Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

ASPECTOS GENÉTICOS DA DOENÇA DE HIRSCHSPRUNG: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DOS GENES CONFIRMADOS E CANDIDATOS A PATOGENIA

GENETIC ASPECTS OF HIRSCHSPRUNG'S DISEASE: AN INTEGRATIVE REVIEW OF THE GENES CONFIRMED AND APPLIED TO PATHOGENIA

Maria Luiza Souza Miranda[1]
Morgana Sayuri Sanomia[2]
Marcela Funaki dos Reis[3]

RESUMO - A doença de Hirschsprung, também conhecida como megacólon aganglionar congênito, é uma desordem rara caracterizada pela heterogeneidade genética e associação com diferentes genes e polimorfismos, que dificultam a determinação da etiologia genética da doença. Com isso, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão integrativa da literatura sobre os aspectos genéticos da doença de Hirschsprung relacionando aos genes confirmados e candidatos a sua patogenia. Para tanto, este trabalho foi produzido dividindo-se nas fases de: formulação do problema, coleta de dados, avaliação dos dados para inclusão/exclusão, análise sistemática dos dados para categorização, apresentação e interpretação dos resultados e discussão. Dessa forma, as informações foram minunciosamente analisadas e organizadas sistematicamente, dando origem a duas classes: Mutações reconhecidas como patogênicas e Mutações relatadas, mas com patogenicidade apenas sugerida. Foram reunidos artigos que identificaram os genes RET, MAPK10, ZFHX1B, SOX2, CaSR, DSCAM, EDNRB, EDN3, SLC6A20, NRG1, SEMA3 e seus respectivos polimorfismos com potencial de associação a doença, e genes candidatos a HSCR. No entanto, por questões metodológicas o presente estudo sugere que serão necessárias

[1] Acadêmica de Medicina da Unicesumar – Universidade Cesumar, Maringá, Paraná, brasil;
[2] Acadêmica de Medicina da Unicesumar – Universidade Cesumar, Maringá, Paraná, brasil;
[3] Doutora, professora de medicina da Unicesumar – Universidade Cesumar, Maringá, Paraná, brasil. E-mail: marcela.reis@unicesumar.edu.br.

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

pesquisas futuras que categorizem os dados para evitar os vieses de publicação, garantindo a análise segura das informações sugeridas na literatura.

Palavras-chave: Genes Candidatos; Megacólon Congênito; Polimorfismo.

ABSTRAT - Hirschsprung disease, also known as congenital aganglionic megacolon, is a rare disorder characterized by genetic heterogeneity and association with different genes and polymorphisms, which make it difficult to determine the genetic etiology of the disease. So, the objective of this study was to make an integrative review of the literature on the genetic aspects of Hirschsprung disease relating to the confirmed genes and candidates for its pathogenesis. For this purpose, this work was produced divided into the following phases: problem base, data collecting, evaluation of data for inclusion/exclusion, systematic analysis of data for categorization, presentation and interpretation of results and discussion. Thus, the information was carefully analyzed and systematically organized, giving rise to two classes: mutations recognized as pathogenic and mutations reported, but with only suggested pathogenicity. Articles were collected that identified the RET, MAPK10, ZFHX1B, SOX2, CaSR, DSCAM, EDNRB, EDN3, SLC6A20, NRG1, SEMA3 genes and their polymorphisms with potential for disease association, and HSCR candidate genes. However, for methodological reasons, the present study will necessarily require future research that categorizes the data to avoid publication data, ensuring a safe analysis of the information suggested in the literature.

Keywords: Candidate Genes; Congenital Megacolon; Polymorphism.

INTRODUÇÃO

A doença de Hirschsprung – HSCR (OMIM#142623), também conhecida como megacólon aganglionar congênito, é uma desordem rara que afeta cerca de 1 a cada 5000 indivíduos (ZHANG et al., 2017) com uma preponderância de machos afetados em uma proporção sexual de 4/1 (ROMERO et al., 2011).

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Apresenta-se como causa comum de obstrução intestinal em neonatos e risco geral para irmãos de 4% (MOORE; ZAAHL, 2012). De acordo Jiang et al. (2011) este defeito congênito não é incomum e mostra incidências populacionais de 15, 28 e 21 casos por 100.000 nascidos vivos entre europeus, asiáticos e africanos, respectivamente. A doença tem todas as marcas de um transtorno multifatorial e mostra alta herdabilidade (81-100%, dependendo do sexo do probando e irmão afetado), uma grande diferença de sexo (3,9 masculino: 1 feminino) e um alto risco de recorrência entre irmãos (200 vezes maior do que a população), (JIANG et al., 2011).

HSCR é considerada a neurocristopatia mais frequentemente encontrada em sua forma esporádica (S-HSCR~70% dos casos), que é uma doença não mendeliana com baixa penetrância e expressão clínica variável (QUEDAS et al., 2012).

De acordo com Moore e Zaahl (2012), RET é o principal gene relacionado a HSCR e durante a embriogênese é vital porque dirige a migração, proliferação e sobrevivência das células derivadas da crista neural entérica do sistema nervoso entérico (SNE). É também responsável pelo desenvolvimento do sistema nervoso autônomo, bem como pelo controle do desenvolvimento renal e da espermatogênese, entre outras funções.

A mutação e/ou variação genética pode resultar no mau funcionamento de RET, que foi associado a pelo menos quatro condições clínicas: HSCR, síndromes MEN tipo 2 (A e B) e carcinoma medular da tireoide familiar (CMTF). No HSCR, os alelos RET hipomórficos podem causar migração retardada de neuroblastos e morte celular não apoptótica. Isso causa o desenvolvimento deficiente da SNE, resultando em aganglionose (HSCR) e outras condições relacionadas do SNE.

A patogênese está relacionada à ausência de células ganglionares intramurais dos plexos mioentéricos e submucoso do trato gastrointestinal, causando uma obstrução funcional conduzindo a distensão do cólon em recém-nascidos e constipação em adultos. Esta aganglionose é decorrente da interrupção da migração das células da crista neural (CCNs) durante o desenvolvimento embrionário (JIANG et al., 2017). Sendo esta constipação severa devido à ausência de propulsão da atividade peristáltica e um estreitamento espástico na parte aganglionar do intestino (ROMERO et al., 2011).

O distúrbio é classificado em formas de segmento curto (S-HSCR: aganglionose até o cólon sigmóide superior- 80%), de segmento longo (L-HSCR: aganglionose até a flexura esplênica e além- 15%) e aganglionose colônica total (TCA- 5%) (ROMERO et al., 2011).

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Segundo Zhang et al. (2017), a doença de HSCR é caracterizada pela heterogeneidade genética com mais de 15 genes associados, além de se apresentar com caráter familiar ou esporádico. Embora, seja reconhecido que o proto-ongene RET é o responsável por cerca de 50% dos casos relacionados à origem familiar e 15% dos casos esporádicos, os demais genes estão relacionados apenas uma pequena parcela dos casos individuais.

Outro aspecto da heterogeneidade genética de HSCR está relacionada ao padrão de herança altamente variável, que pode ser hereditária autossômica dominante, autossômica recessiva e até mesmo poligênica e multifatorial. Entretanto, aproximadamente em 30% dos casos, está associado a outras malformações congênitas. Análises de associação genética identificaram 12 *loci* de susceptibilidade incluindo EDNRB, EDN3, GDNF, NTN, SOX10, PHOX2B, ECE1, KIAA1279/KBP, ZFHX1B, TTF-1 e NRG113. Contudo, variações na maioria desses *loci* são encontradas principalmente nos casos sindrômicos, nos quais a HSCR está associada a outras doenças (AMOOEE et al., 2019). Devido à heterogeneidade genética e associação de HSCR a diferentes genes e polimorfismos, é fundamental a determinação destas variações para auxiliar no entendimento da etiologia da doença.

Assim, o objetivo deste estudo foi realizar uma Revisão Integrativa da Literatura sobre os aspectos genéticos da doença de Hirschsprung, relacionando aos genes confirmados e candidatos a sua patogenia.

METODOLOGIA

O estudo consiste em uma Revisão Integrativa da Literatura que objetiva a síntese de resultados obtidos em pesquisas primárias a partir de um tema abordado. Nesta Revisão, foi analisado os aspectos genéticos relacionados a patogenia da doença de Hirschsprung.

Para tanto este estudo foi dividido nas fases de (1) formulação do problema; (2) coleta de dados; (3) avaliação dos dados para inclusão/exclusão; (4) análise sistemática dos dados para categorização; (5) apresentação e interpretação dos resultados. Com isso, as informações foram minunciosamente analisadas e organizadas sistematicamente, dando origem a duas classes definitivas, denominadas: classe 1:

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Mutações reconhecidas como patogênicas e classe 2: Mutações relatadas, mas com patogenicidade apenas sugerida.

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica abrangente utilizando PubMed, BVS, *Scielo* e Capes Periódicos. Foram utilizados como descritores na língua inglesa os termos: Hirschsprung Disease Mutations e Polymorphism in Hirschsprung Disease.

Como critérios de inclusão foram delimitados três fundamentos norteadores: primeiramente foi avaliado o período de publicação compreendido entre 2010 a 2020, o idioma e título dos artigos. Em um segundo momento, foi realizada a caracterização dos estudos, incluindo resumo do artigo, informações do estudo, metodologia e resultados primordiais.

Por fim, a análise dos artigos selecionados a partir de uma adaptação do protocolo para revisões sistemáticas do PRISMA Flow Diagram (MOHER et al., 2015). Foram selecionados artigos completos nos idiomas de português e inglês, provenientes de periódicos nacionais ou internacionais no período de 2010 a 2020.

Como critérios de exclusão foram delimitados os seguintes parâmetros para análise dos artigos: repetição em ambas as bases de dados (artigos que aparecem em mais de uma base de dados foram contabilizados uma única vez), teses, dissertações, trabalhos de conclusão de curso, resumos de anais, editoriais e resumos simples e expandidos.

No processo de análise dos textos completos foram selecionados inicialmente 26 artigos contendo genes com etiologia reconhecida para HSCR, mas com polimorfismo não relacionado e novos genes com polimorfismo sugeridos. Após este processo de análise, houveram casos em que trabalhos foram excluídos por se tratarem de estudos em animais ou com foco em outras doenças relacionadas, mas não a HSCR.

Ao final, foram selecionados 18 artigos presentes nas bases de dados Capes Periódicos, PubMed e *Scielo* entre os anos de 2010 a 2019 descritos na língua inglesa para inspeção deste estudo. Ao analisar a amostra dos 18 artigos, somente 12 foram selecionados, pois se tratavam de estudos de sequenciamento genético em seres humanos, englobando genes reconhecidos e possíveis genes que predispõe a Doença de Hirschsprung e estudos de metanálise.

RESULTADOS

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Após a pesquisa *on-line* nos bancos de dados, 26 publicações potencialmente relevantes foram recuperadas. Depois de excluir as duplicatas, restaram 21 trabalhos. Dentre eles, 3 foram retirados, pois tratavam-se de estudos com animais. Com isso, 18 obras foram selecionadas para leitura. Após uma avaliação minuciosa dos textos completos, outros 6 foram excluídos, pois apresentavam informações não relevantes ao objetivo deste trabalho. Finalmente, 12 estudos foram incluídos e avaliados para essa Revisão Integrativa (Quadro 1).

Quadro 1. Apresentação dos artigos selecionados para revisão integrativa dos genes e polimorfismos candidatos a HSCR.

Classe	Procedência	Título do artigo	Título do periódico (v., nº e pág.)	Ano	Idioma	País do estudo	Tipo de estudo
1	CAPES Periódicos	Copy Number Variants in Candidate Genes Are Genetic Modifiers of Hirschsprung	Plos One; 6(6): e21219	2011	Inglês	EUA	Experimental
2	***SciELO***	RET haplotype, not linked to the C620R activating mutation, associated with Hirschsprung disease in a novel MEN2 family	Clinics, São Paulo, v. 67, supl. 1, pág. 57-61	2012	Inglês	Brasil	Experimental
3	***SciELO***	The Hirschsprung's-multiple endocrine neoplasia connection	Clinics, São Paulo, v.67, supl. 1, p. 63-67	2012	Inglês	África do Sul	Revisão

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

4	CAPES Periódicos	Is there a link between the calcium sensing receptor and Hirschsprung's disease? A mutational analysis	Journal of Pediatric Surgery 47, 551–555	2012	Inglês	Alemanha	Análise experimental
5	CAPES Periódicos	Chromosome 21 Scan in Down Syndrome Reveals DSCAM as a Predisposing Locus in Hirschsprung Disease	Plus One;8(5):e 62519	2013	Inglês	França	Experimental
6	CAPES Periódicos	Genetic Analyses of a Three Generation Family Segregating Hirschsprung Disease and Iris Heterochromia	Plos One 8(6): e66631	2013	Inglês	China	Experimental
7	PubMed	RET and PHOX2B Genetic Polymorphisms and Hirschsprung's Disease Susceptibility: A Meta-Analysis	Plos One, 9(3): e90091	2014	Inglês	China	Metanálise
8	PubMed	Association Analysis of SLC6A20 Polymorphisms With Hirschsprung Disease	JPGN, 62(1):64-70	2016	Inglês	Coréia	Experimental/ Metanálise
9	PubMed	Trans-ethnic meta-analysis of genome-wide association studies for Hirschsprung disease	Human Molecular Genetics, 25(23): 5265–5275	2016	Inglês	China	Metanálise
10	PubMed	Efects of NRG1	SCIenTIfI	2017	Inglês	China	Metanálise

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

		Polymorphisms on Hirschsprung's Disease Susceptibility: A Meta-analysis	C RepoRts, 7(9913): 8				
11	CAPES Periódicos	NRG1 variant effects in patients with Hirschsprung disease	BMC Pediatrics 18:292	2018	Inglês	Indonésia	Experimental
12	PubMed	Association of RS2435357 e RS1800858 Polymorphisms in gene RET protooncogene with Hirschsprung disease: Systematic Review and Meta-analysis	ABCD, Arq. Bras. Cir. Dig. São Paulo, v. 32, n. 3, e1448	2019	Inglês/ Português	Irã	Metanálise

Fonte: Autores do trabalho (2020).

Constataram-se nas bases analisadas 5.098 obras, após a aplicação dos critérios de elegibilidade, restaram 12 artigos, os quais contemplam esta revisão integrativa (Figura 1).

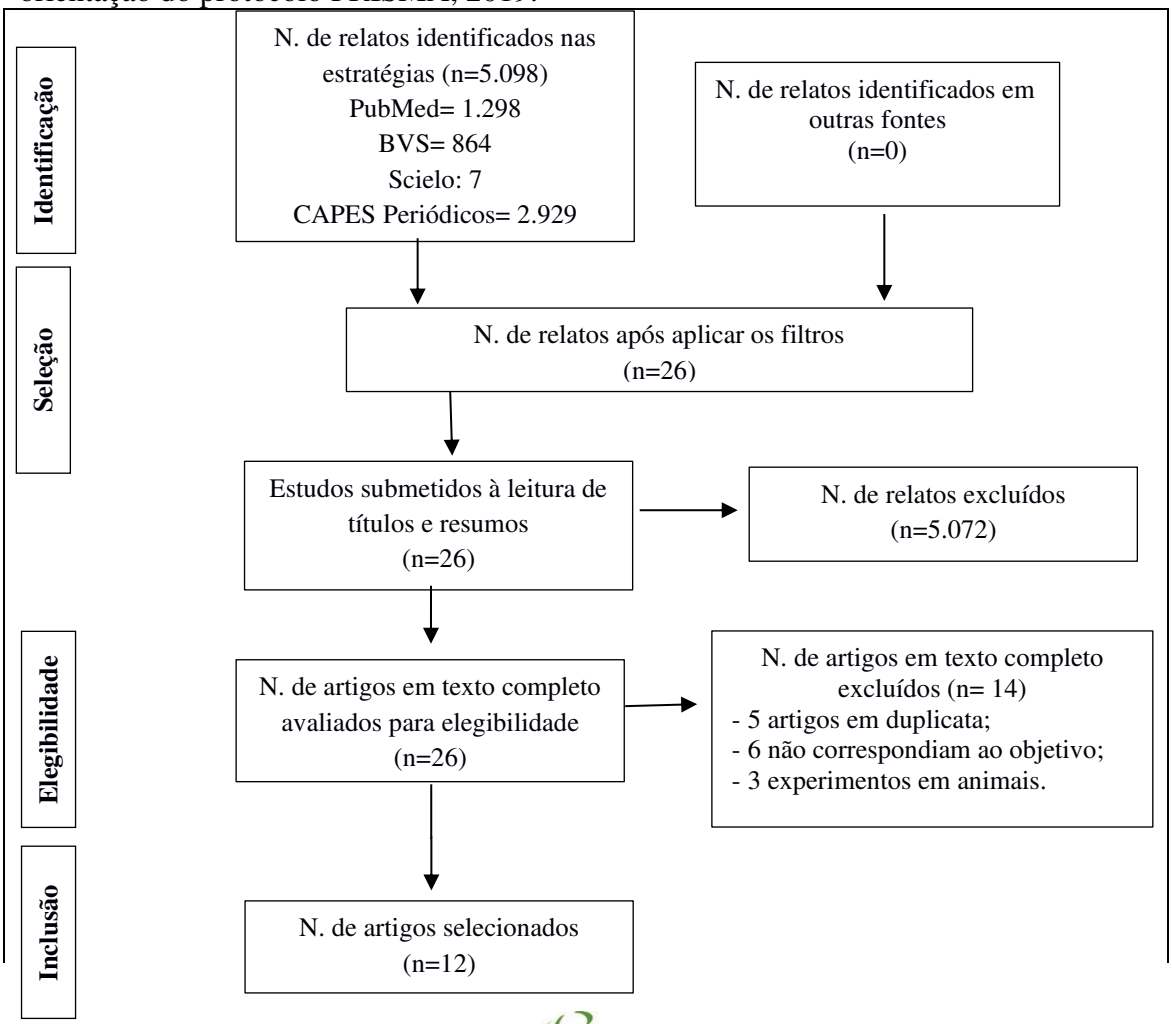
A maioria dos estudos selecionados encontra-se publicados na língua inglesa. Em relação ao país de origem os trabalhos foram realizados no Irã, Coreia do Sul, China, Brasil, África do Sul, Dinamarca, Japão, Holanda, Estados Unidos, França, Indonésia e Alemanha.

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Figura 1. Fluxo da informação com as diferentes fases da revisão sistemática conforme orientação do protocolo PRISMA, 2019.



DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Fonte: MOHER et al., 2015.

A maioria dos estudos selecionados encontra-se publicados na língua inglesa. Em relação ao país de origem os trabalhos foram realizados no Irã, Coreia do Sul, China, Brasil, África do Sul, Dinamarca, Japão, Holanda, Estados Unidos, França, Indonésia e Alemanha.

A inspeção e discussão dos dados a seguir foram pautadas em categorias de análise definidas a partir dos resultados dos trabalhos revisados, as quais são denominadas Classe 1: Mutações Reconhecidas com Patogênicas e Classe 2: Mutações relatadas, mas com patogenicidade apenas sugerida. No quadro 2 é apresentado um resumo da análise dos artigos selecionados para a revisão.

Quadro 2. Resumo da análise dos artigos selecionados para a revisão.

Nome do Autor	Metodologia	Aspectos Investigados ou objetivo do trabalho	Principais Achados
Jiang et al. (2011)	Conjunto de 67 genes HSCR comprovados e candidatos abrigavam alelos modificadores adicionais em 18 pacientes HSCR heterogêneos.	Identificar se variantes estruturais menores podem atuar como modificadores genéticos em doenças humanas	Identificou 3 variantes estruturais: uma deleção em MAPK10, uma duplicação envolvendo ZFHX1B e uma duplicação envolvendo SOX2
Quedas et al. (2012)	Análise de genotipagem de uma nova família HSCR / FMTC que carrega a linhagem germinativa c.1858T> C (p.C620R) RET.	Verificar se uma mutação *RET* adicional e inativadora estava presente nos pacientes com HSCR.	Evidências que apoiam o papel de um haplótipo RET (não ligado a mutação C620R), no desenvolvimento de HSCR em uma família FMTC / MEN2.
Moore e Zaahl (2012)	Avaliação dos componentes clínicos e interpretação dos	Avaliar a aparente correlação genótipo-fenótipo que existe entre	Estabelecimento de "risco" para neoplasia endócrina múltipla com Hirschsprung

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

	resultados da neoplasia endócrina múltipla com Hirschsprung.	RET e as síndromes MEN2.	por meio de testes genéticos, além da identificação de novas abordagens de tratamento.
Romero et al. (2012)	Triagem mutacional da sequência de codificação de receptor de detecção de cálcio (CaSR) realizada por: reação em cadeia da polimerase e sequenciamento direto das amostras amplificadas.	Identificar uma correlação entre mutações e polimorfismos no receptor de detecção de cálcio (CaSR) e pacientes com Doença de Hirschsprung.	Não houve associação estatisticamente significativa entre HSCR e os 3 polimórficos variantes na região de sinalização intracelular de CaSR.
Jannot et al. (2013)	Estudo de associação dependente da dose no cromossomo 21 em pacientes com síndrome de Down e com HSCR.	Revelar o envolvimento do DSCAM como um *locus* de susceptibilidade ao HSCR, tanto na síndrome de Down quanto nos casos isolados de HSCR.	Fornecer uma nova metodologia para desvendar o determinismo genético de outros subfenótipos em pacientes com SD. Seus resultados revelaram o envolvimento do DSCAM como um locus de susceptibilidade ao HSCR.
Cui et al. (2013)	Análises genéticas conduzidas em uma família de três gerações, com três membros afetados com doença de Hirschsprung isolada e um com HSCR e heterocromia iridum (HSCR sindrômico de Waardenburg-Shah - WS4).	Encontrar alterações no DNA em qualquer um dos genes que codificam para as moléculas de sinalização que governam o destino dos melanócitos e precursores de neurônios entéricos, representando uma etiologia primária para WS4.	A manifestação do fenótipo HSCR pode requerer mutações em dois genes da mesma via (EDNRB e EDN3) e a característica adicional (heterocromia de íris) resultado de um evento genético independente.
Liang et al. (2014)	Metanálise utilizando: Pubmed, Elsevier Science Direct, banco	Investigar a associação entre cinco polimorfismos de RET	Associação significativa entre esses polimorfismos genéticos (rs1800858, rs1800861,

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

	de dados de infraestrutura de conhecimento nacional da China, banco de dados Biomédico chinês, Google scholar. O odds ratio (OR) combinado com IC 95% foi calculado para estimar a força da associação.	(rs1800858, rs1800860, rs1800861, rs10900297 e rs2435357) e um polimorfismo gênico (rs28647582) de PHOX2B.	rs10900297, rs2435357) e HSCR, demonstrando que o haplótipo composto com mais alelos de risco, tornou os hospedeiros mais suscetíveis ao HSCR.
Lee et al. (2016)	Para o estudo de replicação, um total de 40 polimorfismos de nucleotídeo único de SLC6A20 (gene da família transportadora de soluto 6, membro 20) foram genotipados em 187 indivíduos.	Associação de polimorfismos SLC6A20 com HSCR e uma análise estendida para investigar associações adicionais para subgrupos de haplótipos .	Em uma análise posterior de subgrupo, os polimorfismos SLC6A20 parecem ter associações aumentadas com L-HSCR.
Tang et al. (2016)	Meta-análise transétnica de 507 casos de HSCR e 1191 controles, combinando todos os resultados GWAS publicados sobre HSCR para mapear esses loci e restringir as variantes supostamente causais a conjuntos de 99% de credibilidade.	Buscar uma associação entre os SNPs principais de NRG1 e SEMA3.	Após a meta-análise trans-étnica, todos os três loci conhecidos em RE , NRG1 e SEMA3 mostraram forte evidência de associação com HSCR.
Jiang et al., (2017)	Meta-análise utilizando: PubMed, EMBASE e Chinese Biological Medicine foram pesquisados em	Esta meta-análise teve como objetivo avaliar a associação entre os dois SNPs do gene neuregulina 1 - NRG1	Revela evidências substanciais de que NRG1 rs7835688 e rs16879552 estão significativamente associados ao aumento do risco de HSCR.

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

	busca de estudos potencialmente elegíveis até março de 2017.	(rs7835688 e rs16879552) e HSCR.	
Gunadi et al. (2018)	Análise de DNA cobrindo as regiões codificadoras de todos os 16 éxons do gene NRG1 em sua coorte de 54 pacientes com HSCR.	Investigar a contribuição do NRG1 gene para o desenvolvimento HSCR em uma população da indonésia.	A análise do gene NRG1 identificou uma variante rara, c.397G> C (p.V133 L), e três variantes comuns, rs7834206, rs3735774 e rs75155858.
Amooee et al. (2019)	A literatura elegível foi pesquisada pelo PubMed, Google Scholar, EMBASE e CNKI até 30 de junho de 2018.	Realizar metanálise para obter estimativa mais precisa da associação dos polimorfismos rs2435357 e rs1800858 no proto-oncogene RET com risco de HSCR.	Os resultados sugerem que os polimorfismos rs2435357 e rs1800858 no proto-oncogene RET podem estar associados ao HSCR.

Fonte: Autores do trabalho (2020).

Classe 1. Mutações reconhecidas como patogênicas

De acordo com Jiang et al. (2011), Quedas et al. (2012), Moore e Zaahl (2012), RET deve ser considerado o principal gene patogênico, uma vez que existe uma elevada porcentagem (70%) de pacientes HSCR com pelo menos uma mutação de perda de função deste gene. HSCR é um distúrbio multifatorial em que existem múltiplas mutações raras e comuns em cada paciente. Com exceção do gene principal RET, nenhuma outra mutação ainda é conhecida como necessária para esse defeito congênito do neurodesenvolvimento. Consequentemente, segundo os autores, espera-se que qualquer gene possa condicionar HSCR em apenas um subconjunto de pacientes, o que implica que o número de genes envolvidos e seus tipos mutacionais são inúmeros.

No estudo realizado por Quedas et al. (2012), foram relatados achados genéticos em uma família com neoplasia endócrina múltipla tipo 2. Neste caso, um haplótipo RET específico foi documentado em pacientes com HSCR associada ao carcinoma medular da tireoide.

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Com base nos estudos de Moore e Zaahl (2012), Jannot et al. (2013) e Gunadi et al. (2018), o gene RET, mapiado no cromossomo 10 (10q11.2) codifica um receptor de tirosina quinase e está implicado na grande maioria dos casos de HSCR, tanto isolados quanto sindrômicos.

Com relação às variações do gene RET, Jannot et al. (2013), Cui et al. (2013), Liang et al. (2014), Gunadi et al. (2018) e Amooee et al. (2019) concluíram que um total de cinco polimorfismos gênicos (rs1800858 no íntron 2; rs1800860; rs1800861; rs10900297 e rs2435357 no íntron 1), desencadeiam a diminuição da expressão do alelo RET definindo um alelo hipomórfico. Além disso, estes alelos de risco podem ser considerados fatores de suscetibilidade entre as diferentes etnias, com destaque para africanos, caucasianos e asiáticos.

Classe 2. Mutações relatadas, mas com patogenicidade apenas sugerida

Os resultados de Jiang et al. (2011), Cui et al. (2013) e Amooee et al. (2019), por meio de uma análise molecular indicaram alguns genes de neurodesenvolvimento (RET, GDNF, NRTN, SOX10, EDNRB, EDN3, NTN, ECE1, ZFHX1B, PHOX2B, KIAA1279/ KBP, TTF-1, TCF4, NRG113) que são conhecidos por abrigar mutações raras de elevada penetrância que promovem um grande risco para o portador. Entretanto, variações na maioria desses *loci* são encontradas principalmente nos casos sindrômicos, nos quais a HSCR está associada a outras malformações congênitas. Além disso, identificaram que mutações em MAPK10, ZFHX1B e SOX2 co-ocorrem com mutações RET e, dada sua biologia, é postulado que antagonizam ainda mais a função RET e são, portanto, modificadores da função biológica normal deste gene.

Os estudos de Jiang et al. (2011) e Jannot et al. (2013), identificaram que HSCR tem ocorrência frequente na trissomia 21 (Síndrome de Down, SD). Jannot et al. (2013) revelaram o envolvimento do gene DSCAM como um *locus* de susceptibilidade a HSCR, tanto na síndrome de Down quanto nos casos isolados de HSCR.

Ao considerar o gene NRG1, Jiang et al. (2011), Tang et al. (2016), Jiang et al. (2017) e Gunadi et al. (2018) relataram polimorfismos comuns de baixa penetrância que favorecem parcialmente ao risco da doença e podem atuar como modificadores genéticos. Analisaram os SNPs (Polimorfismo de Nucleotídeo Único) rs7835688 e rs16879552 no gene NRG1 (Neuregulina 1) para suscetibilidade à HSCR, e no estudo

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

de Gunadi et al. (2018), encontraram-se três variantes não sinônimas e uma variante de substituição de nucleotídeo na região 5' não traduzida desse gene.

No estudo de Tang et al. (2016), os autores realizaram uma metanálise buscando associação entre os principais SNPs de SEMA3 (rs12707682 e rs11766001), pois estes *loci* mapeiam para regiões não codificantes com impacto funcional pouco claro, e são susceptíveis de representar marcadores substitutos no desequilíbrio de ligação (LD), com variantes causais. Após o trabalho, verificou-se que SEMA3 mostra forte evidência de associação com HSCR.

No estudo de Lee et al. (2016) os autores verificaram polimorfismos no gene da família transportadora de soluto 6, membro 20 (SLC6A20) e sua associação com HSCR. Os autores sugerem que o gene SLC6A20 pode estar associado à HSCR ou ter papel no desenvolvimento do sistema nervoso entérico. Adicionalmente, revelou várias transcrições alternativas de SLC6A20 sugerindo que os SNPSs rs2191027, rs6770261 e rs2742396 podem afetar o *splicing* alternativo do gene com a produção de um novo transcrito e, portanto, levar à alteração da expressão do gene associada à patogênese do HSCR.

Na avaliação de Jiang et al. (2011), observou-se que os primeiros estudos citogenéticos identificaram a trissomia 21 (Síndrome de Down, SD) como uma ocorrência frequente no HSCR, sendo presente em 2–10% (média 5%) dos casos e, consequentemente, 40 vezes mais comum do que na população geral de recém-nascidos; por outro lado, ~0,8% dos indivíduos com SD têm aganglionose congênita. No estudo de Jannot et al. (2013), a avaliação de 10.895 dos SNPs em 26 casos levou a identificar dois polimorfismos associados (rs2837770 e rs8134673) em todo o cromossomo 21. Esses SNPs localizados no íntron 3 do gene DSCAM (dentro de uma região de bloqueio de desequilíbrio de ligação de 19 kb), estavam em associação completa e consistentes com a expressão de DSCAM durante o desenvolvimento do sistema nervoso entérico. O experimento de Jannot et al. (2013) no cromossomo 21 fornece uma nova metodologia para desvendar o determinismo genético de outros subfenótipos em pacientes com SD. Conclui-se, portanto, que mesmo utilizando metodologias diferentes, os dois trabalhos identificaram a ocorrência frequente de HSCR em pacientes com SD.

O estudo de Jiang et al. (2011), por sua vez, revelou ainda três variantes, uma deleção intrônica de 3,5 kb em MAPK10, uma duplicação exônica recorrente de 1,6 kb em ZFHX1B e uma duplicação recorrente de 5′UTR de 600 bp em SOX2, que são modificadores potenciais de HSCR. Observaram que esses modificadores são

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

enriquecidos em pacientes HSCR com anomalias adicionais além da aganglionose, o que seria um indicativo de contribuição desses genes no desenvolvimento de outros fenótipos, sem ser no sistema nervoso entérico. Esse resultado interessante pode direcionar a anamnese voltada a HSCR para esses genes auxiliando no diagnóstico laboratorial, no qual a primeira suspeita seria RET, buscando novos genes candidatos.

Romero et al. (2012), não encontrou associação estatisticamente significativa entre HSCR e os 3 genes polimórficos variantes na região de sinalização intracelular de CaSR. Destaca ser importante investigar ainda mais as variações genéticas no CaSR em mais coortes de pacientes, para melhor caracterizar a função deste gene e estabelecer uma correlação entre variantes CaSR e HSCR.

Nos estudos realizados por Quedas et al. (2012) Moore e Zaahl (2012), observa-se uma correlação genótipo-fenótipo que existe entre RET e as síndromes MEN2. Para Quedas et al. (2012), novas evidências apoiam o papel de um haplótipo RET que não está ligado à mutação C620R, descritas no desenvolvimento de HSCR, em uma família CMTF/MEN2. É mais provável devido à combinação de SNPs RET de baixa penetrância na região de risco para HSCR.

Na análise de Moore e Zaahl (2012), a presença de uma associação HSCR-MEN2 levanta a questão de quais pacientes com HSCR estão em maior risco de desenvolver neoplasia e, portanto, devem ser investigados por análise do gene RET. Mutações pontuais na área RET rica em cisteína na posição 620, juntamente com algumas outras áreas do gene RET (por exemplo, C609, C611 e C618) foram relatadas como sendo principalmente associadas ao fenótipo HSCR-MEN2.

A co-segregação de HSCR e MEN2 é particularmente interessante, pois envolve tanto um "desligamento" quanto um "ligamento" do gene no mesmo paciente. Em contraste com outras áreas de suscetibilidade, as mutações em RET identificadas como portadoras de risco para HSCR e MEN2 se aproximam do domínio transmembrana do gene (principalmente C620R, ocasionalmente C620S e raramente C620W). Com isso, mesmo avaliando pacientes com a síndrome MEN2, Quedas et al. (2012) e Moore e Zaahl (2012), chegaram a resultados distintos explicados por uso de metodologia de estudo diferentes.

Cui et al. (2013), rastrearam variações de DNA na codificação e nas regiões flanqueadoras 5′ e 3′ dos genes candidatos a síndrome de Waardenburg-Shah (WS4) conhecidos (EDN3, EDNRB, SOX10). O SNP em RET do íntron 1 (rs2435357), altamente associado ao HSCR e conhecido por interagir com o EDNRB, também foi

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

amplificado e sequenciado. Concluiu-se que no estudo da família brasileira, de ancestralidade europeia, que a manifestação do fenótipo HSCR pode requerer mutações em dois genes da mesma via (as variantes do EDNRB e do EDN3). Ademais, a característica adicional encontrada, no caso a heterocromia de íris, pode ter resultado de um evento genético independente, pois o estudo não apresentou evidências de associação.

Após estudos metodológicos distintos envolvendo o gene NRG1, Jiang et al. (2011), Tang et al. (2016), Jiang et al. (2017) e Gunadi et al. (2018), foram analisados os SNPs rs7835688 e rs16879552 do gene NRG1 para suscetibilidade à HSCR. O trabalho de Tang et al. (2016) mostrou que o polimorfismo encontrado em NRG1 são regiões que compreendem o promotor e o íntron 1, sendo universais entre os ancestrais europeus e asiáticos. Para Jiang et al. (2017), no polimorfismo rs7835688, o alelo C é o mais frequente na população causiana, seguida da asiática. Ao considerar a mutação desse gene, Gunadi et al. (2018), observou três variantes não sinônimas e uma variante de substituição de nucleotídeos na região 5' não traduzida desse gene: uma variante *missense* rara (c.397G>C - substituição de valina por leucina p.V133L) e três variantes comuns, rs7834206, rs3735774 e rs75155858.

Após a metanálise trans-étnica, Tang et al. (2016), constatou que os SNPs rs12707682, rs11766001 e rs80227144 alelo A/C do SEMA3, mostram forte evidência de associação com HSCR. Estes *loci* mapeiam para regiões não codificantes com impacto funcional pouco claro e são susceptíveis de representar marcadores substitutos no desequilíbrio de ligação (LD), com variantes causais.

Segundo Jiang et al. (2011), é importante ainda considerar o aspecto multifatorial de HSCR no que diz respeito as influências ambientais sobre os genes envolvidos, além da interação gene a gene que podem alterar o perfil de expressão da doença. Além disso, está acompanhada de outros defeitos congênitos em 5-32% dos casos, incluindo malformações no trato gastrintestinal, sistema nervoso central, rim, trato urinário e deficiência auditiva (MOORE e ZAAHL, 2012).

Finalmente, Jiang et al. (2011), Romero et al. (2012), Jannot et al. (2013), Cui et al. (2013), Quedas et al. (2012), Liang et al. (2014), Lee et al. (2016) , Jiang et al., (2017) e Amooee et al. (2019), concluem que embora as informações obtidas nos estudos citados sejam relevantes, tornando-se valiosas fontes de dados para subsidiar investigações e estudos futuros, outras avaliações funcionais são requeridas, como por exemplo, realizar a ampliação dos estudos em diferentes grupos populacionais.

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

DISCUSSÃO

Nesta revisão, os genes RET, MAPK10, ZFHX1B, SOX2, CaSR, DSCAM, EDNRB, EDN3, SLC6A20, NRG1, SEMA3 e seus respectivos polimorfismos podem ser considerados genes candidatos a HSCR, com potencial risco de associação a doença.

O gene RET (**OMIM#** 164761) é de fato o principal gene reconhecido como responsável por HSCR, porque é necessário certo nível de expressão da tirosina quinase na superfície celular, para que ocorra a migração dos gânglios em direção à porção distal do cólon ou para sua completa diferenciação (IWASHITA et al., 1996), assim em condição hipomórfica é justiçável o desenvolvimento da doença.

Em relação aos genes MAPK10 (**OMIM**#602897), ZFHX1B (**OMIM**#605802), SOX2 (**OMIM**#184429), CaSR (OMIM# 601199) devido aos mecanismos próprios de ação apontados no estudo, eles podem atuar como modificadores genéticos, mas não se pode afirmar que sejam os principais responsáveis pela determinação de HSCR, ou seja, são necessários estudos que explorem a ação destes genes.

Já o gene DSCAM (OMIM#602523) e sua associação a HSCR foi um achado interessante, pois além dos estudos confirmarem a presença da doença em associação com SD, este gene tem papel fundamental no desenvolvimento do sistema nervoso e pode estar relacionado à deficiência intelectual e anomalias viscerais- incluindo HSCR (YAMAKAWA et al., 1998; JANNOT et al., 2013).

Os genes EDNRB (OMIM# 131244) e EDN3 (OMIM# 131242) também são candidatos ao desenvolvimento de HSCR, pois o aumento na expressão do gene EDNRB induzida pela diminuição da expressão de Gli1 sugere um novo mecanismo patogênico para HSCR. Já EDN3, que expressa à proteína endotelina, foi implicado no desenvolvimento de neurônios entéricos da crista neural (LIU et al., 2018; CUI et al., 2013). Assim, ambos os genes são candidatos para patogenia de HSCR.

O gene SLC6A20 (OMIM# 605616) tem recente sugestão de associação com HSCR, principalmente na população asiática. Foi investigado que este gene tem um efeito de dose na extensão do segmento aganglionar durante o desenvolvimento do

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

sistema nervoso entérico (XIE et al., 2019; LEE et al., 2016), podendo também ser um bom candidato para os casos esporádicos da doenca.

NRG1 (OMIM#142445) expressa a neuregulina 1, esta proteína e seus receptores (ErbB), são essenciais para o desenvolvimento neuronal. A relação de NRG1 com HSCR têm sido amplamente estudada desde polimorfismos raros em populações específicas quanto os polimorfismos comuns, mostrando que este gene pode ter uma forte associação com a doença assim como RET (GARCIA-BARCELOS et al., 2009; TANG et al., 2011; LUZÓN-TORO et al., 2012; YANG et al., 2017; GUNADI et al., 2018; JANNOT et al., 2013).

Semaforina 3 (SEMA3), (OMIM# 603961) pertence a uma família de genes relacionados à HSCR. Foi verificado que o aumento de expressão de SEMA3A pode ser um fator de risco para a doença em um subconjunto de pacientes (WANG et al., 2011; TANG et al., 2016). A sinalização da semaforina 3C/3D é um regulador evolutivamente conservado no desenvolvimento do SNE, cuja desregulação é uma causa de aganglionose entérica (JIANG et al.2015). Diferentes polimorfismos encontrados em SEMA3, RET e NGR1 podem ser usados para estratificar a população de recém-nascidos em classes fenotípicas distintas, com riscos definidos para entender a etiologia do HSCR (KAPOOR et al., 2015).

Embora esta revisão tenha conseguido reunir estes genes candidatos e seus polimorfismos sugeridos na patogenia de HSCR, são reconhecidas as suas limitações metodológicas. Assim, não se afirma que além das mutações reconhecidas em RET, que outras condições genéticas sejam responsáveis pelo desenvolvimento universal de HSCR, ou seja, são necessárias outras abordagens para tal afirmação.

Destaca-se que o limitado número de trabalhos disponíveis na literatura, contribuiu no fornecimento de dados parciais, algumas vezes inconsistentes. Houve ocorrência frequente de viés de publicação, tanto potencial quanto seletivo. Outro ponto importante é a presença de heterogeneidade de informações, pois os estudos analisados abordam estratégias metodológicas divergentes, dificultando o estudo comparativo. Consequentemente, é notória a necessidade de amplificar o número de estudos disponíveis, bem como reproduzir tais estudos de forma disseminada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

Este estudo analisou os aspectos genéticos da doença de Hirschsprung relacionando aos genes confirmados e candidatos a sua patogenia. Confirmou-se que RET é o principal gene patogênico para HSCR por diminuição ou perda de função, sendo neste caso os polimorfismos identificados considerados alelos de risco para populações de origem africana, caucasiana e asiática. Os genes candidatos e seus polimorfismos sugeridos em associação com HSCR foram MAPK10, ZFHX1B, SOX2, CaSR, DSCAM, EDNRB, EDN3, SLC6A20, NRG1, SEMA3.

Outro aspecto relevante é a heterogeneidade genética, ou seja, HSCR pode se manifestar como herança autossômica dominante e recessiva, o que alternaria o padrão esperado de manifestação da doença. É poligênica, logo se reconhece que a interação entre genes também é um fator de alteração de expressão e fenótipo, podendo interferir nos graus de severidade ou modular a classificação de HSCR. E ainda multifatorial por existir a possibilidade de acúmulo de genes com efeito de interação, e/ou se manifestar de forma isolada associada ao fator ambiental; diferenciando sua manifestação e acentuando a severidade da doença.

A identificação de genes que causam HSRC e outros defeitos associados é importante, pois podem direcionar a anamnese e o diagnóstico laboratorial por incluir outros genes além de RET na pesquisa clínica.

Outro aspecto que torna complexa a identificação de genes associados à HSCR é o fato de se analisarem trabalhos que usam número variado de amostras, ausência de controles e metodologias diferenciadas. Estes aspectos causam viés de interpretação, por isso este estudo analisou os trabalhos considerando os genes como candidatos e os polimorfismos como sugeridos a associação para HSCR.

A falta de padronização, além da estabelecida nos critérios de estudo, faz com que a análise integrativa seja conduzida com cautela a fim de evitar interpretações errôneas e tendenciosidade. Neste sentido, sugere-se pesquisas futuras que consigam padronizar a análise a fim de evitar viés de publicação e garantir a análise segura destes dados sugeridos na literatura.

DOI: 10.29327/213319.21.1-3
Páginas 37 a 62

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

REFERÊNCIAS

AMOOEE, A.; LOOKZADEH, M. H.; MIRJALILI, S. R.; MIRESMAEILI, S. M.; AGHILI, K.; ZARE-SHEHNEH, M.; NEAMATZADEH, H. Association of RS2435357 e RS1800858 Polymorphisms in gene RET protooncogene with Hirschsprung disease: Systematic Review and Meta-analysis. **ABCD - Arquivos Brasileiros de Cirurgia digestiva**. São Paulo, 2019, v. 32, n. 3.

CUI, L.; WONG, E. H.; CHENG, G.; ALMEIDA, M. F.; SO, M. T.; SHAM, P. C.; CHERNY, S. S.; TAM, P. K.; GARCIA-BARCELÓ, M. M. Genetic Analyses of a Three Generation Family Segregating Hirschsprung Disease and Iris Heterochromia. **PLoS One,** 2013, v.8, n.6. Disponível: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066631>. Acesso em: 28 ago, 2020.

GARCIA-BARCELO, M. M.; TANG, C. S.; NGAN, E. S.; LUI, V. C.; CHEN, Y.; SO, M. T.; LEON, T. Y.; MIAO, X. P.; SHUM, C. K.; LIU, F. Q.; YEUNG, M. Y.; YUAN, Z. W.; GUO, W. H.; LIU, L.; SUN, X. B.; HUANG, L. M.; TOU, J. F.; SONG, Y. Q.; CHAN, D.; CHEUNG, K. M.; WONG, K. K.; CHERNV, S. S.; SHAM, P. C.; TAM, P. K. Genome-wide association study identifies NRG1 as a susceptibility locus for Hirschsprung's disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences.** Hong Kong, 2009, v. 106, n. 8, p. 2694-2699.

GUNADI; BUDI, N. Y. P.; SETHI, R.; FAUZI, A. R.; KALIM, A. S.; INDRAWAN, T.; ISKANDAR, K.; MAKHMUDI, A.; ADRIANTO, I.; SAN, L. P. **N**RG1 variant effects in patients with Hirschsprung disease. **BMC Pediatrics.** Yogyakarta, 2018, v. 18, n. 1.

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

IWASHITA, T.; MAURAKAMI, H.; ASAI, N.; TAKAHASHI, M. Mechanism of Ret dysfunction by Hirschsprung mutations affecting its extracellular domain. **Human Molecular Genetics**. Nagoya, oct. 1996, v. 5, n. 10, p. 1577–1580.

JANNOT, A. S.; PELET, A.; HENRION-CAUDE, A.; CHAOUI A.; MASSE-MOREL, M.; ARNOLD, S.; SANLAVILLE, D.; CECCHERINI, I.; BORREGO, S.; HOFSTRA, R. M.; MUNNICH, A.; BONDURAND, N.; CHAKRAVARTI, A.; CLERGET-DARPOUX, F.; AMIEL, J.; LYONNET, S. Chromosome 21 scan in Down syndrome reveals DSCAM as a predisposing locus in Hirschsprung disease. **PLoS One.** Paris, 2013, v. 8, n. 5. Disponível: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062519>. Acesso em: 28 ago. 2020.

JIANG, Q.; HO, Y. Y.; HAO, L.; NICHOLS, B. C.; CHAKRAVARTI, A. Copy number variants in candidate genes are genetic modifiers of Hirschsprung disease. **PLoS One.** Baltimore 2011, v.6, n.6. Disponível: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021219>. Acesso em: 28 ago. 2020.

JIANG, Q.; ARNOLD, S.; HEANUE, T.; KILAMBI, K. P.; DOAN, B.; KAPOOR, A.; LING, A. Y.; SOSA, M. X.; GUY, M.; JIANG, Q.; BURZYNSKI, G.; WEST, K.; BESSLING, S.; GRISERI, P.; AMIEL, J.; FERNANDEZ, R. M.; VERHEIJ, J. B G. M.; HOFSTRA, R. M. W.; BORREGO, S.; LYONNET, S.; CECCHERINIS, I.; GRAY, J. J.; PACHNIS, V.; MCCALLION, A. S.; CHAKRAVARTI, A. Functional Loss of Semaphorin 3C and/or Semaphorin 3D and Their Epistatic Interaction with Ret Are Critical to Hirschsprung Disease. **Liability, The American Journal of Human Genetics**. London, 2015. n. 96, n. 4, p. 581–596.

JIANG, M.; LI, C.; CAO, G.; YANG, D.; ZHANG, X.; YANG, L.; LI, S.; TANG, S. Effects of NRG1 Polymorphisms on Hirschsprung's Disease Susceptibility: A Meta-analysis. **Scientific Reports.** Wuhan, 2017, v. 7, n. 9913.

KAPOOR, A.; JIANG, Q.; CHATTERJEE, S.; CHAKRABORTY, P.; SOSA, M. X.; BERRIOS, C.; CHAKRAVARTI, A. Population variation in total genetic risk of Hirschsprung disease from common RET, SEMA3 and NRG1 susceptibility

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

polymorphisms. **Human Molecular Genetics**, Baltimore, may 2015, v. 24, n.10, p.2997–3003.

LEE, J. S.; OH, J. T.; KIM, J. H.; SEO, J. M.; KIM, D. Y.; PARK, K. W.; KIM, H. Y.; JUNG, K.; PARK, B. L.; KOH, I.; SHIN, H. D. Association Analysis of *SLC6A20* Polymorphisms With Hirschsprung Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. Seoul, 2016, v. 62, n.1, p. 64-70.

LIANG, C-M.; JI, D-M.; YUAN, X.; Ren L-L.; SHEN, J.; ZHANG, H-Y. RET and PHOX2B Genetic Polymorphisms and Hirschsprung's Disease Susceptibility: A Meta-Analysis. **PLoS One.** Hefei, 2014, v. 9, n. 3. Disponível: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090091>. Acesso em: 06 set. 2020.

LIU, W.; PAN, J.; GAO, J.; SHUAI, X.; TANG, S.; WANG, G.; TAO, K.; WU, C. Gli family zinc finger 1 is associated with endothelin receptor type B in Hirschsprung disease. **Molecular medicine reports**. Wuhan, 2018, v. 17, n. 4, p.5844-5850.

LUZÓN-TORO, B.; TORROGLOSA, A.; NÚÑEZ-TORRES, R.; ENGUIX-RIEGO, M. V.; FERNÁNDEZ, R. M.; AGUSTÍN, J. C.; ANTIÑOLO, G.; BORREGO, S. Comprehensive Analysis of *NRG1* Common and Rare Variants in Hirschsprung Patients. **PLoS One.** Hong Kong, 2012, v. 7, n. 5. Disponível: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036524>. Acesso em: 28 ago. 2020.

MOHER, D.; SHAMSEER, L.; CLARKE, M.; GHERSI, D.; LIBERATI, A.; PETTICREW, M.; SHEKELLE, P.; STEWART, L. A.; PRISMA-P GROUP. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews.** Ottawa, 2015, v. 4, n. 1.
MOORE, S. W.; ZAAHL, M. The Hirschsprung's-multiple endocrine neoplasia connection. **Clinics**, São Paulo, 2012, v. 67, n.1, p. 63-67.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene CaSR**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/601199>. Acesso em 03 de Outubro de 2020.

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene DSCAM**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/602523>. Acesso em 03 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene EDN3**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/131242>. Acesso em 03 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene EDNRB**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/131244>. Acesso em 03 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Hirschsprung Disease**. <https://www.omim.org/entry/142623>. Acesso em 16 de Setembro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene MAPK10**. Disponível em:<https://www.omim.org/entry/602897>. Acesso em 02 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene NRG1**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/142445>. Acesso em 04 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. Gene Ret**. Disponível em:<https://www.omim.org/entry/164761>. Acesso em 02 de Outubro de 2020.**

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene SEMA3**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/603961>. Acesso em 04 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene SLC6A20**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/605616>. Acesso em 04 de Outubro de 2020.

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. **Gene SOX2**. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/184429>. Acesso em 02 de Outubro de 2020.

QUEDAS, E. P. S.; LONGUINI, V. C.; SEKIYA, T.; COUTINHO, F. L.; TOLEDO, S. P. A.; TANNURI, U.; TOLEDO, R. A. RET haplotype, not linked to the C620R activating mutation, associated with Hirschsprung disease in a novel MEN2 family. **Clinics**. São Paulo, 2012, v. 67, n. 1, p. 57-61.

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

ROMERO, P.; NIESLER, B.; SCHMITZ-WINNENTHAL, H.; FITZE, G.; HOLLAND-CUNZ, S. Is there a link between the calcium sensing receptor and Hirschsprung's disease? A mutational analysis. **Journal of Pediatric Surgery**, 2012, v.47, n.3, p. 551–555.

TANG, C. S-M.; NGAN, E. S-W.; TANG, W-K.; SO, M-T.; CHENG, G.; MIAO X-P.; LEON, T. Y-Y.; LEUNG, B. M-C.; HUI, K-J. W.; LUI, V. H-C.; CHEN, Y.; CHAN, I. H-Y.; CHUNG, P. H-Y.; LIU, X-L.; WONG, K. K-Y.; SHAM, P-C.; CHERNY, S. S.; TAM, P. K-H.; GARCIA-BARCELO, M-M. Mutations in the NRG1 gene are associated with Hirschsprung disease. **Human Genetics**. Hong Kong 2012, v. 131, n. 1, p. 67-76.

TANG, C. S.; GUI, H.; KAPOOR, A.; KIM, J. H.; LUZÓN-TORO, B.; PELET, A.; BURZYNSKI, G.; LANTIERI, F.; SO, M. T.; BERRIOS, C.; SHIN, H. D.; FERNÁNDEZ, R. M.; LE, T. L.; VERHEIJ, J. B.; MATERA, I.; CHERNY, S. S.; NANDAKUMAR, P.; CHEONG, H. S.; ANTIÑOLO, G.; AMIEL, J.; SEO, J. M.; KIM, D. Y.; OH, J. T.; LYONNET, S.; BORREGO, S.; CECCHERINI I.; HOFSTRA, R. M.; CHAKRAVARTI, A.; KIM, H. Y.; SHAM, P. C.; TAM, P. K.; GARCIA-BARCELÓ, M. M. Trans-ethnic meta-analysis of genome-wide association studies for Hirschsprung disease. **Human Molecular Genetics**. Seoul, 2016, v. 25, n. 23, p. 5265–5275.

WANG, L. L.; FAN, Y.; ZHOU, F. H.; LI, H.; ZHANG, Y.; MIAO J. N.; GU, H.; HUANG, T. C.; YUAN, Z. W. Semaphorin 3A expression in the colon of Hirschsprung disease. **Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology.** Whuang, 2011, v. 9, n. 19, p. 842-847.

XIE, X.; HE, Q.; HUANG, L.; LI, L.; YAO, Y.; XIA, H.; ZHAO, J.; ZHONG, W.; ZHANG, Y. Associations of SLC6A20 Penetic Polimorphisms with Hirschprung's Disease in a Southern Chinese population. **Bioscience Reports.** Guangdong, 2019, v. 39, n. 8.

Temas em Saúde
Volume 21, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2021

Artigo

YAMAKAWA, K.; HUO, Y-K.; HAENDEL, M. A.; HUBERT, R.; CHEN, X-N.; LYONS, G. E.; KORENBERG, J. R. DSCAM: a novel member of the immunoglobulin superfamily maps in a Down syndrome region and is involved in the development of the nervous system. **Human Molecular Genetics**. Los Angeles, 1998, v. 7, n. 2, p.227–237.

YANG, D.; YANG, J.; LI, S.; JIANG, M.; CAO, G.; YANG, L.; ZHANG, X.; ZHOU, Y.; LI, K.; TANG, S-T. Effects of *RET, NRG1* and *NRG3* Polymorphisms in a Chinese Population with Hirschsprung Disease. **Scientific Reports.** Whuan, 2017, v. 3, n. 7.

ZHANG, Z.; LI, Q.; DIAO, M.; LIU, N.; CHENG, W.; XIAO, P.; ZOU, J.; SU, L.; YU, K.; WU, J.; LI, L.; JIANG, Q. Sporadic Hirschsprung Disease: Mutational Spectrum and Novel Candidate Genes Revealed by Next-generation Sequencing. **Scientific Reports.** Beijing, 2017, v. 7, n. 1.