migração de neuroblastos através da crista neural, e como resultado, determinados segmentos do intestino grosso não apresentam plexos ganglionares intestinais (sendo os principais os plexos submucosos de

Meissner e os plexos mioentéricos de Auerbach (Kfoury *et al.*, 2018).

Sendo assim, em crianças com DH, há uma porção intestinal que possui sua função ganglionar preservada, uma área de transição e um segmento aganglionar, que não apresentará nenhum peristaltismo, dificultando a livre eliminação de material fecal (Mariano *et al.*, 2024).

Em relação à manifestação clínica, indivíduos com essa patologia congênita apresentam, principalmente, distensão abdominal, vômitos com conteúdo biliar, obstrução e constipação intestinal e ausência de eliminação de mecônio nas

primeiras 48 horas de vida. Contudo, a sintomatologia pode variar de acordo com a apresentação da DH, podendo ser: de segmento curto (quando o segmento aganglionar não ultrapassa o cólon sigmóide); ou de segmento longo (quando a aganglionose atinge os demais segmentos do intestino grosso, a qual pode chegar a ser Aganglionose Total do Cólon ou até Aganglionose Intestinal Total). (Villar *et al.*, 2009).

A incidência da DH é de 1:5.000 nascidos vivos e ela é mais comum no sexo masculino, sendo que a sua etiologia ainda é desconhecida, mas existem grandes indícios de uma relação com fatores ambientais e genéticos. O diagnóstico definitivo dessa condição é feito através da análise histopatológica e, quanto antes ele for realizado, mais precocemente poderá ocorrer a devida intervenção cirúrgica, aumentando a longevidade e a qualidade de vida do paciente. (Kfoury *et al.*, 2018).

Portanto, é de extrema importância o estudo da histologia do intestino grosso de pessoas acometidas por essa condição, visando aprimorar os meios de diagnóstico precoce dessa patologia, o que poderia levar a um prognóstico melhor para os pacientes.

## **METODOLOGIA:**

A coleta de amostras biológicas humanas, previamente aprovada e

respaldada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), ocorreu em intra-operatório da técnica de La Torre-Mondragón, protagonizada pelo cirurgião pediátrico Dr<sup>o</sup> Joaquim Murray Bustorff-Silva.

As amostras foram obtidas de três pacientes da cirurgia pediátrica da UNICAMP, os quais foram submetidos à técnica cirúrgica supracitada. De cada um deles foi obtida uma pequena amostra das três porções: (1) Normal (N); (2) Área de transição (AT); e (3) Área aganglionar (AAg), que foram fixadas pelo Dr. Joaquim logo após as cirurgias.

Feito isso, a equipe de pesquisa, junto ao Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Jodir Pereira da Silva e ao Técnico de Laboratório Carlos Rosa, realizou visitas ao Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) para a confecção do material histológico.

Para tal, primeiramente, foi realizada a inclusão do material em parafina, seguindo as seguintes etapas: desidratação (Álcool 70%, Álcool 80%, Álcool 90%, Álcool 95% e Álcool 100%); diafanização (Xilol I e Xilol II); impregnação (com parafina líquida em estufa a 60° C); inclusão (foram utilizados os esquadros de Leuckart e parafina líquida com a superfície de corte posicionada para baixo. Depois procedeu-se à microtomia do material,

obtendo-se cortes com 4 a 5  $\mu\text{m}$  de espessura, para os quais se utilizou um micrótomo rotatório Leica, e depois os cortes foram postos em banho-maria, com temperatura entre 40 a 50°C, e pescados com lâminas identificadas de acordo com a porção intestinal referente à amostra (segmentos proximal ganglionar, distal aganglionar e zona de transição).

Por fim, foi feita a desparafinização e a hidratação para a coloração de rotina com hematoxilina e eosina e com a técnica histoquímica Tricrômico de Masson. Com a lâmina já corada foi realizada uma nova desidratação, diafanização e selagem.

Para a análise do material foi marcado um encontro presencial no Laboratório de Biologia do Colégio Técnico de Campinas (COTUCA) - UNICAMP, para a utilização de microscópios ópticos para o estudo.

As amostras das três porções intestinais amostradas (N, AT e AAg) foram analisadas com lentes objetivas com aumento de 4x, 10x e 40x e, num primeiro momento, foi realizado a identificação dos plexos submucosos de Meissner, dos plexos mioentéricos de Auerbach e de nervos colinérgicos, utilizando como fundamentação teórica os livros “Histologia Básica Texto & Atlas” (Junqueira & Carneiro, 2013) e “Ross | Histologia Texto e Atlas – Correlações

com Biologia Celular e Molecular (Ross & Pawlina, 2016).

Posteriormente, foi realizada a captura de imagens dessas estruturas, através de fotomicroscópio.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

Com base nas análises feitas a partir das lâminas com amostras das porções proximal ganglionar, distal aganglionar e da zona de transição do paciente com a doença de Hirschsprung, foi possível notar uma diferença no que se constata na literatura sobre o tema.

De acordo com estudos de caso descritos na literatura, a zona de transição possui um caráter hipoganglionar em comparação com o segmento não afetado. (Romaneli *et al.*, 2016).

Contudo, no material observado, a zona de transição apresentou uma quantidade maior de plexos submucosos de Meissner e de plexos mioentéricos de Auerbach em relação à porção proximal ganglionar. Além disso, nota-se a diferença de tamanho dos plexos mioentéricos, apresentando-se visualmente maiores na área de transição do que na área normal. Também é possível perceber uma variação de tamanhos importante entre os neurônios e células gliais dos plexos mioentéricos na área de transição.

Notamos a presença de uma grande quantidade de nervos colinérgicos hipertróficos na região distal aganglionar, conforme já descrito na literatura (Serafini *et al.*, 2023).

Destacamos que para maior entendimento dos tipos neuronais e células gliais presentes nos plexos mioentéricos, que são as estruturas mais importantes para o estabelecimento da motilidade intestinal, seria importante fazer uso de marcadores imunoistoquímicos que marquem de maneira isolada e diferente as células gliais, os neurônios imaturos (provavelmente os de maior tamanho que encontramos nos plexos) e neurônios maduros. Com isso, seria possível dimensionar cada um dos diferentes tipos celulares e avaliar sua importância para o entendimento da falha de migração de neuroblastos nos casos de DH.

Entretanto, para isso, seria necessário o uso de vários marcadores, que apresentam valor elevado e até proibitivo, considerando os limites de concessão de fomento ao PIBIC-EM.

Assim, estabelecemos parceria com outros laboratórios do NMCE, que nos fornecerão alíquotas para fazermos os testes preliminares para o entendimento necessário da migração, diferenciação e ação dos diferentes tipos neuronais dos plexos. Logo, este trabalho não se encerra aqui, mas dará origem a novos trabalhos.

## CONCLUSÕES:

À luz dos dados obtidos, concluímos que a zona de transição de pacientes com DH não é obrigatoriamente hipoganglionar e pode apresentar maior presença de plexos submucosos de Meissner e de plexos mioentéricos de Auerbach em comparação com as porções ganglionares do intestino grosso, merecendo mais investimento de recursos para investigações mais aprofundadas.

## BIBLIOGRAFIA:

JUNQUEIRA, Luiz; CARNEIRO, José. **Histologia Básica Texto & Atlas**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2013.

KFOURI, Cláudio, *et al.* DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG COM AGANGLIONOSE COLÔNICA TOTAL ASSOCIADO A SINAIS CLÍNICOS ATÍPICOS EM UM RECÉM-NASCIDO. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, vol. 4, n. 3, p. 2009, 2018.

MARIANO, Carolina, *et al.* DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO TARDIO DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG: RELATO DE CASO. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, Macapá, vol. 6, n. 5, p. 2390-2401, 2024.

ROMANELI, Mariana, *et al.* Doença de Hirschsprung - Dismotilidade intestinal pós-cirúrgica. **Revista Paulista de**

**Pediatria**, São Paulo, vol. 34, n. 3, p. 388-392, 2016.

ROSS, Michael; PAWLINA, Wojciech.  
**Histologia Texto e Atlas - Correlações com Biologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2016.

SERAFINI, Suellen, *et al.* A new systematization of histological analysis for the diagnosis of Hirschsprung's disease.  
**CLINICS: revista científica oficial da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Hospital das Clínicas**, São Paulo, vol. 78, 2023.

VILLAR, Maria, *et al.* Doença de Hirschsprung: Experiência Com Uma Série de 55 Casos. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, vol. 9, n. 3, p. 285-291, 2009.