



Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis

Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido
com Colestase Neonatal? - Uma Revisão Bibliográfica

Jéssica Nicole Moniz Lemos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(Mestrado Integrado)

Orientador: Professor Doutor Jorge Luiz dos Santos
Co-orientador: Doutora Luísa Maria Jota Pereira Amaral

maio 2021

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Dedicatória

Aos meus pais por estarem sempre presentes

Ao longo desta caminhada repleta de adversidades,

À distância e ao curso em si inerentes

Que deixavam os corações cheios de saudades.

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Agradecimentos

Um agradecimento especial ao meu orientador, o Professor Doutor Jorge Luís dos Santos, pelo excelente profissional e docente que é, destacando-se no seu trabalho e investigação em Colestase Neonatal. A paixão e a dedicação que demonstra por este tema para que centenas de recém-nascidos no mundo inteiro possam ser diagnosticados e ter uma vida semelhante à das restantes crianças é inspirador. Foi um aprendizado e uma honra enorme em trabalhar consigo Professor Jorge.

Muito obrigada à Doutora Luísa Maria Jota Pereira Amaral por ter aceitado fazer parte deste projeto e pela disponibilidade e amabilidade que sempre demonstrou.

Agradeço à Universidade da Beira Interior e à Faculdade Ciências da Saúde por estes 6 anos ricos de emoções e desafios, onde cresci imenso e me tornei a pessoa que sou hoje.

A todos os docentes e profissionais que me cruzei e que partilharam comigo um pouco do seu conhecimento.

Aos meus amigos e a todas as pessoas que conheci e que fizeram a diferença nestes anos passados na Covilhã.

À Covilhã por se ter tornado a minha casa a tempo inteiro, permitindo conhecer pessoas e sítios encantadores que recordarei para sempre.

Por fim, agradeço aos meus pais que são os meus maiores apoiantes e que sempre acreditaram em mim. Principalmente, à minha mãe Lina que é a pessoa que mais me ouviu e deu conselhos ao longos destes 6 anos.

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Prefácio

Título: Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis

Subtítulo: Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal? - Uma Revisão Bibliográfica.

Autor(a): Jéssica Nicole Moniz Lemos

Orientador(es): Professor Doutor Jorge Luíz dos Santos e Doutora Luísa Maria Jota Pereira Amaral

Área Científica: Gastroenterologia Pediátrica

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Resumo

Introdução: A Colestase Neonatal é uma doença rara, com uma incidência estimada de 1:2500 nados vivos. No entanto, com elevada morbidade e mortalidade se não for diagnosticada e tratada precocemente. Define-se como: bilirrubina direta ou conjugada > 1.0 mg/dL, num recém-nascido com icterícia prolongada, colúria e hipocolia/acolia. O seu diagnóstico é considerado um desafio ainda nos dias de hoje.

Objetivos: Esta dissertação pretende investigar qual a abordagem diagnóstica a um recém-nascido com Colestase Neonatal e como dever ser estabelecido o diagnóstico diferencial entre as causas intra-hepáticas e extra-hepáticas.

Metodologia: Pesquisa na base de dados da PubMed de artigos que abordem as diferentes etiologias e meios de diagnóstico relevantes para o tema da Colestase Neonatal, publicados entre 1 de janeiro de 2014 e 1 de janeiro de 2020.

Resultados: Uma história clínica exaustiva, um exame físico completo, a observação da coloração das fezes e achados laboratoriais específicos são orientadores nos exames a pedir e fundamentais para a investigação. A ecografia abdominal não é suficiente para estabelecer um diagnóstico definitivo de atresia biliar, sendo cruciais a biópsia hepática percutânea e a colangiografia intraoperatória, para o mesmo. O sequenciamento de próxima geração é também essencial à triagem dos diversos distúrbios metabólicos/genéticos. Contudo, a relação custo-benefício precisa ser avaliada, continuando a ser necessário um elevado índice de suspeição para o diagnóstico correto.

Conclusões: Na abordagem diagnóstica é importante estratégias de triagem quando o recém-nascido apresenta um quadro sugestivo de Colestase Neonatal. A biópsia hepática percutânea permanece o “gold standard” na avaliação diagnóstica, fornecendo um diagnóstico correto em 90% a 95% dos casos. Embora, um acesso mais generalizado do sequenciamento de próxima geração à população mundial e à utilização efetiva do cartão da escala cromática das fezes são fulcrais para um aumento no rendimento diagnóstico.

Palavras-chave

Neonatal Cholestasis; Neonatal Liver Failure; Guideline Diagnosis; Liver biopsy; Randomized Controlled trial.

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Abstract

Introduction: Neonatal Cholestasis is a rare disease, with an estimated incidence of 1:2500 live births. However, with high morbidity and mortality if not diagnosed and treated early. Defined as: direct or conjugated bilirubin > 1.0 mg/dL, in a newborn with prolonged jaundice, choluria and hypocholia/acolia. Nowadays, the diagnosis is still considered a challenge.

Objectives: This Master's Degree Thesis intends to investigate the diagnostic approach to a newborn with Neonatal Cholestasis and how the differential diagnosis between intrahepatic and extrahepatic causes should be established.

Methodology: Search on PubMed database of articles that address the different etiologies and means of diagnosis relevant to the theme of Neonatal Cholestasis, published between January 1, 2014 and January 1, 2020.

Results: An exhaustive clinical history, a complete physical examination, the observation of stool staining and specific laboratory findings are guidance to order the tests and are fundamental for the investigation. Abdominal ultrasound is not sufficient to establish a definitive diagnosis of biliary atresia, and percutaneous liver biopsy and intraoperative cholangiography are crucial for it. Next-generation sequencing is also essential for screening various metabolic/genetic disorders. Nonetheless, the cost-benefit ratio needs to be assessed, and a high level of suspicion remains necessary for the correct diagnosis.

Conclusions: In the diagnostic approach, screening strategies are important when the newborn present a condition suggestive of Neonatal Cholestasis. Percutaneous liver biopsy remains the “gold standard” in the diagnostic evaluation, providing a correct diagnosis in 90% to 95% of cases. Though, a more widespread access of next-generation sequencing to the world population and effective use of the stool chromatic scale card are central to an increase in diagnostic yield.

Keywords

Neonatal Cholestasis; Neonatal Liver Failure; Guideline Diagnosis; Liver biopsy; Randomized Controlled trial.

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Índice

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos	v
Prefácio	vii
Resumo.....	ix
Palavras-chave	ix
Abstract.....	xi
Keywords.....	xi
Lista de Figuras.....	xv
Lista de Tabelas.....	xvii
Lista de Acrónimos.....	xix
1. Introdução.....	21
1.1. Conceito de Colestase Neonatal.....	21
1.2. Diagnóstico diferencial da Colestase Neonatal.....	21
1.2.1. Causas Extra-hepáticas.....	24
1.2.2. Causas Intra-hepáticas.....	24
1.2.3. Desafios no diagnóstico.....	29
2. Objetivos	31
3. Metodologia	33
4. Desenvolvimento	35
4.1. Abordagem diagnóstica.....	35
4.1.1. Manifestações clínicas	35
4.1.2. Achados laboratoriais.....	38
4.1.3. Imagiologia.....	39
4.1.4. Histologia	41
4.1.5. Estudos moleculares.....	44

4.2. Proposta de algoritmo de investigação.....	46
4.2.1. Quisto do Colédoco.....	47
4.2.2. Atresia Biliar.....	47
4.2.3. PFICs	47
4.2.4. Síndrome de Alagille,,,,,,,,,.....	48
4.2.5. Fibrose Quística	49
4.2.6. Défice de alfa-1-antitripsina.....	50
4.2.7. Distúrbios da síntese dos sais biliares primários.....	50
4.2.8. Citomegalovírus.....	51
4.2.9. Distúrbios endócrinos	51
4.2.10. Défice de citrina	52
4.2.11. Niemann-Pick tipo C	52
4.2.12. Galactosémia	53
4.2.13. Tirosinémia tipo I.....	53
4.2.14. Insuficiência Hepática Aguda	53
4.2.15. Colestase associada à Nutrição Parenteral.....	55
5. Conclusões.....	57
6. Bibliografia.....	59
7. Apêndice.....	65

Lista de Figuras

Figura 1 – Achados histopatológicos obstrutivos, compatíveis com o diagnóstico de uma obstrução biliar de causa extra-hepática.....	42
Figura 2 – Reação ductular num paciente com AB.....	42
Figura 3 – Padrão hepatítico, inespecífico.....	43
Figura 4 – Algoritmo de investigação num recém-nascido/latente com hiperbilirrubinémia direta.....	46

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Causas de Colestase Neonatal.....	22
--	----

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

Lista de Acrónimos

A1AT	Alfa-1-antitripsina
AB	Atresia Biliar
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
BD	Bilirrubina Direta
BT	Bilirrubina Total
CMV	Citomegalovírus
CMVc	Citomegalovírus congénito
CPRE	Colangiopancreatografia Retrógrada Endoscópica
DA1AT	Défice de alfa-1-antitripsina
EBV	Epsteín-Barr vírus
FA	Fosfatase alcalina
FQ	Fibrose quística
GALT	Galactose 1-fosfato-uridiltransferase
GGT	Gama Glutamil Transferase
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HSV	Herpes Simplex Vírus
IHA	Insuficiência Hepática Aguda
INR	International Normalized Ratio
LC-MS	Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry
MS/MS	Tandem Mass Spectrometry
NGS	Next-Generation Sequencing
NP	Nutrição Parenteral
NPAC	Nutrição Parenteral associada à colestase
NPC	Niemann-Pick Tipo C
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFIC	Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis
RM	Ressonância Magnética
RN	Recém-nascido
SA	Síndrome de Alagille
TP	Tempo de Protrombina
TYR I	Tirosinémia tipo I

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

1. Introdução

1.1. Conceito de Colestase Neonatal

A Colestase é o termo utilizado para descrever a redução do fluxo biliar, por alterações anatômicas ou funcionais. Consiste no bloqueio da secreção e do fluxo biliar, resultando no acúmulo de pigmentos biliares nos hepatócitos e canais biliares, e aumento da concentração sérica dos produtos que são excretados em circunstâncias normais pela bÍlis, como: a bilirrubina, os ácidos biliares e o colesterol. A Colestase Neonatal traduz-se numa hiperbilirrubinemia direta ou conjugada desde o período neonatal até aos primeiros 3 meses de vida. (1,2)

Atualmente, define-se com a determinação da bilirrubinemia direta superior a 1.0 mg/dL num RN com icterícia. As principais manifestações são: icterícia prolongada (há mais de 2 semanas), colúria (urina amarelada na fralda) e hipocolia ou acolia (persistente há pelo menos 10 dias). (3)

Apresenta uma incidência estimada de 1:2500 nados vivos. Apesar de ser uma entidade rara é potencialmente grave, com uma elevada morbilidade e mortalidade se não for diagnosticada e tratada precocemente. (4,5)

1.2. Diagnóstico diferencial da Colestase Neonatal

Durante a colestase, o fluxo normal do ácido biliar e a excreção da bilirrubina direta (BD) na bÍlis são prejudicados. Qualquer recém-nascido com icterícia prolongada deve ser avaliado rapidamente e encaminhado a um Centro de Referência em Hepatologia/Gastroenterologia Pediátricas para identificar prontamente a etiologia da icterícia e iniciar tratamento médico ou cirúrgico apropriado. Mesmo quando o tratamento específico não está disponível ou não é curativo, pode beneficiar com o tratamento médico precoce e nutrição otimizada para prevenção de complicações, e permitir o crescimento e desenvolvimento do paciente. (6)

A Colestase pode ser dividida em: intra-hepática quando o distúrbio metabólico, secretor ou obstrutivo ocorre dentro do fígado, e extra-hepática quando há obstrução mecânica do fluxo biliar nos grandes ductos extra-hepáticos (por exemplo, na atresia biliar).

Os distúrbios mais comumente identificáveis são: atresia biliar (25%-40%), com cada vez mais frequência os distúrbios monogênicos reconhecidos (25%) e causas multifatoriais. Em prematuros, a colestase associada à nutrição parenteral é mais comum, devido: à imaturidade do sistema excretor biliar, ausência de alimentação oral, sobre crescimento bacteriano ou sépsis. (6)

Tabela 1 – Causas de Colestase Neonatal

CAUSAS INTRA-HEPÁTICAS
<p>A. Hepatite neonatal idiopática – mecanismo desconhecido</p> <p>B. Transtorno da embriogênese</p> <ol style="list-style-type: none">1. Síndrome de Alagille (genes JAG1 e NOTCH2)2. Malformação da Placa Ductal: ARPKD, ADPLD, doença de Caroli, Síndrome de Joubert com fibrose hepática congênita (Síndrome COACH), Síndrome de Meckel, Displasia renal-hepático-pancreática 1 (gene NPHP3) <p>C. Transtorno da biossíntese e conjugação dos sais biliares</p> <ol style="list-style-type: none">1. Deficiência de 3-oxo-4-esteroid 5β-reductase2. Deficiência de 3β-hidróxi-5-C27-steroid desidrogenase3. Deficiência de oxisterol 7α-hidroxilase4. Deficiência de LCAT (Hipercolenemia familiar)5. Transtorno funcional da alfa-metilacil-CoA racemase – Defeito congênito da síntese de ácido biliar tipo 4 <p>D. Transtorno do transporte e secreção pela membrana</p> <ol style="list-style-type: none">1. <i>Transtorno da secreção canicular</i><ol style="list-style-type: none">a. Transporte de sais biliares – Deficiência de BSEP<ol style="list-style-type: none">i. Persistente progressiva (PFIC2)ii. Recorrente benigna (BRIC2)b. Transporte de fosfolípidos – Deficiência MDR3 (PFIC3)c. Transporte iônico – Fibrose Quística (CFTR)2. <i>Transtorno das complexos juncionais entre os hepatócitos e os canaliculos biliares</i><ol style="list-style-type: none">a. Anormalidade da proteína do complexo juncional 2 (PFIC4)3. <i>Transtornos complexos ou multiorgânicos</i><ol style="list-style-type: none">a. Deficiência da FIC1 (distúrbio da translocação da fosfatidilserina)<ol style="list-style-type: none">i. Persistente progressiva (PFIC1)ii. Recorrente benigna (BRIC1)b. Colangite esclerosante neonatal com ictiose (gene CLDN1)c. Colangite esclerosante neonatal sem ictiose (gene DCDC2)d. Disfunção artrogripose-renal-colestase (genes VPS33B, VIPAS39)e. Xantomatose cerebrotendinosa (gene CYP27A1)f. Disfunção da glicosilação congênita (ALG 3, ALG 8, GLS1, PMM2, MPI, COG1, COG7, ATP6AP1)

- g. Disfunção Secundária do metabolismo dos sais biliares: Síndrome de Zellweger, distúrbios dos peroxissomos com envolvimento de mutação do gene PEX e doença de Refsum neonatal
- h. Disfunção do ciclo de ureia: citrulinemia do tipo II (colestase por deficiência de citrina, gene SLC25A13)
- i. *Outras*: hepatopatias mitocondriais (síndrome de depleção mitocondrial, genes dGK, POLG, MPV17) e déficit do complexo III (gene BCS1L).

E. Distúrbio funcional dos recetores nucleares dos ácidos biliares

- 1. PFIC 5 (gene NR1H4) – defeito funcional do FXR

F. Doenças hepáticas metabólicas

- 1. **Transtorno Glandular:** hipotiroidismo, hipopituitarismo
- 2. **Com envolvimento do trato biliar:** deficiência de α_1 -antitripsina (fenótipo Z, gene SERPINA), fibrose quística (Gene $\Delta F508$)
- 3. **Sem envolvimento do trato biliar:** *Transtorno do metabolismo de hidratos de carbono* (Galactosémia, Intolerância hereditária à frutose, Glicogenose IV, Síndrome de deficiência da glicoproteína dos hidratos de carbono), *Transtorno do metabolismo dos aminoácidos* (Tirosinémia), *Transtorno do metabolismo dos lípidos* (Síndrome de Wolman, Niemann-Pick, Gaucher tipo 2 e doença de Farber)

G. Infecções Congénitas

- 1. **Parasítica:** Toxoplasmose
- 2. **Viral:** Rubéola, Citomegalovírus, herpes simples, Vírus hepatotrópicos (A, B e C), HIV, Parvovírus 19, Varicela, Paramixovírus, Sepse entérica viral (echo-, coxsackie e adenovírus)
- 3. **Bacteriana:** Sífilis, Sepsis bacteriana, Infecção do trato urinário, Listeriose, Tuberculose

H. Transtornos Imunes

- 1. Lúpus eritematoso neonatal
- 2. Hepatite neonatal com anemia hemolítica autoimune
- 3. Hemocromatose neonatal

I. Associado à nutrição parentérica total

J. Miscelânea

- 1. Histiocitose X
- 2. Hepatite fibrosante com leucemia transitória (trissomia 21)
- 3. Choque e hipoperfusão
- 4. Asfixia neonatal
- 5. Associada a obstrução intestinal

CAUSAS EXTRA-HEPÁTICAS

Atresia Biliar
Quisto do Colédoco
Perfuração Espontânea do Ducto Biliar Comum
Barro Biliar
Colelitíase

1.2.1. Causas Extra-hepáticas

A Colestase Extra-hepática é causada principalmente pela atresia biliar (completa obstrução de parte ou da totalidade das vias biliares extra-hepáticas) e o quisto do colédoco. (7)

A **atresia biliar** (AB) é uma colangiopatia fibrosante idiopática, cuja prevalência varia de acordo com a localização em todo o mundo, ocorrendo em 1 em 6000 a 18000 nados vivos (1 em 6000 em Taiwan, 1 em 12000 nos Estados Unidos e 1 em 18000 na Europa). É a causa mais frequente de icterícia obstrutiva nos primeiros 3 meses de vida e a indicação mais comum para transplante hepático pediátrico (40-50%). (3,4,6,8)

O perfil clínico da AB é geralmente: um recém-nascido de termo, com peso ao nascimento adequado à idade gestacional, boa progressão ponderal nas primeiras semanas de vida (e em regra até aos 3 meses), boa vitalidade, e fezes acólicas. A sua condição clínica pode, às vezes, sugerir falsamente icterícia fisiológica ou da amamentação, a menos que a bilirrubina direta seja medida. Até 20% exibem malformações congénitas associadas, como anomalias na determinação da lateralidade (situs inversus, situs ambiguus, etc.) que podem ajudar a orientar o diagnóstico correto. (6,9)

O diagnóstico precoce da AB é de fundamental importância, pois quando o tratamento cirúrgico (portoenterostomia de Kasai) é realizado até os 60 dias de vida, o restabelecimento do fluxo biliar é obtido em até 70% dos pacientes e naqueles operados com mais de 90 dias vida, em menos de 25%. Infelizmente, o encaminhamento tardio das crianças com atresia biliar ainda é um problema. (4)

1.2.2. Causas Intra-hepáticas

As causas intra-hepáticas mais comuns apresentam herança genética (PFIC, Síndrome de Alagille, déficit de alfa-1-antitripsina), enquanto adquiridas são principalmente a colestase associada à nutrição parenteral total e a sépsis em prematuros, tal como, as infeções congénitas. (10)

Os recém-nascidos com colestase de causa intra-hepática podem apresentar um aspeto doente, baixo ganho pondero-estatural, sinais sistémicos de doença ou fenótipos sindrómicos. O diagnóstico diferencial inclui uma ampla gama de desordens, que estão apresentadas na Tabela 1, incluindo: hepatite neonatal idiopática, transtornos da embriogénese (SA, Malformação da Placa Ductal), transtornos da biossíntese e conjugação dos sais biliares, transtornos do transporte e secreção pela membrana (da secreção

canalicular [PFIC2, PFIC3, FQ], dos complexos juncionais entre os hepatócitos e os canalículos biliares [PFIC4], complexos ou multiorgânicos [PFIC1, Colangite esclerosante neonatal, défice de citrina, etc.], distúrbio funcional dos recetores nucleares do ácidos biliares (PFIC5), doenças hepáticas metabólicas (hipotiroidismo, DA1AT, FQ, Galactosémia, Intolerância hereditária à frutose, Tirosinémia, etc.), infeções congénitas (CMV, HSV, HIV, etc.), transtornos imunes (ex: hemocromatose neonatal), colestase associada à Nutrição Parenteral, entre outras. O diagnóstico de doenças genéticas hepáticas tem evoluído muito com o sequenciamento de próxima geração (NGS) baseado em painel. (6,10)

➤ Colestase Intra-hepática Familiar Progressiva (PFIC)

As PFICs são causadas por variantes patogénicas dos genes envolvidos no transporte hepatobiliar canalicular, que se manifestam como: colestase neonatal, fibrose hepática progressiva ou até mesmo cirrose precoce e défice do crescimento. (3,10)

➤ Síndrome de Alagille (SA)

É um distúrbio multissistémico associado a rarefação de ductos biliares intra-hepáticos e eventualmente hipoplasia dos ductos biliares extra-hepáticos devido à redução do fluxo biliar. Envolve uma falha na morfogénese do sistema biliar intra-hepático. Apresenta transmissão por herança dominante (embora, a maior parte dos casos ocorram “de novo” nas famílias), resultante de mutações em JAG1 (94%) ou do gene para o seu receptor NOTCH2 (2%). (11)

A SA é a causa mais comum de Colestase intra-hepática familiar, afetando 1:30.000 crianças. O fenótipo típico é: fácies triangular com queixo pontiagudo, olhos afastados, testa proeminente, atresia da artéria pulmonar, anomalias intracardíacas (ex: tetralogia de Fallot), anomalias do esqueleto (ex: vértebras em borboleta) e oculares (ex: *embriotóxon posterior*). (12,13)

A escassez de ductos biliares intralobulares refere-se à ausência ou perda de pequenos ductos biliares intra-hepáticos. A ductopenia é definida na biópsia hepática como um espécime contendo pelo menos 10 tratos portais com a relação entre o ducto biliar intralobular e o trato portal $< 0,4-0,9$. A escassez ductal está presente em 4-16% dos recém-nascidos colestáticos. A rarefação biliar, no entanto, pode ser uma característica normal em prematuros ou ocorrer noutras doenças. Pode acontecer também, secundariamente a anomalias cromossómicas, infeções (citomegalovírus), erros inatos do metabolismo (FQ,

défice de alfa-1-antitripsina, Niemann-Pick tipo C), causas nutricionais (nutrição parenteral total) e endócrinas (hipopituitarismo). (14)

➤ Fibrose Quística (FQ)

É uma doença hereditária comum de manifestação multissistêmica, afetando principalmente a função pulmonar e pancreática, ocorrendo em cerca de 1 em 3000 nascimentos. É causada por uma mutação no gene $\Delta F508$ que codifica CTFR (regulador de condução da membrana da fibrose quística), causando uma alteração nos mecanismos de transporte dos eletrólitos da membrana apical de células de diversos epitélios, incluindo o epitélio biliar, resultando na formação de bílis espessada e ácida. Assim, leva à obstrução do ducto por secreções e toxicidade nos colangiócitos e hepatócitos, conduzindo a inflamação, proliferação ductular e ativação dos miofibroblastos para produção de fibrose. A biópsia hepática é usada no diagnóstico, sendo comum se verificar esteatose. (11)

➤ Défice de alfa-1-antitripsina (A1AT)

O défice de alfa-1-antitripsina (A1AT) é o distúrbio genético no fígado mais comum em crianças e o segundo indicador mais frequente de transplante hepático a seguir à atresia biliar. Na Europa a prevalência é de aproximadamente 1/2500. (3,15)

A A1AT é um inibidor da protease serina com a estrutura de uma glicoproteína, em que algumas mutações (fenótipo PiZ) impedem o dobramento normal da proteína levando a danos no fígado, devido à agregação de proteínas A1AT mal dobradas dentro do retículo endoplasmático dos hepatócitos. A acumulação anormal da glicoproteína nos hepatócitos leva a inflamação hepática, fibrose e cirrose através do despoletar de uma cascata de apoptose hepatocelular crônica, regeneração e lesão de órgão-alvo. Em até 10% há uma escassez de ductos biliares. O prognóstico é pior se a icterícia for prolongada (mais de 6 semanas) e a biópsia demonstrar uma reação ductular marcada, fibrose severa com pontes de fibrose extensiva. Pacientes com cirrose estão em risco aumentado de carcinoma hepatocelular. (11,15).

A apresentação típica do défice de A1AT em homozigotos (PiZZ) é a colestase neonatal, acompanhada por sinais como: ganho de peso insuficiente, perda de apetite, prurido ou hepatoesplenomegalia. No entanto, a maioria dos recém-nascidos aparentam ser saudáveis (exceto quando já há um aumento moderado dos níveis das enzimas hepáticas) e a doença raramente causa doença hepática crônica ou cirrose na infância.

Heterozigotos (PiMZ) geralmente aparentam saudáveis e assintomáticos, embora estudos demonstram que apresentam 3 a 5 vezes maior risco de doença hepática crônica e cirrose que a população em geral. Programas de rastreio devem ser implementados, para assim, evitar atrasos no diagnóstico. (16)

➤ Intolerâncias Congénitas

Doenças hepáticas metabólicas são responsáveis por 13-43% dos casos de insuficiência hepática aguda em recém-nascidos e crianças pequenas. A insuficiência hepática aguda (IHA) neonatal é definida como uma falha na função sintética do fígado até 4 semanas do nascimento. Intolerâncias congénitas incluem: transtornos no metabolismo dos hidratos de carbono, dos aminoácidos e dos lípidos. (17)

A Tirosinémia tipo I (ou intolerância hereditária aos aminoácidos) é causada por uma deficiência de fumarilacetato hidroxilase. É uma doença autossômica recessiva caracterizada pelo desenvolvimento de doença hepática grave na infância e por crises neurológicas. A maioria morre nos primeiros anos de vida se não tratada. (17,18)

A incapacidade de metabolizar a galactose resulta em Galactosémia (ou intolerância hereditária à galactose), que é uma doença autossômica recessiva que afeta os recém-nascidos, que nascem assintomáticos, aparentemente saudáveis até que consomem leite que contém galactose. A detecção e intervenção precoce, restringindo a galactose, não é curativa, mas evita: a morte, atraso mental, insuficiência hepática, acidose tubular renal e sequelas neurológicas. A galactosémia clássica (tipo I) caracterizada por deficiência severa de GALT, apresenta uma incidência de 1:40.000 a 1:60.000. Durante os primeiros 10 dias de vida é quando ocorre a maioria das mortes em neonatos, sendo estas atribuídas a sépsis por *Escherichia coli*. (19)

Niemann-Pick tipo C (NPC) é um distúrbio de armazenamento lisossomal neurovisceral, cuja apresentação neonatal é rara (1/120.000), apresentando um mau prognóstico devido às complicações pulmonares e hepáticas, levando a morte prematura por doença hepática progressiva. Devido às apresentações viscerais inespecíficas, o diagnóstico de NPC é um desafio. Os sintomas viscerais e a história familiar positiva foram relatados como os mais fortes preditores da doença. (20)

➤ Infecções Congénitas

Citomegalovírus (CMV) – É a infecção congénita mais comum e afeta 1% a 2% dos recém-nascidos. A maioria dos recém-nascidos infetados são assintomáticos, no entanto, 5% a 10% apresentam: baixo peso ao nascimento, microcefalia, calcificações periventriculares, coriorretinite e surdez. Os problemas hepáticos mais proeminentes são: a hepatoesplenomegalia e a hiperbilirrubinémia, incluindo a colestase neonatal. O diagnóstico de CMV congénito (CMVc) é confirmado por cultura ou PCR da nasofaringe, saliva, sangue ou urina logo após o nascimento. Os anticorpos específicos IgM do CMV podem ser monitorizados, mas são de valor limitado e podem ser pouco sensíveis. (3)

Herpes simplex vírus (HSV) – O agente viral mais associado à insuficiência hepática aguda neonatal. Apresenta uma elevada taxa de mortalidade se o tratamento por aciclovir não for feito precocemente. Estas infecções são geralmente adquiridas no canal de parto de mães com infecção vaginal ativa do HSV, embora possa ser assintomática. Qualquer evidência de infecção ativa, o método preferencial para o nascimento é a cesariana. (21)

A insuficiência hepática fulminante se caracteriza por uma grande alteração das enzimas hepáticas, coagulopatia não responsiva à vitamina K e, após a terceira semana de vida, também por sinais de encefalopatia. Esta pode ocorrer por vírus (por exemplo: HSV e EBV), mas também por doenças metabólicas (ex: tirosinémia) ou hemocromatose neonatal. Quando não é descoberta a etiologia deve se iniciar o tratamento com aciclovir, mesmo na ausência de resultados no teste para o HSV, devido à importância de um diagnóstico e tratamento precoce. (22)

Além destes vírus, outros que podem apresentar colestase neonatal, menos frequentemente, são: o parvovírus B19, enterovírus, HIV, entre outros. (23)

➤ Colestase associada à Nutrição Parenteral (NPAC).

A Nutrição Parenteral (NP) melhora a sobrevivência dos neonatos prematuros. No entanto, NP prolongada aumenta o risco de Colestase associada à Nutrição Parenteral (NPAC). O diagnóstico deve ser investigado em todos os pacientes sob Nutrição Parenteral total que apresentem colestase. (24)

A NPAC pode ser multifatorial, tendo sido associados como fatores de risco: a administração prolongada de NP, o baixo peso ao nascimento, a prematuridade, infecções severas, componentes da NP, sobrecarga calórica total, défices enzimáticos, causas genéticas, fatores anatómicos, ausência de alimentação enteral, o ser pequeno para a idade

gestacional, sexo masculino e ressecção intestinal. A incidência geral de NPAC é de 28.2% em crianças recebendo NP por 14 dias ou mais. (25)

Neonatos com NPAC têm uma maior proporção de sépsis (80% vs 34%) e também é maior o número de prematuros com sépsis com NPAC em comparação com aqueles sem NPAC. O número de meninos é maior no grupo NPAC do que no grupo não NPAC. Duração prolongada (superior ou igual a 43 dias) da NP, sexo masculino e sépsis são provavelmente fatores de risco independentes para o desenvolvimento de NPAC em neonatos prematuros. (25)

1.2.3. Desafios no diagnóstico

O diagnóstico clínico da colestase neonatal é considerado um processo extremamente desafiador, desde a importância da distinção entre colestase extra-hepática e intra-hepática, até ao facto de a atresia biliar ser considerada uma emergência cirúrgica num recém-nascido. (7)

Um diagnóstico imediato depende do reconhecimento básico de que o recém-nascido tem hiperbilirrubinémia conjugada. Se esta é fisiologicamente benigna ou não conjugada associada ao leite materno, é frequente as fezes e a urina serem de coloração normal. Portanto, a presença de fezes hipocólicas ou até mesmo acólicas, e urina pigmentada (amarelada) devem levantar a suspeita de doença hepática em todos os recém-nascidos ictericos. No entanto, estes sintomas podem surgir relativamente tarde na AB e pode não ser reconhecida. Assim, foi recomendado pela *American Academy of Pediatrics* que todos os infantes com icterícia persistente além das 2-3 semanas de idade, deve ser medida a bilirrubina direta (BD) para identificação de Colestase Neonatal e avaliação numa unidade de referência. Embora, apesar destas recomendações a idade média no diagnóstico e tratamento da AB (~60 dias) não mudou nos últimos 20 anos nos Estados Unidos e em muitos outros países. (26)

Deste modo, torna-se imperativo a implementação de diretrizes para uma abordagem mais abrangente e flexível, adaptada ao doente e à prática clínica local. (3)

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

2. Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo uma revisão bibliográfica sobre como investigar a Colestase Neonatal e como deve ser estabelecido o diagnóstico diferencial entre as causas intra-hepáticas e extra-hepáticas. Contribuindo para uma maior sensibilidade e atenção a um diagnóstico que ainda nos dias de hoje passa despercebido e se tardio pode colocar em risco a vida do recém-nascido.

Assim, como devemos proceder na abordagem de um recém-nascido com icterícia prolongada e com elevada suspeição do diagnóstico? Será a biópsia hepática percutânea indispensável ao diagnóstico diferencial da Colestase Neonatal?

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

3. Metodologia

Para a realização desta monografia foi feita uma pesquisa na base de dados da PubMed e seleção dos artigos na plataforma Rayyan, a fim de reunir estudos sobre a Colestase Neonatal e o seu diagnóstico.

a. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

- Recém-nascidos com colestase neonatal, cujos sintomas começaram antes dos 28 dias de vida;
- Estudos que abordem as diferentes etiologias da Colestase Neonatal;
- Estudos que abordem o meio de diagnóstico utilizado;
- Estudos observacionais, retrospectivos, de coorte e caso-controle;
- Artigos relevantes para o tema, publicados entre 1 de janeiro de 2014 e 1 de janeiro de 2020.

b. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

- Artigos publicados fora do intervalo entre 1 de janeiro de 2014 e 1 de janeiro de 2020;
- Relatos de casos;
- Artigos que não se debruçavam sobre o tema.

c. ESTRATÉGIA DE PESQUISA:

A estratégia de pesquisa é descrita detalhadamente no Apêndice.

d. SELEÇÃO DOS ARTIGOS:

A pesquisa bibliográfica começou em janeiro de 2020, e obteve na base de dados 1074 resultados, dos quais foram excluídos todos os que não foram publicados entre o período de 1 de janeiro de 2014 e 1 de janeiro de 2020, o que fez no potencial de 807 artigos. Destes, foram excluídos 46 relatos de casos e 647 após a leitura dos títulos e resumos. Por fim, após a leitura completa e avaliação dos artigos, foram consideradas 53 referências bibliográficas.

Foram incluídos na revisão também artigos considerados de orientação pelas Sociedades de Pediatria de Portugal e do Brasil na abordagem diagnóstica da Colestase Neonatal, tal como uma obra literária de relevância ao tema.

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

4. Desenvolvimento

4.1. Abordagem diagnóstica

4.1.1. Manifestações clínicas

A icterícia colestática em crianças é uma apresentação típica característica de doença hepática neonatal e é frequentemente confundida clinicamente com a hiperbilirrubinemia não conjugada prolongada. A identificação de neonatos com colestase continua sendo vital, geralmente descoberta com a medição da bilirrubina séria fracionada. Portanto, uma história cuidadosa, um exame físico completo e o fracionamento da bilirrubina sérica são recomendados em qualquer criança com icterícia observada após 2 semanas de vida. A investigação da colestase neonatal é altamente benéfica, apesar da sua raridade, por causa da gravidade das consequências do não diagnóstico de AB e de distúrbios monogênicos, que têm intervenções específicas “life-saving”. A vigilância é crucial para a detecção de neonatos e encaminhá-los para um gastroenterologista pediátrico que pode fornecer métodos de diagnóstico e tratamento essenciais para otimizar o “outcome”. (3)

➤ Anamnese

A história familiar deve ser exaustiva e incluir informações sobre as condições hepáticas familiares, distúrbios do sangue (ex: hemólise) ou anomalias cardíacas e vasculares. (6)

Alterações dietéticas simples e/ou manuseio específico podem salvar vidas se instituídas imediatamente. O início da disfunção hepática se coincide com a alimentação com leite sugere o diagnóstico de galactosémia, enquanto o início dos sintomas após introdução de alimentos complementares (contendo frutose ou sacarose) aponta para intolerância hereditária à frutose. A encefalopatia é um achado comum em latentes com doenças hepáticas metabólicas, no entanto, é difícil de diagnosticar em infantes pequenos (menos de 3 semanas de vida) e pode ser desproporcionalmente mais grave para a disfunção hepática em defeitos do ciclo de ureia e acidemias lácticas primárias. (17)

Assim, as maiores pistas na história clínica, são:

- Momento do início da icterícia, coloração da fezes e pigmentação da urina;

- História de infecção materna ou colestase durante a gravidez (Colestase Intra-hepática Familiar Progressiva - PFIC);
- Emissão retardada de mecônio (FQ);
- Uso de Nutrição Parenteral total (NPAC);
- História alimentar e medicação (Intolerância hereditária à frutose);
- História de consanguinidade (SA, Doença metabólica genética/hereditária). (6,7)

➤ Exame físico

O exame físico também deve notar sinais extra-hepáticos, como: “aspeto doente” (por exemplo: menos ativo, sonolento e com febre ou hipotermia), características dismórficas, peso ao nascimento, atraso no crescimento, sinais dermatológicos, neurológicos, oftálmicos, cardíacos e hematológicos. A palpação do abdómen deve se concentrar na presença de hepatomegalia, e no tamanho e consistência do fígado. Se esplenomegalia precoce, precisam ser descartados distúrbios de armazenamento ou hematológicos. Sopros cardíacos podem sugerir SA ou outras anomalias associadas a doenças hepáticas. Avaliação oftalmológica pode revelar sinais encontrados em alguns tipos de colestase intra-hepática. Anomalias neurológicas, incluindo: irritabilidade, letargia, má alimentação, hipotonia ou convulsões, podem sugerir distúrbios metabólicos e mitocondriais, sépsis ou disfunção hepática grave. (6)

O baixo peso ao nascimento, tónus fraco, petéquias ou púrpuras, trombocitopenia e coriorretinite estão frequentemente associados à infecção intrauterina. Incapacidade de sucção e de engolir normalmente podem ser pistas para distúrbios mitocondriais. Quando um sopro cardíaco é encontrado no exame físico, um ecocardiograma deve ser realizado, estando presente em cerca de 1/4 dos pacientes com SA, que geralmente apresentam estenose pulmonar periférica, mas também tetralogia de Fallot e atresia pulmonar. O exame com lâmpada de fenda pode revelar *embriotoxon* posterior ou outras anomalias da câmara posterior, na SA. (6).

A hipertensão portal é caracterizada por um gradiente de pressão venosa hepática superior a 5 mmHg com complicações, como ascite e varizes com uma pressão superior a 10 mmHg. Causas comuns são: obstrução da veia porta extra-hepática, déficit de alfa-1-antitripsina, hepatite autoimune e atresia biliar (hepatomegalia precoce). (27)

Principais aspetos a ter em conta na observação:

- Hepatomegalia e dureza do fígado (Extra-hepática);
- Esplenomegalia (Distúrbios de armazenamento – Niemann-Pick tipo C);
- Sopros cardíacos e/ou envolvimento renal (Tirosinémia, S. Alagille);
- Coriorretinite (CMV);
- Cataratas (Galactosémia);
- Hipoplasia do nervo ótico (Hipopituitarismo);
- Manchas vermelhas tipo cereja na pele (Niemann-Pick);
- Sinais e sintomas neurológicos (Distúrbios metabólicos/mitocondriais, sépsis ou insuficiência hepática aguda);
- Coagulopatia grave (Sépsis, herpes, insuficiência hepática aguda, distúrbios metabólicos – galactosémia, intolerância hereditária à frutose e tirosinémia). (6,7,28)

➤ Escala Cromática das fezes

Monitorizar cuidadosamente a coloração das fezes, sendo as fezes acólicas completamente e permanentemente sugestivo de obstáculo completo do fluxo biliar, implicando atresia biliar. (29)

O cartão da escala cromática das fezes deve existir em todos os berçários e o seu fornecimento aos pais de recém-nascidos para a identificação de fezes acólicas pode melhorar a comunicação entre o examinador e os pais, sendo útil no diagnóstico de AB. Conforme relatado por Matsui, um programa que envolveu 313.230 crianças no Japão entre 1994 e 2011 – com 84% de taxa de retorno – demonstrou 77% de sensibilidade, 99.9% especificidade, 13% valor preditivo positivo e 99.9% valor preditivo negativo para a AB, com uma taxa de sobrevivência de crianças com AB com fígado nativo aos 5, 10 e 15 anos de 88%, 77% e 49%, respetivamente. (6,26,30,31)

No entanto, problemas com a interpretação permanecem. É então proposto o uso de imagens de fezes obtidas com câmaras digitais que parecem ter maior precisão preditiva em comparação com o cartão da escala cromática das fezes padrão, sugerindo que podem representar uma ferramenta útil na deteção da colestase em recém-nascidos. (6)

4.1.2. Achados laboratoriais

Do ponto de vista laboratorial, a colestase é geralmente reconhecida pela avaliação de estudos séricos, com elevação da bilirrubina direta ou conjugada e ácidos biliares, como características centrais prontamente identificadas de disfunção hepatobiliar. A hiperbilirrubinemia conjugada é definida como um nível de bilirrubina direta ou conjugada > 1 mg/dL. (6)

Na amostragem de sangue inicial deve incluir, pelo menos: bilirrubina total e direta, GGT, ALT, AST, albumina, INR, hemoglobina, leucócitos, plaquetas, PCR e ácidos biliares totais. ALT e AST são indicadores sensíveis de lesão hepatocelular, sendo que após um período de grande aumento, a diminuição progressiva das aminotransferases associada a um aumento progressivo das bilirrubinas indica óbito iminente. Os níveis séricos da fosfatase alcalina (FA) são geralmente menos úteis do que a GGT sérica na avaliação de recém-nascidos colestáticos, uma vez que o normal varia muito com o crescimento das crianças. Sendo a FA um marcador de atividade osteoblástica, crianças em crescimento têm níveis mais elevados do que os adultos. (6,29)

Albumina, tempo de protrombina (TP) e INR são úteis para testar a capacidade do fígado de sintetizar proteínas e/ou a gravidade da má absorção e o déficit da vitamina K secundária à colestase. O TP prolongado pode causar sangramento que requer tratamento intensivo imediato. Os neonatos que apresentam coagulopatia grave devem ser avaliados especialmente para galactosémia, intolerância à frutose, sépsis por vírus, tirosinemia ou GALD. (6,29)

A GGT é tipicamente muito elevada em condições obstrutivas extra-hepáticas, porém não tem especificidade suficiente para o diagnóstico de AB. O valor diagnóstico da GGT diminui em infantes com idade superior a 121 dias. Uma GGT elevada pode sugerir um diagnóstico de várias condições, incluindo: PFIC tipo 3, déficit alfa-1-antitripsina, SA, fibrose quística, endocrinopatias, colestase neonatal hipóxica, e também atresia biliar e outras doenças obstrutivas mecânicas extra-hepáticas. Uma GGT baixa ou normal é consistente com PFIC, exceto PFIC3 e erros inatos da síntese ou do metabolismo dos ácidos biliares, particularmente quando os valores estão dentro dos limites normais. (6,29)

Investigação laboratorial para a colestase causada por um distúrbio metabólico também deve incluir: gases sanguíneos, pH, alfa-1-antitripsina, amônia, ácido láctico, corpos cetônicos, glicose, aminoácidos plasmáticos e urinários, incluindo succinilacetona, metabolito diagnóstico da tirosina, perfil de acilcarnitina, ácidos orgânicos urinários e agentes redutores. Teste dos ácidos gordos de cadeia longa e um esfregaço periférico e/ou da medula óssea devem ser solicitados em casos suspeitos de Niemann Pick e Síndrome de

Zellweger, respetivamente. Os níveis séricos dos ácidos biliares totais e um perfil de ácidos biliares na urina podem identificar vários distúrbios raros da síntese de ácidos biliares. Um nível baixo de alfa-1-antitripsina requer um teste de fenótipo para caracterização do inibidor de protease (PiZ) e, eventualmente, genotipagem. Testes diagnósticos adicionais incluem teste de suor para deteção de fibrose quística e o perfil da hormona tiroideia para exclusão de hipotiroidismo (disfunção da glândula pituitária). (6)

Critérios laboratoriais sugestivos de Colestase Neonatal:

- Níveis de BT, BD e GGT elevados – Distúrbios metabólicos/genéticos (défice de alfa-1-antitripsina, SA, FQ, PFIC3 e outros defeitos do transporte canalicular);
- GGT normal/baixos nas PFICs (exceto a PFIC3) e defeitos na síntese de ácidos biliares;
- Aumento dos níveis séricos de ácidos biliares (exceto em defeitos na síntese de ácidos biliares);
- Aumento das transaminases (lesão hepática);
- Albumina diminuída e tempo de protrombina prolongado (insuficiência hepática). (7)

4.1.3. Imagiologia

➤ Ecografia abdominal

A ecografia abdominal deve ser obtida como parte da avaliação inicial. É um meio não invasivo que avalia a estrutura e o tamanho do fígado, e deteção de uma lesão obstrutiva da árvore biliar ou lesões quísticas (por exemplo: quisto colédoco, variante quística de AB). Os achados ecográficos sugestivos de AB incluem: o sinal do cordão triangular (massa fibrótica em forma de cone acima da bifurcação da veia porta), ausência ou anormal morfologia da vesícula biliar, falta de contração da vesícula biliar após alimentação oral, não visualização do ducto biliar comum, dilatação da artéria hepática e telangiectasia subcapsular (aumento do fluxo hepático subcapsular). No entanto, estes achados não podem ser usados para estabelecer um diagnóstico definitivo de AB, pois não são suficientemente sensíveis ou específicos. (3,6)

➤ Cintilografia hepatobiliar

A cintilografia hepatobiliar tem sido usada para confirmação da permeabilidade do trato biliar, mas sua especificidade é baixa (68,5%-72,2%), limitando, portanto, o seu uso

na diferenciação de AB e outras condições não cirúrgicas. O pré-tratamento com fenobarbital por 5 dias antes do estudo pode aumentar a sensibilidade do teste, mas é demorado e parece não adicionar novas informações à observação da coloração das fezes. (3,6)

No entanto, no diagnóstico diferencial entre a Hepatite neonatal idiopática e a AB, a cintilografia hepatobiliar apresenta sensibilidade de 88,2% e especificidade de 45,7% para a detecção da AB, com uma precisão de 66,7%. Enquanto, a biópsia do fígado teve maior sensibilidade na detecção de AB em 100%, especificidade de 94,3% e taxa de precisão de 96,9%, demonstrando ainda assim, ser bem superior no diagnóstico da AB. (3)

➤ CPRE

Quando há suspeita de atresia biliar, a Colangiopancreatografia Retrógrada Endoscópica (CPRE) é válida como um método confiável, preciso e seguro para o diagnóstico de achados incertos com fezes acólicas. É recomendada a realização de CPRE e biópsia hepática em 4-6 semanas após o nascimento no máximo, se as fezes acólicas persistirem e se houver suspeita de atresia biliar. (31)

A CPRE pode ser útil na detecção da permeabilidade da árvore biliar extra-hepática, tendo se mostrado eficaz com altos valores preditivos positivos e negativos para AB (sensibilidade 86%-100%, especificidade 87%-94%, valor preditivo positivo 88%-96%, valor preditivo negativo 100%), no entanto, esta requer um endoscopista experiente, um equipamento específico de endoscopia infantil não prontamente disponível em muitos centros e um anestesiologista geral, daí a sua rara utilização. (3,6)

➤ CPRM

A colangiopancreatografia por RM (CPRM) é uma modalidade não invasiva, bem estabelecida para visualizar o sistema biliar. A sua sensibilidade demonstrou ser de 99%, mas a especificidade não foi tão alta (36%), o que sugere que pode ser um método de triagem eficaz, combinado com outros métodos, para identificar AB e distingui-la de outras causas de icterícia infantil. (3,6)

➤ Colangiografia intraoperatória

A colangiografia intraoperatória e o exame histológico do ducto remanescente são considerados fundamentais no diagnóstico da AB. (3,6)

É tipicamente realizada após a sugestão de obstrução biliar numa biópsia hepática ou se indicações clínicas suficientes sugerirem encaminhamento ao cirurgião para o procedimento. Se a AB for confirmada, a portoenterostomia de Kasai geralmente é realizada imediatamente, a menos que haja considerações feitas pela equipe de que seria do melhor interesse da criança. (3)

4.1.4. Histologia

➤ Biópsia hepática percutânea

A biópsia hepática muitas vezes permanece o “gold standard” na avaliação diagnóstica de recém-nascidos com icterícia colestática. A interpretação por um patologista experiente fornece o diagnóstico correto em 90% a 95% dos casos e evita uma cirurgia desnecessária em pacientes com doença intra-hepática. (3)

Patologistas participantes no *National Institutes of Health – supported Biliary Atresia Research Consortium (consórcio ChiLDReN – childrennetwork.org)* desenvolveram e avaliaram um sistema padronizado para relatar biópsias hepáticas de neonatos com colestase. No geral, o diagnóstico em casos clinicamente comprovados de AB variam de 79% a 98%, com um valor preditivo positivo de 90,7%. O grupo diagnosticou AB com um alto nível de sensibilidade e RN foram identificados com obstrução biliar com concordância entre observadores razoável, nas estatísticas ponderadas de Kappa. Alguns distúrbios podem imitar a AB histologicamente, como: a colestase associada à Nutrição Parenteral, a SA, a FQ e o DA1AT. Podem demonstrar padrão histopatológico obstrutivo (plugs nos ductulos e ductos, expansão portal por infiltrado inflamatório, edema e fibrose, caraterísticos das doenças obstrutivas extra-hepáticas) que podem ser impossíveis de distinguir da AB [Figura 1] sem dados clínicos, ou então uma reação ductular variável. A proliferação biliar (reação ductular) pode estar presente, também em doenças intra-hepáticas, tais como a DA1AT, NPAC, FQ, tirosinémia, entre outras [Figura 2]. No entanto, é importante reconhecer que as primeiras alterações histológicas da AB podem ser relativamente inespecíficas [Figura 3] (como: canalículos biliares dilatados, degenerações hepatocelulares plumosas e balonzantes, e transformação gigantocelular), tal como, as biópsias realizadas muito cedo podem resultar num diagnóstico falso negativo. (3,29,30,31)

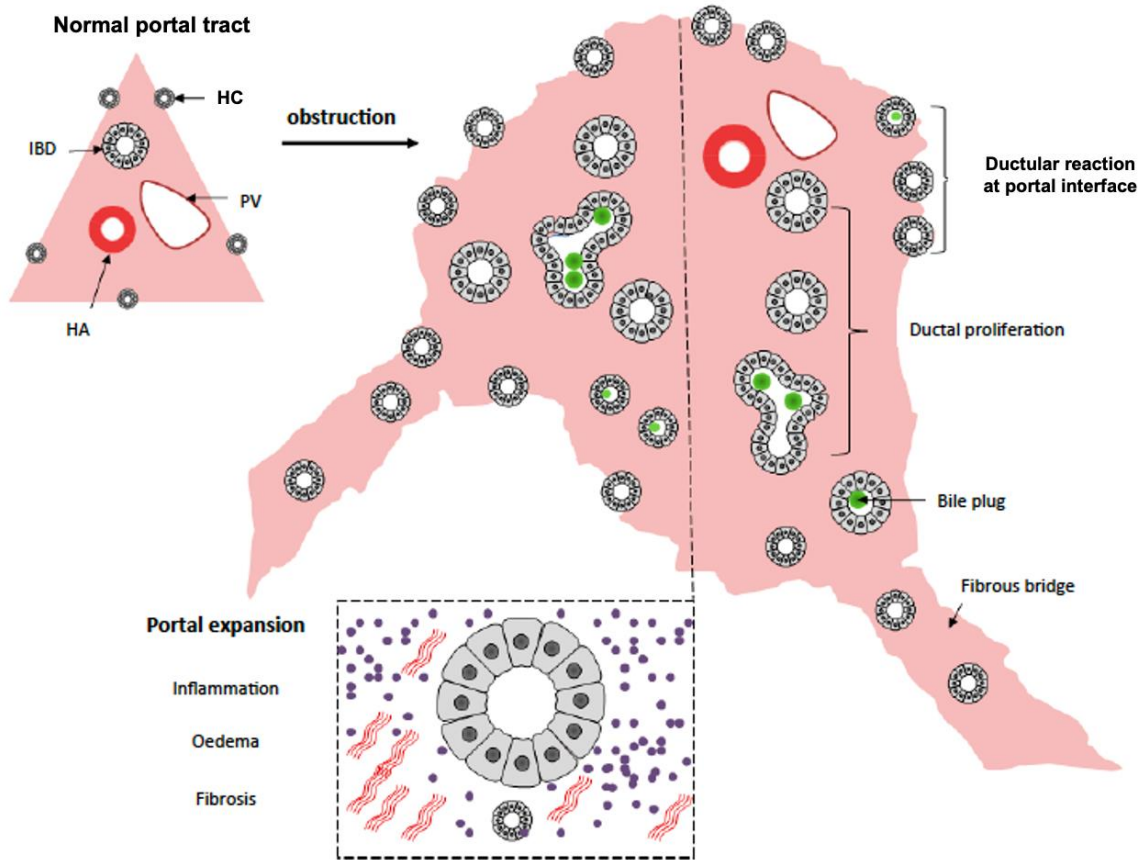


Figura 1 – Achados histopatológicos obstrutivos, compatíveis com o diagnóstico de uma obstrução biliar de causa extra-hepática.

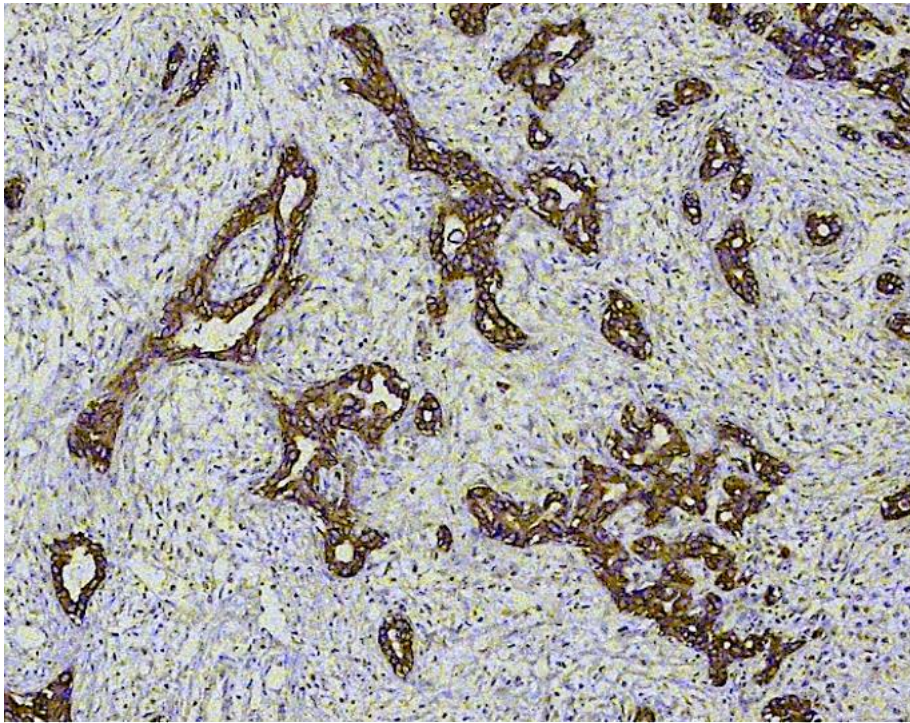


Figura 2 – Reação ductular num paciente com AB. Marcação imunohistoquímica: CK19 (100x)

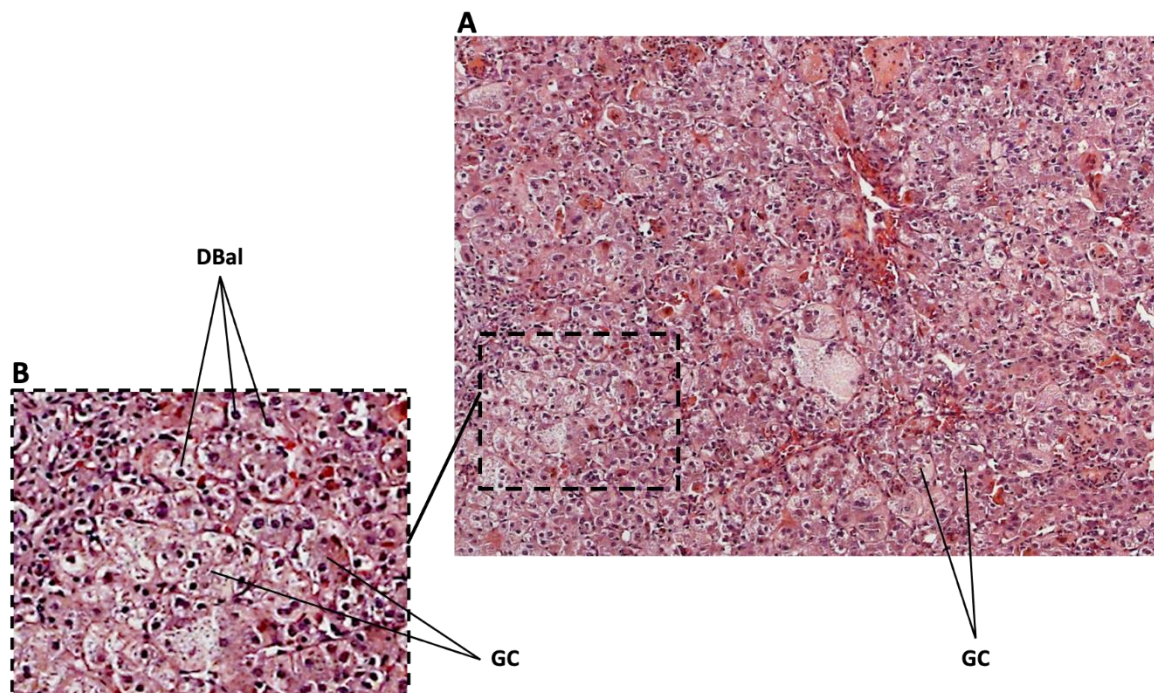


Figura 3 – **Padrão hepático, inespecífico.** A- Desorganização do parênquima, com presença de abundante transformação gigantocelular (GC); B- Detalhe da região especificada como retângulo na imagem A: DBal-hepatócitos arredondados com citoplasma claro, caracterizando Degeneração balonzante; adicionalmente, transformação gigantocelular (GC). Marcação: Hematoxilina-eosina (100x).

Uma biópsia hepática com achados de esteatose hepatocelular macrovesicular, associa-se muitas vezes a doenças colestáticas metabólicas (como, por exemplo: galactosémia, intolerância hereditária à frutose, tirosinémia, NPAC e DA1AT), enquanto a presença de esteatose microvesicular associa-se a distúrbios mitocondriais, podendo estar relacionada ou não com a macrovesicular. O uso adequado da biópsia hepática, portanto permanece um ponto central na avaliação diagnóstica, revelando características histológicas de valor prognóstico, como o grau de fibrose, que ajuda a prever o resultado após a portoenterostomia hepática de Kasai e a decisão de prosseguir com a mesma. A biópsia hepática percutânea guiada por ecografia é considerada um procedimento seguro e eficaz em crianças, com baixa taxa de complicações de 1,7% e com uma taxa de complicações no geral de 4,6%. (3)

Num recém-nascido prematuro, a biópsia deve ser adiada, até este pesar mais de 2kg e estar bem o suficiente para ser submetido a este procedimento invasivo. Especificamente, em relação à NPAC, o primeiro sinal histológico de NPAC é a colestase canalicular, podendo ser observada em 5 dias após o início da nutrição parenteral em prematuros e progride para colestase intracelular após 2 semanas, que em seguida, para proliferação do ducto biliar e fibrose após 8 semanas de NP. A biópsia é então indicada quando o paciente continua com icterícia colestática, apesar do quadro clínico e outros testes não são diagnósticos. (32)

Os gastroenterologistas pediátricos favorecem a biópsia hepática via percutânea antes da cirurgia. Um estudo recente testou a sua interpretação e relatou 91% de precisão no diagnóstico de AB, sendo os achados mais comuns: a presença de plugs biliares em ductulos, a proliferação do ducto biliar, a fibrose portal e a ausência de fibrose sinusoidal. Embora a biópsia pré-operatória seja útil no diagnóstico, podem ocorrer falsos-positivos e falsos-negativos (principalmente antes de 1 mês de vida). Assim, a sobreposição de achados histopatológicos entre as doenças intra-hepáticas e extra-hepáticas podem dificultar a interpretação. A repetição de biópsias pode então ser necessária caso a icterícia não desapareça. (33)

4.1.5. Estudos moleculares

➤ Espectrometria de massa

A LC-MS/MS é um método quantitativo desenvolvido para a medição do perfil de 21 ácidos biliares primários e secundários, tendo vindo a ser proposto como um biomarcador viável no diagnóstico de diferentes doenças hepáticas e gastrointestinais, devido a alterações na composição dos ácidos biliares que têm sido reportadas em várias doenças. O diagnóstico pode ser feito através da medição dos ácidos biliares atípicos no plasma/urina com a LC-MS/MS, que diagnosticam os erros inatos do metabolismo de sais biliares. (34)

Programas de triagem neonatal usando espectrometria de massa tandem são usados na triagem neonatal para vários erros inatos do metabolismo. Em Portugal, foi implementado um programa de triagem neonatal em 2005 para 24 doenças tratáveis, contudo a maioria dos erros inatos do metabolismo que apresentam colestase neonatal não estão cobertos pelo programa de triagem. (35)

A precisão, a sensibilidade e a recuperação foram avaliadas por análise de replicação de amostras de controlo de qualidade em 3 níveis e foi comparada a concentração medida com a teórica. A precisão para todas as análises esteve entre 85-115%, as recuperações entre 79,1% e 109,7%. Este método demonstrou uma excelente linearidade com altos coeficientes de regressão (> 0.99), o que o torna viável como potencial biomarcador. Assim, pode auxiliar no diagnóstico precoce e na monitorização do tratamento dos distúrbios causadores de colestase neonatal, tais como: o défice de citrina e a enterocolite necrotizante, sendo possível a identificação de biomarcadores por um método mais simples, mais rápido e não invasivo. (29,34)

Os métodos de “high-performance liquid chromatography (HPLC-fluorescence)” e a “gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)” fornecem dados com elevada

sensibilidade e especificidade, no entanto requerem mais etapas na preparação da amostra que a LC-MS/MS, na qual não existe necessidade de derivação, levando assim a uma análise mais rápida e com ainda maior sensibilidade, sem requerer uma tecnologia muito avançada. (34)

➤ Sequenciamento de próxima geração (NGS)

Avanços recentes na genética molecular levaram à tecnologia NGS, resultando numa redução drástica no tempo e custo necessários para realizar a análise das mutações DNA. Em contraste com o Sequenciamento de Sanger, onde os genes são sequenciados um de cada vez, no NGS toda a sequência ou uma parte significativa da sequência de DNA é sequenciada num único procedimento, melhorando a eficiência diagnóstica. É importante ressaltar que o significado de uma mutação genética ou polimorfismo devem ser combinados dentro do contexto clínico e que leva semanas para relatar os resultados da NGS, portanto não é aconselhável depender deste método para diagnosticar condições urgentes e tratáveis. A relação custo-benefício da NGS precisa ser avaliada, pois ainda é muito mais caro do que os testes bioquímicos clinicamente orientados. (3,35)

O NGS tem demonstrado grande potencial em testar um grande número de pacientes com sintomas e sinais semelhantes, e com vários genes candidatos conhecidos. Este produz apenas as sequências de informação necessárias e é muito mais eficiente na detecção das variantes causadoras de doença do que o sequenciamento do exoma ou do genoma completo que produzem enormes quantidades de dados que requerem análise bioinformática, custam muito mais que o NGS e não estão prontamente disponíveis para aplicação clínica. Assim, para pacientes com as quais as mutações não são detetadas através do painel NGS, mas são altamente prováveis de ter desordens, o sequenciamento do exoma ou do genoma total representam métodos como segunda linha no diagnóstico. (36)

Nos distúrbios metabólicos/genéticos, os avanços na tecnologia do sequenciamento de próxima geração (NGS) têm produzido novos painéis de colestase, com um menu abrangente de testes genéticos para uma ampla gama de doenças hepáticas hereditárias, como 18 genes e um painel com 3 genes com defeitos específicos dos ácidos biliares. Os genes incluídos são: ABCB11, ABCB4, ABCC2, AKR1S1, ATP8B1, BAAT, CLDN1, CYP7B1, EPHX1, HSD3B7, JAG1, NOTCH2, SERPINA1, SLC10A1, SLC25A13, TJP2, VIPAS39 e VPS33B, destinados à triagem de SA, déficit de alfa-1-antitripsina, déficit de citrina, PFIC e defeitos na síntese de ácidos biliares. No entanto, um elevado índice de suspeição continuará a ser um aspeto essencial na investigação do diagnóstico correto. (6,36,37,38)

Chen et al. 2019 estudou o NGS, revelando que as maiores taxas de rendimento (67,6%) foram em pacientes com características fenotípicas, como a PFIC, S. Alagille, erros inatos na síntese de ácidos biliares, Doença de Wilson e doenças poliquísticas. No entanto, a taxa de rendimento ainda é significativa (12,3%) em pacientes sem características de doenças genéticas, como na colestase associada à prematuridade, história de nutrição parenteral total ou cirurgia, hepatite/colangite autoimune e colangite esclerosante primária. É justificável a indicação de recomendar aos pacientes o NGS sem uma seleção rigorosa do fenótipo num estágio inicial da doença. Quando os recursos são limitados, primeiramente pode ser considerado uma seleção dos pacientes para teste com um marcador de colestase infantil, como a GGT inicial. (36)

4.2. Proposta de algoritmo de investigação

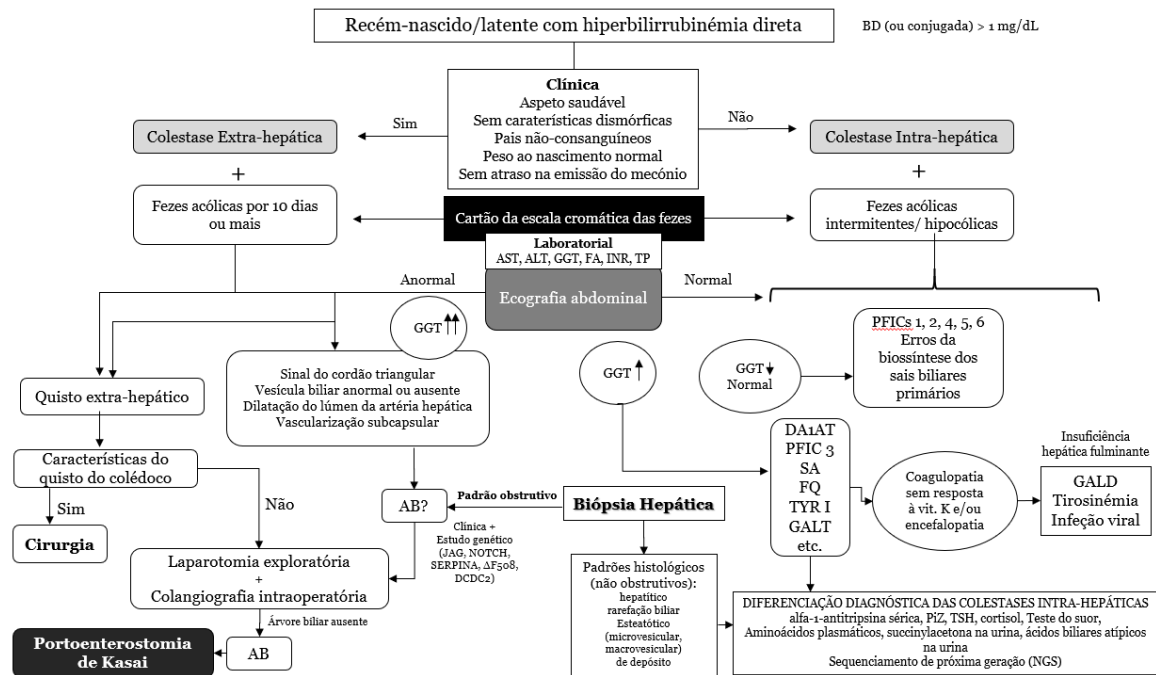


Figura 4 – Algoritmo de investigação num recém-nascido/latente com hiperbilirrubinemia direta (6,7,17,26,30,35,37,38,39)

Este algoritmo de investigação pode ser usado como orientação na avaliação de um recém-nascido/latente com hiperbilirrubinemia direta pelas principais causas de Colestase Neonatal. No entanto, é necessário ter em conta que existem exceções e que nem sempre as doenças vão ter as manifestações clínicas e laboratoriais, tal como imagiológicas ou histológicas expectáveis. Assim, um elevado índice de suspeição e pensamento crítico é importante, ressaltando sempre a exclusão dos diagnósticos “life-threatening”, que é o caso da atresia biliar, que é também a mais frequente. (3)

4.2.1. Quisto do Colédoco

O paciente, geralmente, apresenta: colangite, febre, elevação da GGT e hiperbilirrubinemia. A ecografia abdominal muitas vezes pode diferenciar entre quisto do colédoco e AB, pois os ductos biliares são tipicamente dilatados ou quísticos e a vesícula biliar não é atrésica. O diagnóstico num neonato colestático, deve, no entanto, sempre solicitar uma avaliação cuidadosa para AB. Além disso, quistos do colédoco podem coincidir com AB. (3)

4.2.2. Atresia Biliar

A atresia biliar em recém-nascidos que apresentam icterícia colestática requer cirurgia exploratória com colangiografia, no entanto a falta de uma abordagem padronizada para a avaliação pré-operatória pode levar a um alto número de explorações cirúrgicas negativas. No exame físico, a hepatomegalia é mais comum na AB (OR =9,3; P=0,07). A documentação da cor das fezes na infância dá evidências clínicas diretas da excreção biliar, sendo na AB acólicas. Apesar da importância, poucos médicos examinam e documentam a coloração das fezes, e sendo a AB progressiva, as fezes podem mais tarde se tornar acólicas. (33)

A ecografia com o sinal do “cordão triangular” é um achado importante, que, no entanto, pode não ser visível, servindo assim a ecografia mais como investigação complementar, preferindo-se os achados histológicos (biópsia hepática) e exclusão de desordens genéticas que mimetizam a AB na tomada da decisão para cirurgia. O scan de excreção de isótopos nucleares já não é mais usado com frequência, devido à ausência de excreção para os intestinos não confirmar AB. CPRE permanece controversa, dependendo de centro para centro de referência. (26)

Visto que o diagnóstico de AB deve ser concluído dentro de 1 semana, a fim de realizar a cirurgia precocemente (preferencialmente antes ~35 dias). É revelante reconhecer que os testes genéticos para síndromes de colestase hereditária podem levar várias semanas, podendo não ser incluídos no algoritmo de diagnóstico típico para a AB. (26)

4.2.3. PFICs

Nas últimas décadas, foi esclarecido que a grande maioria dos casos anteriormente inexplicados, referidos como “hepatite neonatal idiopática” são doenças hepáticas

monogénicas. Antes, o seu diagnóstico dependia apenas da caracterização bioquímica e histológica, que é demorada, limitada à disponibilidade e domínio local, e afetados pelo estadio da doença. Neste momento, com a NGS permitiu gerar e analisar dados massivos de sequências, de maneira rápida, económica e de alto rendimento. (38)

Pacientes com hipocolia/acolia fecal devem ser rapidamente submetidos a biópsia do fígado para descartar AB, após exclusão de DA1AT por soro enzimático. A presença de transformação gigantocelular abundante pode indicar PFIC2. No entanto, na presença de uma histologia consistente com atresia biliar (proliferação ductal, fibrose portal, colestase ductal com acúmulo de biliaris), é necessária a confirmação por colangiografia. (38)

Pacientes com PFIC3 (défice de ABCB4) têm uma elevação significativa dos ácidos biliares totais séricos. Um importante achado clínico em indivíduos com tipos de PFIC 1 e 2 (défices dos genes ATP8B1 e ABCB11, respetivamente) é a presença de uma GGP normal ou baixa. Os pacientes com PFIC3 têm uma elevação da GGT e um grau variável de colestase, tipicamente se apresentado mais tarde na infância. Assim, um nível baixo de GGT é desproporcional à gravidade da colestase e uma pista para colestase hereditária, como PFIC e erros inatos na síntese de ácidos biliares. (3,10)

4.2.4. Síndrome de Alagille

O diagnóstico é feito com achados clínicos e laboratoriais, confirmados por sequenciamento dos genes JAG1 e NOTCH2. (3)

Crítérios clínicos incluem: ductopenia na biópsia hepática, fácies característica de Alagille (testa larga, queixo pequeno pontudo), xantomias na pele, *embriotoxon* posterior da córnea, vértebras em borboleta, doença renal e defeitos cardíacos (mais comumente estenose pulmonar periférica) ou tetralogia de Fallot. Geralmente está presente hiperbilirrubinemia direta, fezes acólicas, ALT e ácidos biliares elevados. O GGT é um teste importante de orientação do paciente, porque muitas vezes é desproporcionalmente elevado, às vezes, até 20 vezes o valor normal. A avaliação das anomalias clínicas associadas em pacientes suspeitos de SA deve ser feita por biópsia hepática, antes de prosseguir com a colangiografia intraoperatória. (3)

A insuficiência cardíaca é a principal causa de morte em pacientes com SA e anomalias vasculares são uma das principais causas de morbidade e mortalidade (34%) em pacientes com SA. Assim, é necessária a realização de exames de imagem periódicos devido à dificuldade que é a deteção de anomalias vasculares viscerais na infância. Se o

paciente sofre de anomalias vasculares progressivas estes exames devem ser realizados todos os anos para sempre, sendo preferível a Ressonância Magnética (RM). (40,41)

Alguns pacientes com SA tem uma sobreposição com AB (hipoplasia biliar extra-hepática), podendo ser submetidos, incorretamente, à portoenterostomia de Kasai, que piora o prognóstico dos com SA. É difícil a diferenciação entre SA e AB porque: a SA tem manifestações clínicas peculiares que não são óbvias durante o período neonatal, pelos achados patológicos comuns de escassez do ducto biliar intra-hepático e porque o teste genético é relatado como não sendo viável no ambiente clínico durante o período neonatal devido à sua disponibilidade limitada e também, porque atrasaria o procedimento de Kasai em pacientes com AB. Portanto a avaliação metódica das manifestações extra-hepáticas da SA é o passo mais importante para distinguir de AB. É frequente a estenose da artéria pulmonar (96,7%) e anomalias esqueléticas (30%). No entanto, não elimina a possibilidade de sobreposição de AB com SA. (3)

Gunadi et al. 2019, neste estudo demonstrou que a taxa de sobrevivência dos pacientes com SA após o transplante hepático é elevada, e além disso que a sobrevida geral foi semelhante entre SA que realizaram Kasai (88,9%) e os que não realizaram (90,5%). Os pacientes com SA submetidos a Kasai tiveram que ser submetidos a transplante hepático em idades mais precoces que os que não efetuaram Kasai, podendo indicar que o procedimento de Kasai causou exposição do conteúdo intestinal ou colangite ascendente que afeta os ductos biliares anormais existentes nos pacientes com SA, resultando em doença hepática progressiva e num transplante hepático precoce. No entanto, também os resultados sugerem que a história natural de pacientes com SA que se sobrepõem a AB seria só por si um fator de mau prognóstico. (41)

4.2.5. Fibrose Quística

Alguns neonatos apresentam testes hepáticos anormais sugestivos de obstrução biliar devido à presença de bÍlis anormal com obstrução do ducto biliar comum. É útil a triagem neonatal para o tripsinogéneo imunorreativo. O critério padrão é o sequenciamento do gene recetor da transmembrana da fibrose quística (CFTR) ou com um teste de cloreto no suor positivo, no entanto, muitas vezes este não é possível, pois os neonatos podem não produzir suor suficiente. (3)

A mucina eosinofílica nos pequenos ductos biliares é também uma característica patognomónica, que causando obstrução podem levar ao aparecimento na biópsia de um

padrão obstrutivo (reação ductular, inflamação portal, neutrofilia periductal e fibrose portal variável com pontes de septos fibrosos) acentuado no início da vida. (42)

4.2.6. Défice de alfa-1-antitripsina

Aproximadamente, 10% a 15% dos neonatos com esta condição apresentará colestase e um quadro combinado de lesão e obstrução hepatocelular, e elevação da ALT, AST, GGT e FA. A colestase é geralmente grave e a presença de fezes acólicas podem representar um desafio devido à semelhança com a AB. Embora alguns pacientes possam desenvolver cirrose no início, a icterícia desaparece na maioria dos pacientes aos 4 meses de idade. O diagnóstico é feito com base no fenótipo (normal: MM; anormal: ZZ ou SZ; heterozigoto: MZ, MS). Os neonatos com fenótipo ZZ podem não ter excreção biliar em estudos cintilográficos e a biópsia hepática pode parecer obstrutiva. Um padrão de depósito com glóbulos intra-citoplasmáticos PAS-positivos, resistentes à diástase em hepatócitos periportais é característico de uma biópsia hepática realizada tardiamente, após as 12 semanas de vida. A obtenção do fenótipo no início da avaliação da colestase pode evitar uma biópsia desnecessária, no entanto, DA1AT em pacientes com atresia biliar também pode ocorrer, embora raramente. Verificar os níveis séricos de alfa-1-antitripsina pode ser útil, se usado junto com o fenótipo para distinguir pacientes que são homozigotos para o alelo Z ou heterozigotos compostos SZ, ambos dos quais podem desenvolver doença hepática. Pacientes com MZ, MS, SZ ou fenótipos homozigotos SS A1 não se apresentam com colestase neonatal, a menos que esteja associada a outra causa. As concentrações séricas de alfa-1-antitripsina unicamente é um teste insuficiente, pois a antitripsina é um reagente de fase aguda e durante outras doenças pode estar elevada. (3,15,43)

4.2.7. Distúrbios da síntese dos sais biliares primários

Distúrbios da síntese são raros, mas em muitos casos são formas tratáveis de colestase. Nem todas as crianças apresentam colestase e icterícia, algumas podem ter uma apresentação mais indolente e mais tardiamente na infância. Muitas vezes apresentam GGT normal ou baixa, ácidos biliares totais séricos são geralmente baixos, em contraste com outros distúrbios colestatócos. Espectrometria de massa com bombardeio atômico rápido da urina deve ser considerado como ferramenta antes de iniciar o ácido ursodeoxicólico. É possível realizar um rápido diagnóstico de potenciais erros inatos na síntese dos ácidos biliares a partir da análise urinária. Seu diagnóstico pode possibilitar o tratamento com sais biliares primários por via oral, levando ao desaparecimento da lesão hepática. (3,44)

4.2.8. Citomegalovírus

O envolvimento hepático é cerca de 6,6% nos neonatos com CMV congénito (CMVc). O CMVc com envolvimento hepático pode se apresentar de duas formas: com aumento da ALT (ALT > 80 U/L) sem colestase, ou com doença colestática (ALT > 80 U/L e bilirrubina direta > 1 mg/dL). O diagnóstico é feito com urocultura ou polymerase chain reaction (PCR) durante as primeiras 2 semanas de vida, que é quando é mais comum a sua manifestação. (45)

Tem havido um decréscimo na incidência do CMVc com envolvimento hepático, ao qual é justificado com a progressão na identificação e monitorização do CMV congénito, que quando reconhecida como uma infeção severa resolve-se no término da gravidez. O tratamento passa pelo uso de um antiviral devido ao risco de envolvimento do Sistema Nervoso Central, apresentando um excelente prognóstico. (45)

A infeção perinatal por CMV também é uma possível causa da atresia biliar. A colangiopatia observada na atresia biliar surge por duas hipóteses: um distúrbio primário no desenvolvimento dos ductos biliares ou destruição dos já formados ductos devido aos efeitos de um vírus com envolvimento hepático, ou secundário a uma reação autoimune despontada por uma exposição vírica. A resposta dos neonatos com atresia biliar associada ao CMV à Portoenterostomia por Kasai é fraca, o que demonstra a urgência no tratamento antiviral adjuvante. (46)

4.2.9. Distúrbios endócrinos

Poucos relatos descrevem doença hepática colestática em neonatos com doença de Graves. A triagem é feita com a deteção de altos níveis de TSH, portanto em casos de hipotireoidismo central, isso pode passar despercebido, assim pode ser útil repetir TSH, T4 livre e T3. (3)

As hormonas hipofisárias estão envolvidas na regulação da síntese da bÍlis e excreção do fluxo biliar. No Panhipopituitarismo, os neonatos com elevação da BT e BD, podem ter hipoglicémia e até choque por insuficiência adrenal. Alguns apresentam displasia septo-ótica e ao exame físico não têm capacidade de foco. A avaliação diagnóstica inclui TSH, T4 total e livre, cortisol de manhã, RM do crânio e ecografia. A colestase resolve com a correção da insuficiência da hormona hipofisária. (3)

A Síndrome de Interrupção da Haste Hipofisária é um defeito anatómico pré-natal, caracterizada por: ausência da haste hipofisária, hipoplasia da adenohipófise e neurohipófise

ectópica. Achados clínicos como: hipoglicémia, colestase e/ou micropénis, com ou sem atraso no crescimento, podem também estar associados a uma deficiência combinada de hormona hipofisária, principalmente do cortisol, de urgente tratamento. O tratamento é a terapêutica de substituição hormonal, sendo assim necessário o rápido reconhecimento das hormonas em défice. (47,48)

4.2.10. Défice de citrina

O défice de citrina é uma doença autossômica recessiva, causada por mutações no gene SLC25A13. É a forma mais comum de colestase genética na Ásia Oriental. Testes genéticos e espectrometria de massa confirmam o diagnóstico. (10)

Em centros de cuidados primários e secundários, qualquer neonato com origem na Ásia Oriental, com colestase neonatal, deve ser rastreado para achados sugestivos de Colestase neonatal intra-hepática por défice de citrina (baixo peso ao nascimento, hepatomegalia, gordura hepática, hipoproteinemia, diminuição dos fatores de coagulação, anemia hemolítica e hipoglicémia). Nos neonatos de outra origem (não Ásia Oriental) o rastreio para Colestase neonatal intra-hepática por défice de citrina deve ser priorizado após a exclusão de outras causas mais comuns de colestase. Quando a tirosina no sangue está elevada, mas a citrulina normal, considerar a possibilidade de ser uma Colestase neonatal intra-hepática por défice de citrina, até prova em contrário. Sugerir administrar uma fórmula restrita de fenilamina e tirosina, sem lactose em vez de uma restrição proteica. Os testes genéticos podem demorar semanas-meses até o diagnóstico, por isso em vez pode ser usado o PCR para uma população específica com mutações nos genes SLC25A13 e FAH, o inibidor de secreção da tripsina pancreática (PSTI) e a succinilacetona na urina ou no sangue, que estão disponíveis em dias, e que auxilia no diagnóstico diferencial com a Tirosinémia tipo I. (49)

4.2.11. Niemann-Pick tipo C

O produto da oxidação do colesterol, 7-ketosterol (7-KC), aumenta no plasma dos pacientes com NPC, podendo assim ser usado como um biomarcador plasmático não invasivo e sensível no diagnóstico. Alterações neurológicas são características desta doença. (50)

4.2.12. Galactosémia

Após a descontinuação da galactose, algumas complicações são reversíveis, tais como: as cataratas (73%) e a epilepsia. No entanto, necrose e cirrose hepatocelular, lesões graves do sistema nervoso central, microcefalia e défices motores são irreversíveis. (19,51)

A triagem é feita por medição da galactose ou galactose-1-Phosphate (superior a 10mg/%) no soro e na urina, e defeitos GALT no teste genético, detetando galactosémia clássica. A disponibilidade dos resultados de triagem até ao 5^o dia após o nascimento permitiria a prevenção da descompensação aguda na galactosémia clássica. (19,51)

4.2.13. Tirosinémia tipo I

O diagnóstico pré-natal de tirosinémia é possível pela análise de succinilacetona no sobrenadante do líquido amniótico e por ensaio de fumarilacetato hidroxilase em células fluídas de cultura amniótica ou em material de vilosidades coriônicas. Se surge um aumento das transaminases e coagulopatia, neste caso, deve ser iniciada uma dieta com exclusão de lactose. (17)

4.2.14. Insuficiência Hepática Aguda

É uma doença rara, de mau prognóstico, com uma taxa de mortalidade de até 70%, normalmente se manifesta durante as primeiras 4 semanas de vida com sintomas inespecíficos, como: febre, irritação, má alimentação e dificuldade respiratória transitória. Em 1 a 2 dias surge a icterícia e a coagulopatia, seguidas de insuficiência metabólica e encefalopatia, podendo progredir para falência multiorgânica, hemorragias profundas, coma e morte. (23)

O diagnóstico de encefalopatia hepática em crianças é difícil e não se desenvolve até aos estadios finais. Assim, muitos pacientes pediátricos com IHA não recebem um diagnóstico específico (49%), havendo maior probabilidade de serem submetidos a transplante hepático. (52,53,54)

Os critérios para o diagnóstico são: coagulopatia de base hepática não corrigida pela vitamina K com o TP superior ou igual a 15s ou INR superior ou igual a 1,5 na presença de encefalopatia hepática ou TP superior ou igual a 20s ou INR superior ou igual a 2 independentemente da presença ou ausência de encefalopatia hepática. Características

clínicas são: icterícia visível, encefalopatia, hemorragia, hipoglicemia e insuficiência renal; análises do sangue: bilirrubina, ALT, INR, albumina, lactato, ferritina e alfa-fetoproteína; achados de ecografia: presença de hepatomegalia, textura hepática anormal, esplenomegalia e ascite. (55)

Doença aloimune hepática gestacional (GALD) é a causa mais comum de IHA neonatal. A sua histopatologia típica é: ausência de hepatócitos normais, áreas portais normais, numerosos túbulos no parênquima, fibrose parenquimatosa extensa, células gigantes multinucleadas. A retenção do complexo de ataque à membrana (C5b-9 complex) em hepatócitos remanescentes é evidência de lesão aloimune. O diagnóstico é confirmado com os depósitos de ferro extra-hepáticos na RM e/ou biópsia das glândulas salivares. (23,56)

Assim, a hemocromatose neonatal é uma das mais importantes etiologias da IHA. É um distúrbio com elevada mortalidade e morbidade perinatal, que se manifesta como colestase de início precoce, do qual o tratamento envolve transfusão de sangue e imunoglobulina intravenosa logo ao nascimento. A administração materna pré-natal de imunoglobulinas intravenosas a partir da 14^a semana de gestação demonstraram prevenir o seu desenvolvimento em gerações subsequentes. O diagnóstico de hemocromatose neonatal quando sugerido pela ferritina sérica e a capacidade total de ligação do ferro é confirmado pelo excesso de deposição de ferro na mucosa bucal. (6,10,53,55)

A triagem para hepatite viral inclui testes serológicos para: vírus da hepatite A a E, CMV, EBV, adenovírus, vírus herpes simplex, parvovírus e vírus de imunodeficiência humana (VIH). (54)

A infecção viral também é considerada uma causa comum de IHA. O diagnóstico geralmente é por PCR do sangue ou esfregaço nasal, que deve ser realizado em qualquer RN com IHA ou suspeita de doença hepática. O vírus Herpes Simplex (HSV) é agora o agente viral mais comum associado. A histopatologia mostra além de necrose hemorrágica, inclusões virais proeminentes. Doença respiratória ou diarreica recente na mãe deve levantar a suspeita de enterovírus. Algumas infecções enterovirais adquiridas no perinatal produzem enterocolite necrotizante e IHA. Na histologia hepática as características são: lesão e inflamação hepatocelular, prevalente em áreas perivenulares e grânulos de hemossiderina nos macrófagos. (23)

4.2.15. Colestase associada à Nutrição Parenteral

Uma Bilirrubina direta elevada é o primeiro sinal laboratorial indicativo de disfunção hepática relacionada à Nutrição Parenteral. Recém-nascidos prematuros têm função diminuída da enzima lipoproteína lípase devido à redução da massa gorda e muscular, e assim, em risco de hipertriglicireidémia. De acordo com as recomendações da *Sociedade Europeia de Nutrição Clínica e Metabolismo / Sociedade Europeia de Pediatria Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição*, a dose de emulsão lipídica parenteral deve ser restrita quando o nível de triglicéridos séricos atingir mais de 250 mg/dL. Se a história e o exame físico forem consistentes com colestase associada à Nutrição Parenteral, então um exame de ecografia não é necessariamente indicado. Se o tempo ou o grau de hiperbilirrubinémia conjugada sugere uma etiologia alternativa, então a ecografia é o 1º passo. (32,57)

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

5. Conclusões

Na abordagem diagnóstica é importante estratégias de triagem quando o recém-nascido apresenta um quadro sugestivo de Colestase Neonatal, devendo ser feita a sua avaliação, preferencialmente, num centro experiente e se necessário realizar a portoenterostomia de Kasai.

O cartão da escala cromática das fezes é uma pista valiosa na investigação, e a sua explicação e alerta aos pais representa uma mais-valia, demonstrando elevada especificidade e sensibilidade no diagnóstico de atresia biliar.

A biópsia hepática percutânea permanece o “gold standard” na avaliação diagnóstica de recém-nascidos com colestase. Quando a interpretação é realizada por um patologista experiente, fornece um diagnóstico correto em 90% a 95% dos casos, evitando a realização de uma cirurgia desnecessária num paciente com colestase intra-hepática. Sendo assim, a biópsia hepática e a colangiografia intraoperatória são a chave para o diagnóstico de atresia biliar, visto que a ecografia abdominal não é suficiente para descartar atresia biliar. A biópsia deve ser realizada num tempo ótimo, porque se muito cedo pode revelar alterações inespecíficas, e muito tarde pode levar a um atraso no diagnóstico e assim comprometimento do tratamento, demonstrando a importância da clínica e bioquímica neste processo.

Cada vez mais os diagnósticos de colestase sem etiologia específica (hepatite neonatal idiopática) estão a diminuir, aumentando proporcionalmente o diagnóstico das doenças metabólicas hereditárias, muito devido ao sequenciamento de próxima geração (NGS), sendo também relevante no diagnóstico, apesar de ser muito limitado em alguns centros, inclusive em Portugal, onde são referidas as limitações no custo e no tempo para obtenção desse diagnóstico, tornando-se fulcral, novamente, a clínica como orientação na avaliação diagnóstica.

Em descobertas futuras, é essencial a identificação de mais genes associados à Colestase Neonatal e um acesso mais generalizado do sequenciamento de próxima geração (NGS) à população mundial, tal como o cartão da escala cromática das fezes transpor da teoria para a prática médica, efetivamente, aumentando ainda mais o rendimento diagnóstico da abordagem a um recém-nascido com colestase neonatal.

Protocol of Investigation of Neonatal Cholestasis
Qual a abordagem diagnóstica perante um recém-nascido com Colestase Neonatal?

6. Bibliografia

1. Vaz F, Ferdinandusse S. Bile acid analysis in human disorders of bile acid biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2017;56:10-24.
2. Pó I. Colestase do recém-nascido e lactente. In: Videira-Amaral JM. *Tratado de Clínica Pediátrica*. 2nd ed. Lisboa: Abbott, 2013; 587-591 [citado a 2020 jan 23].
3. Fawaz R, Baumann U, Ekong U, Fischler B, Hadzic N, Mack C et al. Guideline for the Evaluation of Cholestatic Jaundice in Infants: Joint Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 2017;64(1):154-168.
4. Pinto RB, Silveira TR. Colestase neonatal: uma abordagem prática. *Bol Cient Pediatr*. 2016;05(3):92-102 [citado a 2020 jan 23]. Disponível em: https://www.sprs.com.br/sprs2013/bancoimg/170118174030bcped_05_03_a05.pdf.
5. Pissarra Susana, Gouvea Constança, Valente Sandra, Azevedo Sara, Silva Ermelinda. Colestase Neonatal na UCIN: abordagem diagnóstica e terapêutica. *Secção de Neonatologia SPP [Internet]* 2013; [citado a 2020 jan 23] Disponível em: https://www.spneonatologia.pt/wp-content/uploads/2016/11/2013-Colestase_Neonatal.pdf.
6. Catzola A, Vajro P. Management options for cholestatic liver disease in children. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2017;11(11):1019-1030.
7. Mandato C, Zollo G, Vajro P. Cholestatic jaundice in infancy: struggling with many old and new phenotypes. *Italian Journal of Pediatrics*. 2019;45(1).
8. Zhou K, Wang J, Xie G, Zhou Y, Yan W, Pan W et al. Distinct Plasma Bile Acid Profiles of Biliary Atresia and Neonatal Hepatitis Syndrome. *Journal of Proteome Research*. 2015;14(11):4844-4850.

9. Santos Silva E, et al. Colestase neonatal – Protocolo de abordagem diagnóstica. *Pediatr Port* [Internet] 2010;41 (3):141-143 [citado a 2020 jan 23]. Disponível em: http://www.spgp.pt/media/1040/hepatologia_1.pdf.
10. Chen H, Wu S, Hsu S, Liou B, Chen H, Chang M. Jaundice revisited: recent advances in the diagnosis and treatment of inherited cholestatic liver diseases. *Journal of Biomedical Science*. 2018;25(1).
11. Clouston A. Pathologic Features of Hereditary Cholestatic Diseases. *Surgical Pathology Clinics*. 2018;11(2):313-327.
12. Mouzaki M, Bass L, Sokol R, Piccoli D, Quammie C, Loomes K et al. Early life predictive markers of liver disease outcome in an International, Multicentre Cohort of children with Alagille syndrome. *Liver International*. 2016;36(5):755-760.
13. Rapp J, Bellah R, Maya C, Pawel B, Anupindi S. Giant hepatic regenerative nodules in Alagille syndrome. *Pediatric Radiology*. 2016;47(2):197-204.
14. Meena B, Khanna R, Bihari C, Rastogi A, Rawat D, Alam S. Bile duct paucity in childhood—spectrum, profile, and outcome. *European Journal of Pediatrics*. 2018;177(8):1261-1269.
15. Ruiz M, Lacaille F, Berthiller J, Joly P, Dumortier J, Aumar M et al. Liver disease related to alpha1-antitrypsin deficiency in French children: The DEFI-ALPHA cohort. *Liver International*. 2019;39(6):1136-1146.
16. Teckman J, Pardee E, Howell R, Mannino D, Sharp R, Brantly M et al. Appropriateness of Newborn Screening for α 1-Antitrypsin Deficiency. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 2014;58(2):199-203.
17. Alam S, Lal B. Metabolic liver diseases presenting as acute liver failure in children. *Indian Pediatrics*. 2016;53(8):695-701.
18. De Jesús V, Adam B, Mandel D, Cuthbert C, Matern D. Succinylacetone as primary marker to detect tyrosinemia type I in newborns and its measurement by newborn screening programs. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2014;113(1-2):67-75.

19. Kotb M, Mansour L, Shamma R. Screening for galactosemia: is there a place for it?. *International Journal of General Medicine*. 2019;Volume 12:193-205.
20. Gumus E, Haliloglu G, Karhan A, Demir H, Gurakan F, Topcu M et al. Niemann-Pick disease type C in the newborn period: a single-center experience. *European Journal of Pediatrics*. 2017;176(12):1669-1676.
21. Taylor S, Whittington P. Neonatal acute liver failure. *Liver Transplantation*. 2016;22(5):677-685.
22. Nakazawa A, Nakano N, Fukuda A, Sakamoto S, Imadome K, Kudo T et al. Use of serial assessment of disease severity and liver biopsy for indication for liver transplantation in pediatric Epstein-Barr virus-induced fulminant hepatic failure. *Liver Transplantation*. 2015;21(3):362-368.
23. Bersani I, Auriti C, Piersigilli F, Dotta A, Diomedi-Camassei F, Di Pede A et al. Neonatal acute liver failure due to enteroviruses: a 14 years single NICU experience. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2019;33(15):2576-2580.
24. Hwang J, Chung M. Predictive value of the aspartate aminotransferase to platelet ratio index for parenteral nutrition associated cholestasis in extremely low birth weight infants. *BMC Pediatrics*. 2019;19(1).
25. Yan W, Hong L, Wang Y, Feng Y, Lu L, Tao Y et al. Retrospective Dual-Center Study of Parenteral Nutrition–Associated Cholestasis in Premature Neonates: 15 Years’ Experience. *Nutrition in Clinical Practice*. 2017;32(3):407-413.
26. Verkade H, Bezerra J, Davenport M, Schreiber R, Mieli-Vergani G, Hulscher J et al. Biliary atresia and other cholestatic childhood diseases: Advances and future challenges. *Journal of Hepatology*. 2016;65(3):631-642.
27. Chapin C, Bass L. Cirrhosis and Portal Hypertension in the Pediatric Population. *Clinics in Liver Disease*. 2018;22(4):735-752.
28. Gardeitchik T, Wyckmans J, Morava E. Complex Phenotypes in Inborn Errors of Metabolism. *Pediatric Clinics of North America*. 2018;65(2):375-388.

29. Fischler B, Lamireau T. Cholestasis in the newborn and infant. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*. 2014;38(3):263-267.
30. Pandita A, Gupta V, Gupta G. Neonatal Cholestasis: A Pandora's Box. *Clinical Medicine Insights: Pediatrics*. 2018;12:117955651880541.
31. Hoerning A, Raub S, Dechêne A, Brosch M, Kathemann S, Hoyer P et al. Diversity of Disorders Causing Neonatal Cholestasis - The Experience of a Tertiary Pediatric Center in Germany. *Frontiers in Pediatrics*. 2014;2.
32. Satrom K, Gourley G. Cholestasis in Preterm Infants. *Clinics in Perinatology*. 2016;43(2):355-373.
33. Robie D, Overfelt S, Xie L. Differentiating Biliary Atresia from Other Causes of Cholestatic Jaundice. *The American Surgeon*. 2014;80(9):827-831.
34. Fu X, Xiao Y, Golden J, Niu S, Gayer C. Serum bile acids profiling by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and its application on pediatric liver and intestinal diseases. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2019;58(5):787-797.
35. Moreira-Silva H, Maio I, Bandeira A, Gomes-Martins E, Santos-Silva E. Metabolic liver diseases presenting with neonatal cholestasis: at the crossroad between old and new paradigms. *European Journal of Pediatrics*. 2019;178(4):515-523.
36. Chen H, Li H, Wu J, Wu S, Chen H, Yang Y et al. Panel-Based Next-Generation Sequencing for the Diagnosis of Cholestatic Genetic Liver Diseases: Clinical Utility and Challenges. *The Journal of Pediatrics*. 2019;205:153-159.e6.
37. Shagrani M, Burkholder J, Broering D, Abouelhoda M, Faquih T, El-Kalioby M et al. Genetic profiling of children with advanced cholestatic liver disease. *Clinical Genetics*. 2017;92(1):52-61.
38. Nicastro E, Di Giorgio A, Marchetti D, Barboni C, Cereda A, Iascone M et al. Diagnostic Yield of an Algorithm for Neonatal and Infantile Cholestasis Integrating Next-Generation Sequencing. *The Journal of Pediatrics*. 2019;211:54-62.e4.

39. Cho S, Kim G. A practical approach to the pathology of neonatal cholestatic liver disease. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2019;36(6):375-388.
40. Sanada Y, Naya I, Katano T, Hirata Y, Yamada N, Okada N et al. Visceral artery anomalies in patients with Alagille syndrome. *Pediatric Transplantation*. 2019;23(2):e13352.
41. Gunadi, Kaneshiro M, Okamoto T, Sonoda M, Ogawa E, Okajima H et al. Outcomes of liver transplantation for Alagille syndrome after Kasai portoenterostomy: Alagille Syndrome with agenesis of extrahepatic bile ducts at porta hepatis. *Journal of Pediatric Surgery*. 2019;54(11):2387-2391.
42. Sira M, Taha M, Sira A. Common misdiagnoses of biliary atresia. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2014;26(11):1300-1305.
43. Comba A, Demirbaş F, Çaltepe G, Eren E, Kalayci A. Retrospective analysis of children with α -1 antitrypsin deficiency. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2018;30(7):774-778.
44. Heubi J, Setchell K, Bove K. Inborn Errors of Bile Acid Metabolism. *Clinics in Liver Disease*. 2018;22(4):671-687.
45. Bilavsky E, Schwarz M, Bar-Sever Z, Pardo J, Amir J. Hepatic involvement in congenital cytomegalovirus infection - infrequent yet significant. *Journal of Viral Hepatitis*. 2014;22(9):763-768.
46. Zani A, Quaglia A, Hadzić N, Zuckerman M, Davenport M. Cytomegalovirus-associated biliary atresia: An aetiological and prognostic subgroup. *Journal of Pediatric Surgery*. 2015;50(10):1739-1745.
47. Voutetakis A, Sertedaki A, Dacou-Voutetakis C. Pituitary stalk interruption syndrome. *Current Opinion in Pediatrics*. 2016;28(4):545-550.
48. Mauvais F, Gonzales E, Davit-Spraul A, Jacquemin E, Brauner R. Cholestasis Reveals Severe Cortisol Deficiency in Neonatal Pituitary Stalk Interruption Syndrome. *PLOS ONE*. 2016;11(2):e0147750.

49. Abuduxikuer K, Chen R, Wang Z, Wang J. Risk factors associated with mortality in neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) and clinical implications. *BMC Pediatrics*. 2019;19(1).
50. Zhang H, Wang Y, Lin N, Yang R, Qiu W, Han L et al. Diagnosis of Niemann-Pick disease type C with 7-ketocholesterol screening followed by NPC1/NPC2 gene mutation confirmation in Chinese patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2014;9(1):82.
51. Porta F, Pagliardini S, Pagliardini V, Ponzone A, Spada M. Newborn screening for galactosemia: a 30-year single center experience. *World Journal of Pediatrics*. 2015;11(2):160-164.
52. Narkewicz M, Horslen S, Hardison R, Shneider B, Rodriguez-Baez N, Alonso E et al. A Learning Collaborative Approach Increases Specificity of Diagnosis of Acute Liver Failure in Pediatric Patients. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2018;16(11):1801-1810.e3.
53. Zozaya Nieto C, Fernández Caamaño B, Muñoz Bartolo G, Menéndez Suso J, Frauca Remacha E, Valverde Núñez E. Presenting Features and Prognosis of Ischemic and Nonischemic Neonatal Liver Failure. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 2017;64(5):754-759.
54. Hegarty R, Hadzic N, Gissen P, Dhawan A. Inherited metabolic disorders presenting as acute liver failure in newborns and young children: King's College Hospital experience. *European Journal of Pediatrics*. 2015;174(10):1387-1392.
55. Bitar R, Thwaites R, Davison S, Rajwal S, McClean P. Liver Failure in Early Infancy: Aetiology, Presentation, and Outcome. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 2017;64(1):70-75.
56. Ciocca M, Álvarez F. Neonatal acute liver failure: a diagnosis challenge. *Arch Argent Pediatr*. 2017;115(2):175-180.
57. Buonpane C, Ares G, Englert E, Helenowski I, Cohran V, Hunter C. Utility of liver biopsy in the evaluation of pediatric total parenteral nutrition cholestasis. *The American Journal of Surgery*. 2018;216(4):672-677.

7. Apêndice

A estratégia de pesquisa foi realizada na PubMed, no dia 9 de janeiro de 2020, que resultou em 1074 artigos.

((Neonate OR Neonatal OR Infant OR infantile) AND (cholestasis OR liver failure))

AND

Guideline OR protocol OR “clinical manifestation” OR ((Clinical OR laboratory OR clinical-laboratory OR image OR histopathol*) AND (diagnosis OR “differential diagnosis”)) OR chromosom* OR gene OR genetic OR epigenetic OR methylation OR exome OR GWAS OR genome OR NGS OR phenotype OR genotype OR prognosis OR evolution OR outcome OR “prognostic factors” OR “native liver” OR survival OR fibrosis OR cirrhosis OR fibrogenesis OR cirrhogenesis

AND

“Idiopathic neonatal hepatitis” OR “giant cell hepatitis” OR “Alagille syndrome” OR ARPKD OR ADPKD OR (Caroli AND (disease OR syndrome)) OR “Joubert syndrome” OR “COACH syndrome” OR “Meckel syndrome” OR “Renal-hepatic-pancreatic dysplasia” OR NPHP3 OR “congenital hepatic fibrosis” OR cilium OR cilia OR ciliopathy OR (“Disorder of bile acid” AND (synthesis OR conjugation)) OR “ Δ 4-3-Oxosteroid 5 β -reductase” OR “3 β -hydroxy-5-C27-steroid dehydrogenase” OR “Oxysterol 7 α -hydroxylase deficiency” OR “BACAT deficiency” OR “familial hypercholanemia” OR “Alpha-methylacyl-CoA racemase function disorder” OR “AMACR function disorder” OR “progressive familial intrahepatic cholestasis” OR PFIC OR “benign recurrent intrahepatic cholestasis” OR BRIC OR “Cystic fibrosis” OR “Neonatal sclerosing cholangitis” OR “Arthrogryposis-renal dysfunction-cholestasis (ARC) syndrome” OR VPS33B OR VIPAS39 OR “Cerebrotendinous xanthomatosis” OR ((Primary or Secondary) AND “disorder of bile acid” AND (metabolism OR synthesis)) OR CYP27A1 OR “Congenital disorders of glycosylation” OR CDG OR ALG3 OR ALG8 OR GLS1 OR PMM2 OR MPI OR COG1 OR COG7 OR ATP6AP1 OR “Zellweger syndrome” OR “Zellweger syndrome spectrum” OR “peroxisome disorder” OR PEX OR “Refsum disease” OR “Urea cycle disorder” OR citrullinemia OR “citrin deficiency” OR SLC25A13 OR (mitochondrial AND (liver OR hepatic) AND (disease OR disorder)) OR “mitochondrial depletion syndrome” OR dGK OR POLG OR MPV17 OR “complex III deficiency” OR BCS1L OR “Disturbance of nuclear bile acid receptor function” OR “FXR

function defect” OR hypothyroidism OR hypopituitarism OR “ α 1-antitrypsin deficiency” OR “A1AT deficiency” OR A1AD OR AATD OR “carbohydrate metabolism disorder” OR Galactosaemia OR Galactosemia OR “Fructose hereditary intolerance” OR “Glycogen storage disease” OR GSD OR “carbohydrate deficient-protein syndrome” OR “Disorder of amino acid metabolism” OR Tyrosinemia OR “Disorder of lipid metabolism” OR ((Wolman OR Niemann-Pick OR Gaucher OR Farber OR “cholesterol ester storage”) AND disease) OR Mucopolidosis OR sialidosis OR “GM1 Gangliosidosis” OR mucopolysaccharidosis OR MPS OR “Congenital infections” OR ((Parasitic OR Parasite) AND infection) OR Toxoplasmosis OR ((Viral OR virus) AND infection) OR “German measles” OR cytomegalovirus OR “herpes simplex” OR “hepatotropic virus” OR HIV OR “parvovirus B19” OR varicella OR paramyxovirus OR “viral enteral sepsis” OR ((echo OR coxsackie OR adeno) AND virus) OR (Bacterial AND (disease OR disorder)) OR syphilis OR “bacterial sepsis” OR sepsis OR “urinary tract infection” OR listeriosis OR tuberculosis OR (Immune AND (disorder or disease)) OR “systemic lupus erythematosus” OR “neonatal hepatitis with autoimmune hemolytic anemia” OR “gestational alloimmune liver disease” OR (neonatal AND (hemochromatosis OR haemochromatosis)) OR ((total OR prolonged) AND “parenteral nutrition”) OR “Histiocytosis X” OR “fibrosing hepatitis with transitory leukemia” OR “shock” OR hypoperfusion OR asphyxia OR “intestinal obstruction”