

Doenças Colestáticas Neonatais de Causa Genético-Metabólica: Diagnóstico, Clínica, Terapêutica e Prognóstico

Versão final após Defesa

Catarina Lourenço Silva Rodrigues

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

Orientador: Prof. Doutor Jorge Luiz dos Santos

julho de 2023

Declaração de Integridade

Eu, Catarina Lourenço Silva Rodrigues, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 39245 do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 10 /07 /2023

Dedicatória

Aos meus pais, os meus pilares. Agradeço cada sacrifício que fizeram para que eu pudesse escolher o percurso que sempre quis seguir. Obrigada por serem sempre o meu refúgio emocional.

Aos meus avós. Obrigada por toda a força e motivação. Espero orgulhar-vos sempre.

Às melhores amigas que o percurso académico me podia dar, Eduarda e Joana. Obrigada por serem as melhores, por todos os momentos partilhados e pelas amizades que me deram.

Aos meus amigos mais antigos, Tiago e Érica, que estão sempre lá para me apoiar, independentemente do tempo que passe.

Aos restantes amigos, também colegas de ano, com quem partilhei tantos momentos ao longo desta jornada.

Agradecimentos

Agradeço ao Dr. Jorge Santos, pela orientação sábia, paciência e conselhos imprescindíveis para a concretização desta dissertação.

Agradeço à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, a casa que escolhi para estudar, decisão que não me arrependo de ter tomado.

E, por último, não posso deixar de agradecer à cidade que me acolheu e na qual tanto gostei de estudar, a Covilhã.

Resumo

Introdução: O termo colestase diz respeito aos estados patológicos que resultam numa diminuição ou bloqueio do fluxo da bÍlis, quer por alterações anatÓmicas, quer funcionais do sistema biliar. Tal facto leva, assim, ao aumento da concentração sérica de substâncias habitualmente excretadas na bÍlis, como a bilirrubina conjugada (direta), os sais biliares e seus metabolitos, e o colesterol. A colestase é considerada neonatal sempre que se inicia nos 3 primeiros meses de vida, podendo prolongar-se para além deste período, e afeta 1 em cada 2.500 lactentes. A presença de hiperbilirrubinemia direta, típica no recém-nascido colestático, evidencia a presença de uma doença hepatocelular ou biliar, requerendo, por isso, uma investigao mais aprofundada da sua etiologia.

Assim sendo, a colestase neonatal intra-hepática pode ter na sua gnese as doenças genético-metabólicas, pautadas por erros herdados do metabolismo. Alguns dos achados da história clínica poderão remeter para esta etiologia, nomeadamente a presença de um quadro clínico agudo, com icterícia, vômitos, letargia, irritabilidade, hipoglicemia, acidose metabólica, sinais de coagulopata e uma elevada tendência para a falência hepática aguda.

Objetivo: Realizar uma revisão da literatura sobre as principais doenças metabólicas de causa genética responsáveis pela colestase neonatal, com base em artigos de relevo publicados nos últimos anos. Pretende-se, pois, apresentar a fisiopatologia, o diagnóstico, o tratamento e o prognóstico inerente a cada uma destas doenças, dando uma visão bastante completa sobre este grupo tão específico de patologias.

Metodologia: Foram efetuadas duas pesquisas, uma específica e outra geral, de artigos de relevo para o tema tratado na base de dados da *PubMed* utilizando combinaes específicas de termos-chave. Recorreu-se, ainda, a artigos resultantes de pesquisas secundárias às necessidades científicas impostas ao longo da escrita da presente dissertao.

Resultados e Conclusão: As doenças hepáticas genético-metabólicas analisadas são entidades raras e cujo reconhecimento dos sintomas, diagnóstico e tratamento atempados se revelam fulcrais para a sobrevivência e garantia da qualidade de vida dos pacientes. Torna-se essencial estar atento aos principais sinais clínicos, de forma a realizar estudos bioquímico e genético dirigidos, que, frequentemente, são suficientes para implementar uma terapêutica tão simples quanto um ajuste dietético. Contudo,

patologias mais graves poderão condicionar uma esperança média de vida substancialmente mais curta ou, até mesmo, a morte prematura dos pacientes, podendo exigir soluções mais complexas, como o transplante hepático.

Palavras-chave

Colestase, neonatal; Colestase, intrahepática; Erros inatos, metabolismo; Diagnóstico; Tratamento; Prognóstico

Abstract

Introduction: The term cholestasis refers to pathological conditions that result in a decrease or blockage of bile flow, either due to anatomical or functional changes in the biliary system. This fact leads to an increase in the serum concentration of substances usually excreted in the bile, such as conjugated (direct) bilirubin, bile salts and their metabolites, and cholesterol. Cholestasis is considered neonatal whenever it starts in the first 3 months of life, but may extend beyond this period, and affects 1 in 2.500 neonates. The presence of direct hyperbilirubinemia, typical in the cholestatic newborn, evidences the presence of a hepatocellular or biliary disease, requiring, therefore, a more in-depth investigation of its etiology.

Neonatal intrahepatic cholestasis may have genetic-metabolic diseases as its etiology, associated with inherited errors of metabolism. In the clinical history, we can find signs and symptoms which can be suggestive of this etiology, such as the presence of an acute clinical picture, with jaundice, vomiting, lethargy, irritability, hypoglycemia, metabolic acidosis and a high tendency towards acute liver failure.

Aim: To carry out a literature review on the main metabolic diseases of genetic cause responsible for neonatal cholestasis, based on relevant articles published in recent years. It is, therefore, intended to present the pathophysiology, diagnosis, treatment and prognosis about each of these diseases, giving a complete view of this specific group of pathologies.

Methods: Two searches were carried out, one specific and the other general, of relevant articles for the subject treated in the PubMed database using specific combinations of keywords. It was also taken into account articles resulting from secondary research, according to the scientific needs imposed during the writing of this dissertation.

Results/Conclusion: The analyzed genetic-metabolic liver diseases are rare entities, whose symptom recognition, timely diagnosis and treatment are essential for the survival and guarantee of the patients' quality of life. It is essential to be aware of the main clinical signs, in order to carry out adequate biochemical and genetic studies, which are often enough to implement a therapy as simple as a dietary adjustment. However, more serious pathologies may lead to a substantially shorter average life expectancy or even premature death of patients, and may require more complex solutions, such as liver transplantation.

Keywords

Cholestasis, neonatal; Cholestasis, intrahepatic; Metabolism, inborn errors; Diagnosis; Therapeutics; Prognosis

Índice

Dedicatória	v
Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Palavras-chave	x
Abstract	xii
Keywords	xiii
Lista de figuras	xviii
Lista de tabelas	xx
Lista de acrónimos	xxii
Introdução	1
Metodologia	4
Resultados	7
Uma visão geral sobre as doenças hepáticas metabólicas como causa de colestase neonatal	7
1. Intoxicações metabólicas	11
1.a. Galactosemia clássica	11
1.b. Tirosinemia tipo 1	14
1.c. Intolerância hereditária à frutose	16
2. Distúrbios do ciclo da ureia	18
3. Anomalias do armazenamento lisossomal	24
3.a. Doença de Niemann-Pick tipo C	25
3.b. Doença de Wolman	27
4. Anomalias mitocondriais	29
4.a. Síndrome de Pearson	32
4.b. Síndromes hepatocerebrais de depleção mitocondrial	32
4.c. Síndrome de Fellman	33
5. Alterações no armazenamento do glicogénio	34
6. Anomalias de glicosilação	36
7. Distúrbios do espectro Zellweger	39
8. Fibrose Quística	41
9. Deficiência de α_1 -antitripsina	43
10. Hipopituitarismo congénito	44
10.a. Défice de Hormona de Crescimento	45
10.b. Défice de Hormona Adrenocorticotrópica	45

10.c. Défice de Hormona Estimulante da Tireoide	46
Conclusões finais	49
Bibliografia	53

Lista de Figuras

Figura 1: Visão geral do intervalo decorrente entre o nascimento e o início das manifestações clínicas nas DHMs que cursam com intoxicação metabólica em comparação com outras doenças, nomeadamente sépsis e hemocromatose neonatal.

Figura 2: Função da enzima GALT no metabolismo da galactose.

Figura 3: Padrão de esteatose macrovesicular panlobular, proveniente de biópsia hepática. Coloração de Hematoxilina-Eosina (H&E), sob ampliação 100x.

Figura 4: Ciclo da ureia.

Figura 5: Mecanismo fisiológico de regulação da síntese de colesterol livre.

Figura 6: Sistematização da abordagem diagnóstica das doenças hepáticas metabólicas.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Principais sinais, sintomas e fatores de risco relevante na história clínica de numa DHM.

Tabela 2: Principais testes a realizar em algumas DHMs.

Tabela 3: Alimentos e outras substâncias a restringir na frutosemia hereditária.

Tabela 4: Principal sintomatologia encontrada nos défices enzimáticos completos e parciais do ciclo da ureia.

Tabela 5: Aspectos particulares dos distúrbios do ciclo da ureia com implicação hepática.

Tabela 6: Perfis bioquímicos específicos dos distúrbios do ciclo da ureia com implicação hepática.

Tabela 7: Principais características clínicas e diagnósticas das síndromes hepatocerebrais de depleção mitocondrial.

Tabela 8: Principais características e proposta terapêutica específica para as GSDs com afeção hepática.

Lista de Acrónimos

DHM	Doença Hepática Metabólica
NP-C	Doença de Niemann-Pick tipo C
NGS	<i>Next-generation Sequencing</i>
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
GGT	Gama-glutamil transferase
FA	Fosfatase alcalina
GALT	Galactose-1-fosfato uridil transferase
FAH	Fumaril acetoacetato hidroxilase
AFP	α -Fetoproteína
CPS1	Carbamoilfosfato-sintetase I
OTC	Ornitina transcarbamilase
ASS1	Ácido argininosuccínico sintetase
ASL	Ácido argininosuccínico liase
ARG1	Arginase
NAGS	N-acetil glutamato sintetase
ORNT1	Ornitina translocase
ORNT1D	Défice de ornitina translocase
OTCD	Défice de ornitina transcarbamilase
ASLD	Défice de argininossuccinato liase
ASS1D	Défice de argininossuccinato sintetase
NICCD	Colestase intra-hepática neonatal por deficiência de citrina
ASA	Ácido argininossuccínico
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i>
HSP70	<i>Heat-shock protein (70 kiloDalton)</i>
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
HDL	<i>High-density lipoprotein</i>
TC	Tomografia computadorizada
CDG	Distúrbios congénitos da glicosilação
ATP6AP1	Proteína 1 ATPase H ⁺ transportadora acessória
CCDC115	<i>Coiled-coil domain containing 115</i>
A1AT	Alfa1-antitripsina
GSD	Doenças de armazenamento do glicogénio
GH	Hormona de Crescimento
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor 1</i>
ACTH	Hormona Adrenocorticotrópica
TSH	Hormona Estimulante da Tireoide

Introdução

A icterícia é um sintoma comum que pode ter como causa estabelecida uma doença hepática herdada ou adquirida, ou ser uma manifestação de uma alteração no metabolismo dos eritrócitos.(1) A icterícia neonatal é, habitualmente, uma condição que poderá estar presente após o nascimento, podendo ser considerada um achado fisiológico. É, pois, reconhecida como um achado semiológico resultante do exame físico e não uma doença em si mesma, podendo estar associada a múltiplas etiologias distintas.(2)

Sabe-se que o mecanismo bioquímico subjacente à icterícia é a hiperbilirrubinemia, que poderá ser de dois tipos: direta ou indireta. A hiperbilirrubinemia indireta resulta, geralmente, de um aumento do *turnover* eritrocitário, de alterações na captação hepatocelular ou de anomalias na conjugação da bilirrubina. (1) Quanto à hiperbilirrubinemia direta, podemos defini-la como colestase, se existir uma relação bilirrubina direta/total superior a 20% com um nível mínimo de bilirrubina direta superior a 1.0 mg/dL.(3) Habitualmente, a hiperbilirrubinemia conjugada é patológica, indiciando uma alteração a nível biliar ou hepático.(4)

A hiperbilirrubinemia indireta é, pois, um dos principais diagnósticos estabelecidos no período neonatal, sendo o resultado dos altos níveis de bilirrubina originados a partir do *turnover* eritrocitário aumentado logo após o nascimento e pela expressão mais tardia da enzima hepática responsável pela conjugação da bilirrubina, a UDP-glucuronosiltransferase 1A1. Mais de 60% dos recém-nascidos saudáveis desenvolve esta condição durante a primeira semana após o nascimento, culminando com uma icterícia benigna. Já uma pequena porção dos neonatos poderá sofrer uma elevação crítica dos níveis de bilirrubina não conjugada (indireta), estando em risco de desenvolver danos neurológicos, que poderão evoluir para uma condição de irreversibilidade denominada *kernicterus*, caso os níveis de bilirrubina não sejam otimizados.(5,6)

O principal foco desta dissertação é, portanto, a colestase neonatal que, como referido anteriormente, se manifesta através da elevação dos níveis de bilirrubina direta (conjugada). Quanto à fisiopatologia, a colestase define-se como o resultado que advém da obstrução ao normal fluxo da biliar, resultado esse que culmina na acumulação anormal de ácidos biliares ou dos seus precursores metabólicos, bilirrubina e outros compostos colefilicos no fígado e no sangue.(7) A sua incidência global é de 1 em cada 2.500 nascimentos e a idade média da criança ao diagnóstico, mesmo em países

desenvolvidos, é de 60 dias, o que, conjuntamente com a falta de experiência diagnóstica e de gestão, condiciona excessivas morbidade e mortalidade.(3)

Os achados clínicos típicos de hiperbilirrubinemia direta (colestase) podem incluir desde a icterícia, prurido, hipocolia/acolia e colúria até à má absorção de gorduras, deficiência de vitaminas, coagulopatia, dano hepatocelular com cirrose e outras manifestações sistêmicas, como sendo esplenomegalia, alterações oculares e anomalias cardíacas.(1,3,8) Contudo, existem algumas diferenças no que toca às manifestações de colestase no período neonatal, já que o prurido é uma manifestação menos frequente e que a urina, usualmente, se apresenta numa coloração amarelada ao invés da típica cor de *Coca-Cola*[®]. De notar, ainda, que, como as exigências nutricionais no crescimento e desenvolvimento pós-natais não se encontram suficientemente supridas na sequência da má-absorção de gorduras secundária à colestase, existe um risco elevado de complicações associadas ao défice de vitaminas lipossolúveis, nomeadamente, défices neurológicos, alterações ósseas e hemorragias.(9)

Desta forma, há que pensar na colestase neonatal sempre que se esteja perante um recém-nascido que apresente icterícia prolongada há mais de 2 semanas ou, mesmo que por um período inferior, esta esteja associada a hepatomegalia, dificuldade de crescimento, fezes e urina de coloração alterada, ou, inclusivamente, a sinais de doença aguda grave, com risco de morte iminente.(3)

Metodologia

Foi utilizado o *PubMed* como base científica de referência para as duas pesquisas principais de artigos realizadas, uma mais geral e outra mais específica sobre o tema tratado nesta dissertação. Estas pesquisas foram conduzidas durante o mês de janeiro de 2022. Foram, assim, utilizadas as seguintes conjunções de termos na pesquisa mais geral e na mais específica, respetivamente:

("neonatal cholestasis" OR ((cholestasis OR jaundice) OR (pediatric AND liver AND (disorder OR disease))) OR ((newborn OR children) AND (hepatic OR liver OR "liver failure"))) AND metabolic AND (Galactosemia OR Tyrosinemia OR "hereditary fructose intolerance" OR "mitochondrial diseases" OR "cystic fibrosis" OR "Niemann Pick" OR hemochromatosis OR hypothyroidism OR "hypopituitarism" OR "Inborn errors of bile acid metabolism" OR "amidation defect" OR "acid-CoA ligase deficiency" OR OR "Fatty acid oxidation defect" OR "Urea cycle defect" OR "glycosylation" OR "Mitochondrial Cytopathy" OR ("Wolman's disease" OR "Wolman disease") OR "alfa 1 antitrypsin deficiency" OR "peroxisomal disease" OR "citrine disease" OR "Reye Syndrome" OR "Zellweger Syndrome" OR "glycogen storage disease") AND (pathology OR etiology OR diagnosis OR "differential diagnosis" OR treatment OR prognosis OR markers)

AND

("neonatal cholestasis" OR "neonatal jaundice" OR "neonatal hyperbilirubinemia") AND metabolic

Foram apenas selecionadas revisões, revisões sistemáticas e meta-análises publicadas e/ou atualizadas a partir de 2010, nas línguas inglesa e espanhola.

Os resultados que surgiram a partir das pesquisas supracitadas sofreram uma primeira seleção com base no seu título, sendo que dos 114 artigos que surgiram da primeira pesquisa se selecionaram 78, e dos 47 artigos da segunda pesquisa apenas 10 foram selecionados.

Posteriormente, foi realizada uma segunda seleção dos 88 artigos resultantes da primeira seleção, agora com base no seu *Abstract*. A leitura integral de muitos dos artigos permitiu, ainda, uma avaliação mais exaustiva da pertinência para a construção da presente monografia. Foram, ainda, incluídas algumas referências de relevância histórica no contexto do tema tratado e outras que surgiram da análise das primeiras

referências selecionadas ou de pesquisas diretas no *PubMed*, de modo a colmatar alguma escassez de informação científica relevante nos artigos que provieram das pesquisas supracitadas. Assim sendo, na totalidade, foram analisados e estudados 94 artigos e um relatório em língua portuguesa para a construção desta Dissertação de Mestrado.

De mencionar, ainda, que, as palavras-chave definidoras da presente dissertação foram estabelecidas de acordo com vocabulário controlado, versado no *MeSH (Medical Subject Headings)*, na sua versão mais atualizada.

Resultados

Uma visão geral sobre as doenças hepáticas metabólicas como causa de colestase neonatal

A colestase neonatal pode ser classificada pela sua origem em biliar, onde se incluem as alterações estruturais e obstruções dos ductos biliares extra e intra-hepáticos, e hepatocelular, que abrange disfunções no transporte da bÍlis, infeções (sendo o citomegalovÍrus o agente mais frequente) e doenças genéticas ou metabólicas.(3,7,10)

A título de exemplo concreto, doenças como a Síndrome de Alagille (desordem na embriogénese de estruturas biliares) e a Colestase Intra-hepática Familiar (grupo heterogénico de doenças hereditárias, que pautam pela ausência de anomalias estruturais hepatobiliares, estando associadas a alterações na função de excreção hepática) constituem-se como importantes distúrbios genéticos causadores de colestase neonatal, mas que, por não cursarem com alterações metabólicas sistémicas concomitantes, não serão objeto de foco desta dissertação.(11)

Assim, erros inatos do metabolismo motivam o desenvolvimento das chamadas doenças hepáticas metabólicas (DHMs), em que se verifica ocorrência de anomalias nas enzimas e/ou nas vias metabólicas expressas no fÍgado.(12) Para que se tenha uma visão mais geral destas entidades, é possível organizá-las em 3 grandes tipos:

- **intoxicação** – deve-se à acumulação de substratos por reação enzimática deficiente, como sucede na galactosemia, na intolerância hereditária à frutose e na tirosinemia, ou a uma anomalia num transportador, como ocorre em distúrbios do ciclo da ureia;
- **armazenamento** – devido ao comprometimento do catabolismo ou do transporte de moléculas endógenas complexas, levando a uma toxicidade crónica, tal como ocorre na doença de Niemann Pick tipo C (NP-C);
- **deficiência de energia** – motivada por uma produção comprometida de energia, ao nível mitocondrial com alterações da oxidação de ácidos gordos, do ciclo de ácido tricarbóxico e das enzimas da cadeia respiratória, ou ao nível citoplasmático com distúrbios da glicólise, do metabolismo do glicogénio e da gliconeogénese.(13,14)

Habitualmente, existem fatores de risco e sintomas presentes na história clínica do recém-nascido que devem despertar a atenção do médico, levando-o a pensar neste grupo de patologias. Apesar de alguns deles serem bastante inespecíficos, certos fatores levam à suspeita de uma etiologia específica.(15) A *Tabela 1* organiza estes mesmos pontos.

É de relevo referir, ainda, que a falência hepática aguda é uma consequência rara, mas com uma taxa de mortalidade que ronda os 55% a 70%, e que consiste na perda quase total ou completa da função hepática sem que exista qualquer condição prévia, sendo acompanhada de encefalopatia e coagulopatia não-responsiva à vitamina K.(15) Entre as causas de insuficiência hepática aguda, listam-se a hemocromatose neonatal (doença hepática aloimune gestacional) e as infecções víricas, mas também as DHMs, como os distúrbios de glicosilação, doenças de armazenamento do glicogénio, defeitos na oxidação dos ácidos gordos, defeitos na cadeia respiratória, NP-C, tirosinemia tipo 1, a galactosemia e a intolerância hereditária à frutose.(15)

Tabela 1: Principais sinais, sintomas e fatores de risco relevante na história clínica de numa DHM. Fonte: (8,12,13,15-17)

Principais sinais, sintomas e fatores de risco	Etiologias suspeitas
História familiar de consanguinidade	Doença hepática genética autossômica recessiva
Fezes acólicas por mais de 7 dias	Etiologias extra-hepáticas, como a atresia biliar
Vômitos, febre, icterícia, hepatomegalia, encefalopatia, diátese hemorrágica/coagulopatia, ascite, esplenomegalia	Falência hepática aguda
Encefalopatia, especialmente quando desproporcionalmente mais severa face à disfunção hepática	Defeitos no ciclo da ureia ou Acidemia láctica primária
Atraso no desenvolvimento, cardiomiopatia, tubulopatia renal num neonato hipotónico e com crises convulsivas	Alterações mitocondriais
Sintomas de disfunção hepática que coincidem com a ingestão de leite, introdução da alimentação diversificada, de leite de fórmula, de determinados medicamentos ou vacinas (por presença de frutose, sucrose ou sorbitol) Existência de cataratas, sépsis, hipoglicemia, hepatomegalia e disfunção tubular Período livre de sintomatologia antes do início dos sinais de intoxicação	Intoxicação metabólica por Galactosemia, Intolerância hereditária à frutose ou Tirosinemia
Colestase transitória associada a hepatoesplenomegália, oftalmoplegia vertical e ataxia	Doença de Niemann-Pick tipo C

É certo que qualquer suspeita diagnóstica deve ser sempre bem fundamentada com uma história clínica completa, um bom exame objetivo e análises bioquímicas

dirigidas. Primeiramente, deverá excluir-se qualquer causa de icterícia e colestase secundárias, como sépsis, dano hepático induzido por fármacos ou doença hepática associada a nutrição parentérica.⁽¹⁾ As análises bioquímicas hepáticas de rotina incluem os níveis de bilirrubina total e direta, de aspartato aminotransferase (AST), de alanina aminotransferase (ALT), gama-glutamil transferase (GGT) e de fosfatase alcalina (FA).⁽¹⁾ Na *Tabela 2*, listam-se, a título de exemplo, os principais testes a realizar perante algumas das principais DHMs.

Sabe-se, também, que o recurso a testes genéticos, como sendo um painel *Next-Generation Sequencing* (NGS), permite a obtenção de um diagnóstico definitivo no caso de determinadas doenças hepáticas associadas à mutação conhecida de genes específicos, permitindo auxiliar no diagnóstico de algumas doenças que não têm biomarcadores tão adequados e fidedignos.⁽¹⁾ Adicionalmente, há que ter em mente que a identificação de uma mutação genética ou de um polimorfismo deverá ser sempre interpretada no contexto clínico e que podemos estar perante uma variante genética de significado indeterminado.⁽¹²⁾

Contudo, é importante salientar que, no decorrer do processo de investigação da colestase neonatal, a sequenciação genética de genes bem estabelecidos para as principais DHMs pode demorar 30 a 90 dias até fornecer um resultado que permita confirmar um diagnóstico. É, pois, evidente que esta demora poderá comprometer a tomada de decisões atempadas no que concerne ao tratamento de condições que cursem com intoxicação metabólica ou doença hepática fulminante, cuja margem de atuação é muito mais apertada. Assim, os testes genéticos perdem substancial interesse no diagnóstico de doenças como a galactosemia, a tirosinemia ou os defeitos no ciclo da ureia, que resultam em intoxicações metabólicas e que, habitualmente, apresentam um tempo de latência conhecido entre o nascimento e o início das manifestações clínicas, o que permite fundamentar a suspeita diagnóstica deste grupo de DHMs (*Figura 1*).⁽¹¹⁾

Sepsis – collect serology and cultures. Treat herpesvirus empirically.
viral: low birth weight, microcephaly, chorioretinitis, purpura.

Neonatal hemochromatosis (?) – intravenous immunoglobulin (1st dose)

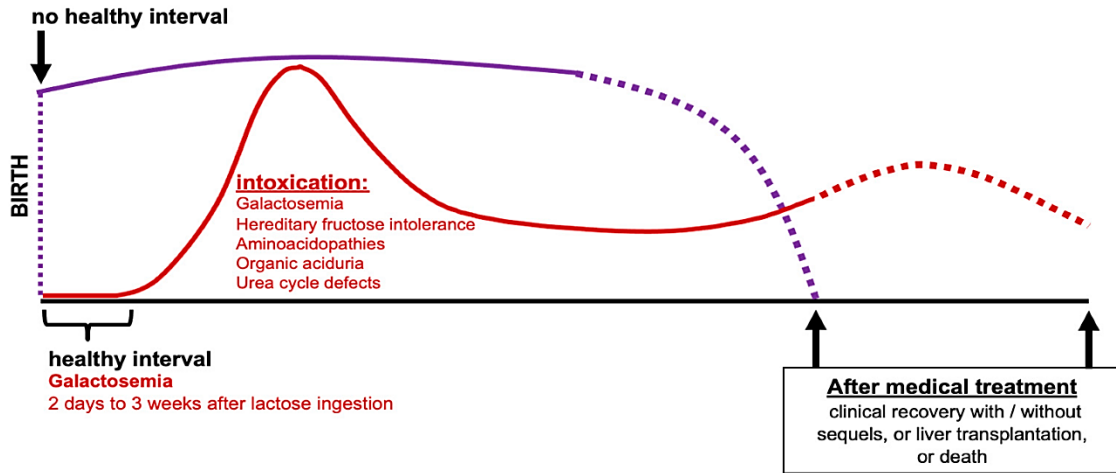


Figura 1: Visão geral do intervalo decorrente entre o nascimento e o início das manifestações clínicas nas DHMs que cursam com intoxicação metabólica em comparação com outras doenças, nomeadamente sépsis e hemocromatose neonatal.

Gráfico gentilmente cedido pelo seu autor. Fonte: (11)

Tabela 2: Principais testes a realizar em algumas DHMs. Fonte: (11–13,15,16)

Patologia	Principais testes e marcadores convencionais	Exemplos de genes a investigar através de painel NGS
Galactosemia	Atividade da enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT) e níveis de galactose-1-fosfato nos eritrócitos	<i>GALT</i>
Tirosinemia tipo 1	Atividade da enzima fumaril acetoacetato hidroxilase (FAH) nos linfócitos, eritrócitos e tecido hepático e níveis urinários de succinilacetona	<i>FAH</i>
Intolerância hereditária à frutose	Atividade da enzima frutose-1-fosfato-aldolase (aldolase B) no fígado, intestino delgado e rim	<i>ALDOB</i>
Defeito do ciclo da ureia	Níveis plasmáticos de aminoácidos específicos (citrulina, amónia e arginina)	<i>SLC25A13</i>
Distúrbios de glicosilação	Análise das isoformas de transferrina plasmática por eletroforese capilar	<i>ATP6AP1, CCDC115, MPI, PMM2</i>
Defeito na cadeia respiratória	Análise da atividade dos complexos I-IV de fosforilação oxidativa em biópsia de músculo esquelético; níveis de lactato, relação lactato/piruvato e beta-hidroxibutirato/acetato	<i>BCS1L</i>
NP-C	Níveis plasmáticos de HDL, LDL e de triglicéridos; coloração filipina em fibroblastos de biópsia de pele	<i>NPC1, NPC2</i>

No que concerne ao tratamento das DHMs, este poderá ser tão simples quanto a aplicação de restrições da dieta do neonato, perante doenças como a galactosemia e a intolerância hereditária à frutose.(16) Contudo, o transplante hepático é, frequentemente, a última opção em pacientes com colestase severa ou quando a gestão conservadora da doença falha.(1) No caso específico da falência hepática aguda associada a estas doenças, há que realizar uma vigilância apertada do recém-nascido, eventualmente com internamento numa unidade de cuidados intensivos.(15)

Após apresentada uma visão geral das DHMs no que diz respeito à sua forma de apresentação, diagnóstico e tratamento, doravante proceder-se-á a uma explicitação mais detalhada das principais entidades patológicas que fazem parte deste grupo.

1. Intoxicações metabólicas

1.a. Galactosemia clássica (tipo 1)

O termo galactosemia encerra em si 3 entidades distintas – clássica, variante clínica e variante bioquímica -, sendo a clássica aquela que se focará.(18) A galactosemia clássica consiste na deficiência da enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT), um erro de metabolismo de hereditariedade autossómica recessiva, cuja mutação se localiza no braço curto do cromossoma 9.(15,19) Apresenta uma prevalência global de 1 em cada 62.000 nascimentos.(19)

A *Figura 2* demonstra a ação da enzima GALT no metabolismo da galactose, após esta ter sido convertida em galactose-1-fosfato por uma quinase.

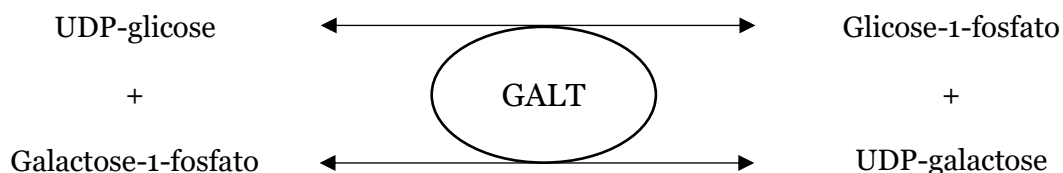


Figura 2: Função da enzima GALT no metabolismo da galactose. Fonte: (18)

Deste modo, o seu principal efeito prático é a incapacidade do recém-nascido digerir a galactose do leite materno (ou leite de fórmula que contenha galactose), resultando na acumulação de galactose, galactose-1-fosfato e galactitol em vários órgãos.(15,18,19) Claro está que esta condição encerra em si consequências severas para

a vida do neonato e que se manifestam logo nas primeiras semanas de vida, nomeadamente problemas de alimentação, ausência de crescimento e desenvolvimento, cataratas, icterícia, hepatomegalia com lesão hepatocelular, hemorragias, sépsis por *E. coli* e, até mesmo, a morte.(18,19)

Abordando de forma muito sucinta a variante clínica de galactosemia, mais comumente caracterizada pelo genótipo *S135L/S135L*, esta pode manifestar-se como doença aguda no período neonatal, nomeadamente através de restrição do crescimento, doença hepática e cataratas. Esta variante pode resultar em complicações muito graves se não tratada adequadamente nos primeiros 10 dias de vida, incluindo lesão hepatocelular com evolução para cirrose e alterações na coagulação.(18,20)

É possível um diagnóstico atempado através dos programas de rastreio do recém-nascido que, se realizado nos primeiros dias de vida, permite a deteção desta patologia mesmo antes ou aquando do início da sintomatologia, mas que, infelizmente, ainda não se encontra contemplado no Programa Nacional de Rastreio Neonatal.(18,19) Este diagnóstico é feito com base na medição do nível de galactose-1-fosfato nos eritrócitos, usualmente, > 10 mg/dL, e da atividade da enzima GALT eritrocitária, fracamente detetável ou indetetável.(15,18,19) Um teste genético permite a confirmação diagnóstica, sendo as mutações *missense* no gene *GALT* as que, normalmente, se encontram associadas a baixos ou indetetáveis níveis de atividade da enzima, conduzindo a sinais e sintomas mais marcados.(21) Apesar de terem sido identificadas mais de 350 mutações, há que ter em mente que a identificação do genótipo para esta patologia nem sempre determina um fenótipo da mesma. É, ainda, possível realizar diagnóstico pré-natal, com recurso à amniocentese ou à biópsia das vilosidades coriônicas.(15) Caso seja realizada uma biópsia hepática, esta demonstrará a existência de esteatose panlobular, bilirrubinostase, proliferação dos ductos biliares, fibrose sinusoidal, periportal e portal, necrose e apoptose dos hepatócitos, tal como se pode objetivar na *Figura 3*.(11,21)

No que concerne à variante clínica da galactosemia, esta pode não ser detetada no rastreio neonatal, devido ao facto dos níveis de hipergalactosemia não serem tão marcados quanto aqueles que são encontrados na forma clássica, daí que a sequenciação genética, tendo como alvo os genótipos já conhecidos, se revista de grande importância na distinção destas duas entidades.(11,20)

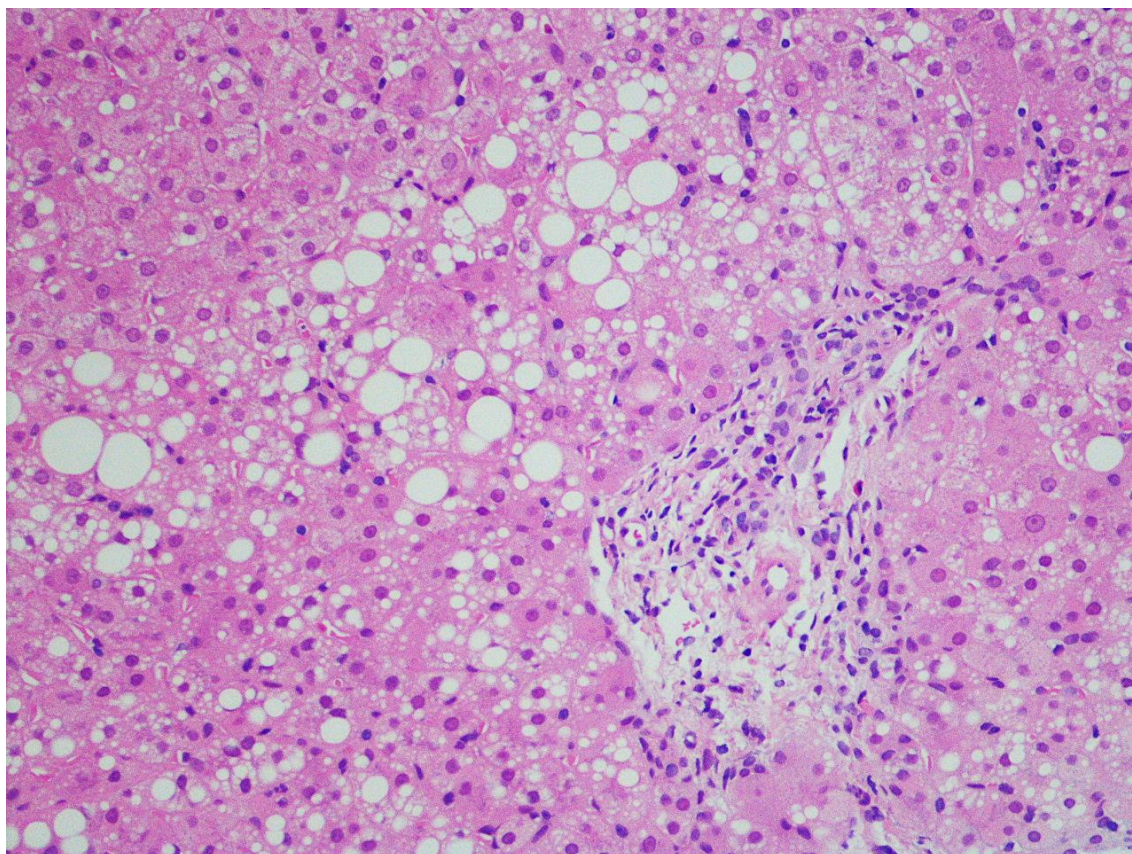


Figura 3: Padrão de esteatose mista, proveniente de biópsia hepática. Coloração de Hematoxilina-Eosina (H&E), sob ampliação 200x. Imagem gentilmente cedida pelo Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.

O tratamento baseia-se, essencialmente, na exclusão de produtos que potenciem a acumulação de galactose, restringindo-se da dieta quaisquer produtos que contenham lactose, optando-se, por exemplo, por fórmulas à base de soja.(18,19) Esta gestão dietética acaba por se revelar de importância inferior após a infância.(18) Quanto à possibilidade de transplante hepático, este não está, geralmente, indicado, podendo ser efetuado caso estejamos perante uma disfunção hepática progressiva ou esteja associado um carcinoma hepatocelular.(21)

Apesar do tratamento, infelizmente, existem complicações a longo prazo que não podem ser prevenidas devido à produção endógena de galactose, nomeadamente, dificuldades de aprendizagem, atrasos no desenvolvimento, anomalias na função motora, disartria e apraxia do discurso.(18,19) De frisar ainda que praticamente todas as mulheres com esta patologia desenvolvem problemas de fertilidade, mais especificamente, hipogonadismo hipergonadotrófico ou insuficiência ovariana prematura.(18) Contudo, na variante clínica, estas complicações crónicas não se manifestam.(20)

Deverá existir um acompanhamento periódico da criança no que concerne à monitorização bioquímica das substâncias tóxicas acumuladas, à avaliação do risco de défice nutricional e de osteoporose, e às complicações de desenvolvimento supracitadas. A prevenção da diminuição da mineralização óssea deve ser feita através da suplementação com cálcio e vitamina D.(18)

1.b. Tirosinemia tipo 1 (hepatorrenal)

A tirosinemia consiste numa patologia autossómica recessiva causada por défices de enzimas envolvidas no metabolismo da tirosina, aminoácido que integra a síntese de catecolaminas, hormonas tiroideias e melanócitos.(15) É o défice de fumaril acetoacetato hidroxilase (FAH), a enzima responsável pela etapa terminal no catabolismo da tirosina, que caracteriza a tirosinemia tipo 1 ou tipo hepatorrenal, cuja prevalência global é de cerca de 1 recém-nascido afetado em cada 100.000 nascimentos.(15,21–23)

A tirosina pode ser obtida diretamente a partir da dieta ou resultar da conversão da fenilalanina dietética pela fenilalanina hidroxilase. Havendo um bloqueio no último passo do metabolismo da tirosina, existirá acumulação de 2 produtos principais – fumarilacetoacetato e succinilacetona -, que serão responsáveis por algumas das consequências observadas nesta patologia.(22)

Habitualmente, a sintomatologia apresentada pode ir desde a agitação, náuseas, vômitos, icterícia, hipoglicemia e acidose metabólica até à restrição de crescimento, hepatomegalia, disfunção tubular renal, diátese hemorrágica e falência hepática aguda.(15) Contudo, é possível realizar o diagnóstico desta entidade numa fase pré-sintomática, através do rastreio neonatal, permitindo a instituição precoce de tratamento e evitando a progressão para falência hepática e a necessidade de transplante.(22)

O teste diagnóstico mais importante e fiável é, sem dúvida, a medição do nível de succinilacetona em gotas de sangue seco em papel-filtro (*dried blood spots*). (24) Apesar deste poder ser acompanhado da medição da tirosina e de outros aminoácidos plasmáticos por espectrometria de massa, sabe-se que a deteção de hipertirosinemia não é um marcador específico desta patologia, podendo estar simplesmente associada a uma tirosinemia transitória benigna.(22,24) Assim sendo, o nível de succinilacetona é considerado um marcador patognomónico da tirosinemia tipo 1, uma vez que só pode ser gerado a partir de substratos que se originam quando a enzima FAH está em falta.(24) Também é possível recorrer a teste genético específico para o gene *FAH*, localizado no

cromossoma 15q23, para o qual já foram identificadas cerca de 100 mutações distintas.(22)

Destacam-se, seguidamente, as principais consequências multissistêmicas, resultantes da toxicidade de metabolitos acumulados:

- falência hepática aguda – pode surgir logo nas primeiras semanas de vida, sendo a coagulopatia um dos seus sinais mais precoces;
- carcinoma hepatocelular – bem ou moderadamente bem diferenciado, estando frequentemente associado a elevados níveis de α -fetoproteína (AFP);
- doença renal – manifestando-se através de acidose tubular renal. A progressão da doença pode complicar com falência renal crónica, glomerulosclerose e nefrocalcinose, associadas a hipertensão arterial e raquitismo hipofosfatémico;
- neuropatia periférica aguda – que se apresenta com episódios de disestesia ou paralisia e que se deve a uma degeneração axonal secundária a desmielinização, sendo mais frequente na ausência de tratamento;
- problemas neuropsicológicos ou comportamentais – apontados por alguns estudos como resultantes da terapêutica com nitisinona. O declínio cognitivo, diminuição do QI, problemas de memória e de processamento e alterações psicomotoras e comportamentais poderão ser alguns dos principais sinais;
- alterações oftalmológicas – principalmente, a nível da córnea, que se manifestam através de depósitos de tirosina cristalizada nas células epiteliais e de erosões dendríticas;
- cardiomiopatia hipertrófica – especialmente reportada já em casos avançados, associada a doença hepática crónica.(21,22)

Caso não seja instituída terapêutica, a maioria dos pacientes morre de falência hepática nos primeiros anos de vida.(24) O tratamento desta condição passa por uma dieta livre dos aminoácidos fenilalanina e tirosina, associada ao herbicida 2-(2-nitro-4-trifluorometilbenzoil)-1,3-ciclohexanediona (nitisinona).(22,24) Este composto é um inibidor eficaz da enzima responsável pela degradação da tirosina numa etapa anterior à atuação da FAH, apresentando maior eficácia face à instituição isolada de dieta e quando iniciado no 1º mês de vida, e, ainda, maior segurança relativamente ao transplante hepático.(24,25) Por isso, está estabelecido que a instituição precoce de terapêutica com

este composto diminui o risco das complicações supracitadas e reduz a necessidade de transplante hepático.(23)

No entanto, alguns estudos reportaram ausência de melhoria no que toca às crises neurológicas e aos défices cognitivos, bem como problemas oftalmológicos e dermatológicos associados ao aumento das concentrações de tirosina causadas pela nitisinona.(23,26) Assim sendo, é importante realçar que ainda não são completamente conhecidas as implicações a longo prazo deste fármaco, pelo que impera a necessidade de uma vigilância apertada que verse as vertentes neurocognitiva, psicossocial, oftalmológica, física e nutricional.(26) A monitorização terapêutica deverá ser feita através da medição dos níveis sanguíneos de tirosina (devem ser $<400 \mu\text{M}$) e da succinilacetona (devem ser inexistentes) e da concentração de nitisinona.(25)

Atualmente, o transplante hepático apenas é uma opção a considerar se estivermos perante malignidade, doença hepática descompensada refratária à nitisinona ou caso a instituição de nitisinona não seja possível.(22,26) Os resultados do transplante hepático são muito positivos, mas existe uma ligeira possibilidade de recorrência, pelo que é recomendada uma estrita vigilância.(21)

1.c. Intolerância hereditária à frutose

A frutosemia hereditária consiste na deficiência de aldolase B (frutose-1-fosfato-aldolase), um dos distúrbios mais importantes no universo do metabolismo da frutose, no qual também se inclui o défice de frutose-1,6-bifosfatase, que se pode manifestar logo no período neonatal.(15,27,28)

Trata-se, igualmente, de uma doença autossómica recessiva, cuja deficiência enzimática abrange não só o fígado, como também o intestino delgado e o rim.(15) Tem uma prevalência estimada de 1 em cada 20.000 nascimentos, sendo uma das principais causas de falência hepática aguda infantil, podendo vir mesmo a culminar em cirrose precoce. Claro está que um diagnóstico atempado e a instituição de terapêutica adequada são os passos fulcrais para o bom curso desta condição.(21)

Os sintomas manifestam-se, normalmente, após o começo da alimentação complementar ou dos leites de fórmula, que conduz à exposição à frutose, sorbitol, sucrose, sucralose e polisorbato.(15,28) Entre estes sintomas, podem estar náuseas, ascite, diaforese, icterícia, dor abdominal, hepatomegalia, atraso no crescimento,

falência renal e hepática. Os parâmetros bioquímicos agrupam-se naquilo a que se pode chamar de descompensação metabólica, com hipermagnesemia, hiperuricemia, hipofosfatemia, acidemia láctica, hiperalaninemia e hipoglicemia. Caso a ingestão de frutose seja considerável, é de esperar o desenvolvimento de letargia, crises convulsivas e hipoglicemia aguda, podendo, inclusive, motivar a progressão para o coma e consequente morte.(28)

O diagnóstico pode ser estabelecido com base na apresentação de clínica compatível e alterações metabólicas após a exposição a alimentos que contenham frutose ou outros compostos associados.(15,28) Pode, igualmente, recorrer-se à deteção de açúcares redutores (glicose, frutose, lactose) na urina, utilizando o teste de Benedict, como teste de rastreio à cabeceira do doente, mas que, infelizmente, não integra o Programa Nacional de Rastreio Neonatal.(29) Também poderá ser realizado um teste genético molecular, que identificará a presença de variantes patogénicas bialélicas no gene *ALDOB*, ou, mais raramente, uma biópsia hepática.(28) Além de documentar a deficiência hepática de frutose-1-fosfato aldolase nos eritrócitos e leucócitos, a biópsia pode demonstrar a presença de hepatite neonatal de células gigantes, esteatose macrovesicular, fibrose portal e/ou periportal, cirrose, reação ductular, bilirrubinostase e “colagenização” sinusoidal.(15,21,28) Dada a alta sensibilidade do teste genético na capacidade de confirmar o diagnóstico, apesar da sua já referida limitação no diagnóstico em fase inicial por demora na obtenção de resultados, a realização de biópsia tem vindo a ser abandonada.(11,28) Perante a necessidade de realização de biópsia hepática, não deve ser olvidado o facto de este procedimento só poder ser feito na ausência de um quadro de insuficiência hepática aguda, pelo risco óbvio de hemorragia subjacente à coagulopatia não-responsiva à vitamina K resultante desta falência.

De salientar, ainda, que o diagnóstico desta patologia jamais deverá ser feito com recurso a uma prova de tolerância à frutose, devido ao seu risco óbvio de poder levar à morte.(28)

No que concerne ao tratamento, a sintomatologia aguda deverá ser gerida a nível hospitalar, com a administração de dextrose IV, terapêutica de suporte para a insuficiência renal e/ou hepática e correção da acidose metabólica. A restrição dietética com eliminação da ingesta de frutose, sorbitol, sucrose e sucralose constitui o pilar fundamental da gestão desta patologia, sendo responsável pelo seu excelente prognóstico.(28) Na *Tabela 3*, apresentam-se algumas especificidades da restrição dietética terapêutica.

Tabela 3: Alimentos e outras substâncias a restringir na frutosemia hereditária. Fonte: (28)

Alimentos e outras substâncias a evitar	
Frutose	Oligossacáridos contendo frutose
Xarope de milho rico em frutose	Mel
Xarope de agave	Açúcar invertido
Melaço	Açúcar de palma ou coco
Alguns xaropes (fármacos)	Enemas
Certas imunoglobulinas e vacinas	Bebidas nutricionais pediátricas
Fiambre, bacon e outras carnes processadas	Cereais açucarados
Pão que contenha frutose, sucrose, açúcar ou sorbitol	Molhos (maionese, mostarda, <i>ketchup</i>) e geleias
Todas as frutas, sumos e determinados legumes	Todas a doçaria que contenha açúcar

A não implementação de medidas restritivas dietéticas pode culminar com falência renal e hepática.(28)

O transplante hepático pode ser equacionado na presença de hipertensão portal, cancro ou atraso do crescimento.(21)

A vigilância periódica é recomendada, especialmente nos casos em que a adesão ou a eficácia da dieta não é absoluta, devendo ser avaliadas as funções hepática e renal, assim como o crescimento. Adicionalmente, uma vez que a ingesta de frutas e legumes se encontra limitada devido às restrições impostas, há que garantir o aporte adequado de micronutrientes, nomeadamente de vitaminas lipossolúveis, através da toma de um multivitamínico sem açúcares.(28)

2. Distúrbios do ciclo da ureia

Os distúrbios do ciclo da ureia constituem erros inatos na síntese de arginina e na desintoxicação de amónia devido a defeitos que afetam as enzimas catalisadoras do ciclo de Krebs-Henseleit. Estima-se que a prevalência esteja entre 1:8.000 e 1:44.000 nascimentos. Estes distúrbios podem resultar em morte ou em deficiência neurológica severa nos sobreviventes, por acumulação excessiva de amónia e glutamato, o que se traduz num mau prognóstico, mesmo com a existência de terapias efetivas e do recurso ao transplante hepático.(30,31)

O ciclo da ureia engloba 5 enzimas catalisadoras (carbamoilfosfato-sintetase I (CPS₁), ornitina transcarbamilase (OTC), ácido argininosuccínico sintetase (ASS₁), ácido argininosuccínico liase (ASL) e arginase (ARG₁)), um cofator enzimático (N-acetil

glutamato sintetase (NAGS)) e 2 transportadores de aminoácidos (ornitina translocase (ORNT1) e citrina (transportador de aspartato/glutamato)).(30,32) A *Figura 4* apresenta o ciclo da ureia de forma esquemática, permitindo visualizar as relações entre as várias enzimas e transportadores.

Deficiências completas das enzimas CPS1, OCT, ASS1 e ASL ou do cofator NAGS cursam com acumulação de amônia e de outros precursores durante os primeiros dias de vida, visto não existir um sistema secundário de *clearance* desta via.(32) Como tal, é frequente o recém-nascido entrar em coma hiperamonémico alguns dias após o nascimento, culminando com morte em 50% dos casos. Já as deficiências parciais podem apresentar uma sintomatologia variada, mais subtil, que pode surgir mais tardiamente e que pode ser despoletada por fatores como uma cirurgia ou doença, havendo sempre um risco aumentado de morte prematura.(30,32) De seguida, na *Tabela 4*, distinguem-se os principais sintomas inerentes às deficiências parciais e completas.

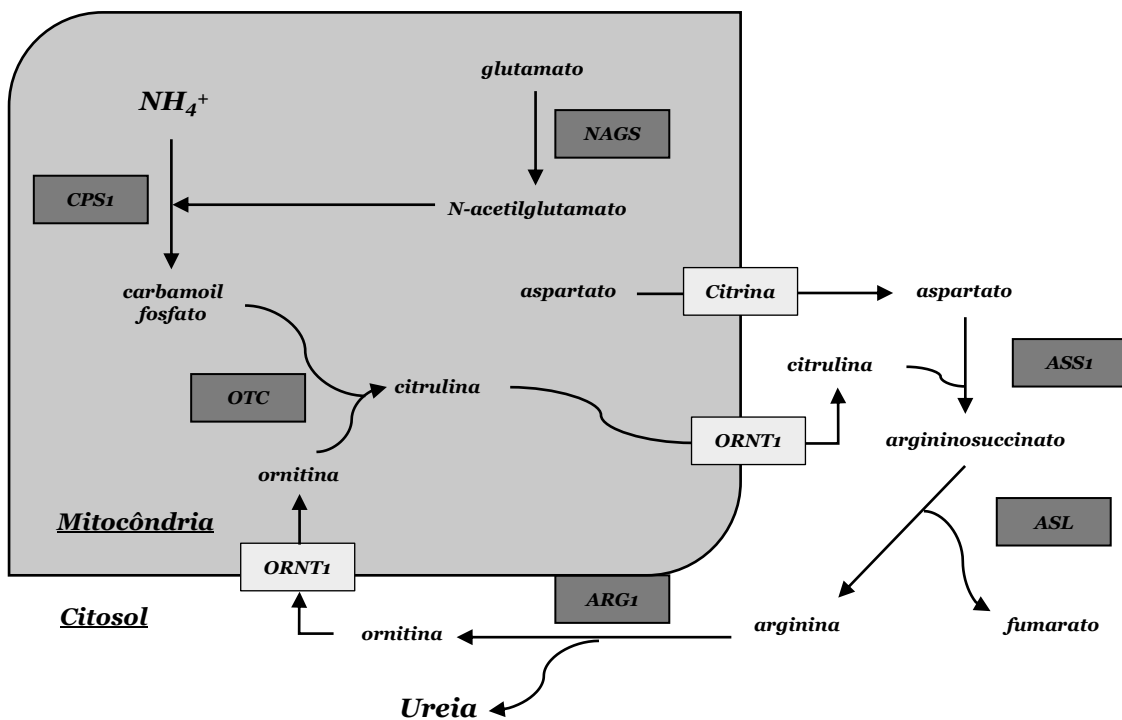


Figura 4: Ciclo da ureia. Fontes: (32,33)

Nas caixas pequenas, a mais escura representam-se as enzimas ou cofatores enzimáticos e a mais clara os transportadores de membrana.

Tabela 4: Principal sintomatologia encontrada nos défices enzimáticos completos e parciais do ciclo da ureia. Fontes: (30,32)

Sintomas por deficiências completas	Sintomas por deficiências parciais
Letargia e coma	Padrão encefalopático de ondas lentas no eletroencefalograma
Crises convulsivas	Atrofia cerebral inespecífica na ressonância magnética
Hiperventilação secundária com consequente alcalose respiratória (efeito da hiperamonemia no tronco cerebral)	Episódios hiperamonémicos com perda de apetite, vômitos, letargia e alterações comportamentais
Hipoventilação e paragem respiratória	Distúrbios do sono, alucinações e psicose
Postura anormal, encefalopatia e edema cerebral (com aumento da glutamina)	

Sabe-se que as crises hiperamonémicas são, habitualmente, resultantes da ocorrência de eventos catabólicos, da sobrecarga proteica ou da toma de certos fármacos.(30) A apresentação aguda é sempre muito mais exuberante do que a crónica, sendo que, nos recém-nascidos, inclui perda de termorregulação com instabilidade térmica, sofrimento respiratório e sintomatologia sugestiva de sépsis.(30,32) É importante excluir imediatamente qualquer um dos distúrbios do ciclo da ureia sempre que estejamos perante um neonato com sintomas neurológicos. Destaca-se, ainda, que a falência hepática aguda pode também ser um dos sinais de apresentação, tendo sido reportada em pacientes com OTCD, ASS1D e com défice de ORNT1.(30)

No que ao diagnóstico bioquímico diz respeito, a concentração de amónia plasmática é, sem dúvida, o primeiro marcador laboratorial, apesar de inespecífico, a dar-nos conta de uma inadequada desintoxicação do nitrogénio.(30,32) A sua normal concentração num recém-nascido sintomático exclui, de imediato, a possibilidade de estarmos perante uma patologia deste grupo de doenças.(30) Uma forte suspeita é estabelecida quando esta concentração é $\geq 150 \mu\text{mol/L}$, associada a um hiato aniónico e a uma glicemia normais.(32) De destacar que a deteção de alcalose respiratória, consequência da hiperventilação, deve motivar a medição dos níveis de amónia, pois esta está presente em cerca de 50% dos recém-nascidos com apresentação aguda.(30) Outros parâmetros laboratoriais são relevantes para a distinção entre os diversos tipos de patologia do ciclo da ureia, baseando-se na análise de aminoácidos plasmáticos (citrulina, arginina e ornitina) ou no perfil de aminoácidos urinários.(32) Assim sendo, é possível a presença de acidose e a elevação das enzimas hepáticas (AST e ALT), sem alterações na glicemia e sem aumento dos níveis de ácido láctico e de ácido úrico.(30)

Quanto à análise genética, este é o método primário de confirmação das patologias específicas do ciclo de ureia.(32) Todas elas apresentam hereditariedade autossómica recessiva, à exceção da OTCD, que está associada ao cromossoma X.(30,32)

Podem ser utilizados vários tipos de teste – único gene, painel multigénico ou sequenciação genómica ou exómica -, adequando-se a sua utilização ao nível de suspeita sobre a patologia.(32) A deteção das mutações tem uma sensibilidade de cerca de 80%, sendo que as mais frequentemente encontradas são as *missense*.(30) Como último recurso diagnóstico, ainda é possível realizar uma avaliação da atividade enzimática hepática (para os défices de CSP1, NAGS e OTC), eritrocitária (défice de ARG1), na mucosa intestinal (défices de CPS1 e OTC) e em fibroblastos (défices de ASS1, ASL e ORNT1).(30,32) Assim sendo, é de crucial importância integrar os dados clínicos, laboratoriais e genéticos, sobretudo perante quadros mais complexos, quando o diagnóstico se revela mais difícil, no seio da equipa multidisciplinar (clínico, geneticista, bioinformático) que deve acompanhar o doente.

O diagnóstico pré-natal pode também ser realizado, a partir de amostras das vilosidades coriônicas, de células do líquido amniótico ou de culturas do mesmo.(30)

As linhas gerais do tratamento devem ser divididas em:

Fase aguda:

- restabelecimento célere das concentrações plasmáticas de amónia em níveis fisiológicos - com recurso a ECMO ou hemodiálise intermitente arteriovenosa ou venovenosa, especialmente se valores de amónia >300 µmol/L e com descontinuação se <150 µmol/L.(21,32) Há que ter em atenção a possibilidade de *rebound* da hiperamonemia, que pode requerer retorno ao tratamento;
- intervenções farmacológicas que propulsionem a ação de uma via alternativa de eliminação do nitrogénio – através da toma de *scavengers* (fenilacetato de sódio, fenilbutirato de sódio e benzoato de sódio), de intermediários do ciclo da ureia (arginina e citrulina) e de moléculas análogas do carbamilglutamato em deficiências enzimáticas específicas;
- tratamento do estado catabólico com aporte calórico adequado – paragem da ingesta proteica (e indiretamente de nitrogénio) não superior a 24 horas, que deverá ser compensada através da ingesta de gorduras, glicose e aminoácidos essenciais.(32) Deverão ser fornecidos lípidos IV, fluidos contendo carboidratos e uma infusão contínua de baixa dose de insulina, e, após reintrodução proteica, aminoácidos essenciais, perfazendo uma ingesta calórica de cerca de 120% das necessidades baseadas na idade;

- redução do risco de dano neurológico – garantir a estabilização fisiológica através da administração de fluidos IV (dextrose a 10%) e uso de vasopressores se necessário, ponderando-se a monitorização contínua com eletroencefalograma.(30,32)

Fase crónica:

- dieta pobre em proteína – para minimizar a carga de nitrogénio a ser metabolizada através do ciclo da ureia. Caso a ingesta proteica seja demasiado baixa, deverá ser instituída uma suplementação com aminoácidos essenciais. Pode, ainda, ser necessário recorrer a sonda nasogástrica ou gastrostomia para assegurar o aporte calórico suficiente para evitar um estado catabólico e, consequentemente, a hiperamonemia;
- suplementação mineral e vitamínica;
- fármacos que promovam a excreção de nitrogénio;
- transplante hepático – oferecido no caso de intensa severidade da condição, amónia >300 µmol/L e resistência à terapêutica médica. Permite evitar a progressão do dano neurológico e a ocorrência de crises hiperamonémicas. Qualquer crise metabólica deve ser tratada antes do transplante e os valores de amónia deverão ser mantidos em níveis inferiores a 80 µmol/L. Deve ser realizado, se possível, com mais de 3 meses de idade e/ou até ser atingido um peso de 5kg;
- monitorização a longo prazo – baseada em dados antropométricos, testes bioquímicos (perfil plasmático de aminoácidos, vitaminas, minerais, níveis plasmáticos de *scavengers* administrados), revisão da dieta e dos fármacos, registo de intercorrências.(21,30)

Antes do tratamento da crise de hiperamonémia, na decisão terapêutica, têm peso o provável prognóstico e a repercussão esperada a nível do desenvolvimento neurológico. Assim sendo, são fatores de péssimo prognóstico a considerar o coma hiperamonémico com duração superior a 3 dias, a pressão intracraniana aumentada e o pico na concentração de amónia >1000 µmol/L. Além disso, de destacar que a administração de bólus repetidos ou de altas doses de *scavengers* pode saturar as suas vias de conversão, levando a um aumento do risco de acumulação destes produtos, hipocalémia e acidose metabólica.(30)

Seguem-se duas tabelas, uma que pretende apresentar as principais particularidades das patologias específicas do ciclo da ureia com maior implicação

hepática (Tabela 5), e outra que pretende detalhar os respetivos achados no diagnóstico bioquímico (Tabela 6).

Tabela 5: Aspectos particulares dos distúrbios do ciclo da ureia com implicação hepática. Fontes: (32,34-38)

Distúrbio metabólico	Particularidades	Gene alterado
Défice de ornitina translocase (ORNT1D)	Também designada de Síndrome hiperornitinemias-hiperamoniemia-homocitrulinúria, em 8% dos casos, pode ter início neonatal, cuja sintomatologia típica de uma hiperamoniemia aguda surge 24 a 48h após o início da amamentação. Caso tenha início mais tardio, pode cursar com défices neurocognitivos crónicos (como a espasticidade progressiva), encefalopatia secundária a uma crise hiperamoniémica ou disfunção hepática crónica.(34)	<i>SLC25A15</i>
Défice de ornitina transcarbamilase (OTCD)	A mais prevalente das 8 condições, que, no sexo masculino, se expressa como doença severa neonatal na 1ª semana de vida.(32,35) O recém-nascido encontra-se severamente doente aquando do diagnóstico e, apesar da instituição de terapia adequada, as recorrências são frequentes e a qualidade de vida só pode ser melhorada com transplante hepático. As complicações neuropsicológicas são inevitáveis mesmo que a doença seja menos severa.(35) Já o sexo feminino pode ser apenas portador da mutação, sem nunca apresentar sintomas.(32)	<i>OTC</i>
Défice de argininosuccinato liase (ASLD)	Este défice enzimático compromete o 4º passo do ciclo da ureia e, por isso, a produção de arginina e fumarato, podendo cursar com hiperamoniemia rapidamente estabelecida no período neonatal ou pode ter início mais tardio. Pode levar ao desenvolvimento de hepatomegalia crónica e aumento das aminotransferases, com possibilidade de evolução para cirrose, hipertensão sistémica e fragilidade capilar (<i>tricornexis nodosa</i>), consequências em nada relacionadas com a severidade e duração das crises de hiperamoniemia.(32,36) A ausência de tratamento é passível de conduzir a coma e morte.(36)	<i>ASL</i>
Défice de argininosuccinato sintetase (ASS1D)	Também designada de Citrulinemia tipo I, apresenta 4 formas – clássica (aguda neonatal), não clássica (mais tardia e leve), uma com início na gravidez ou no pós-parto, e assintomática/sem hiperamoniemia. A medição da atividade residual da enzima ASS1 ajuda a prever o fenótipo da doença. Sem intervenção precoce, a hiperamoniemia e a acumulação de produtos tóxicos levam ao aumento da pressão intracraniana e do tónus neuromuscular, com espasticidade, convulsões, perda de consciência e morte. Mesmo com tratamento adequado, a falência hepática a longo prazo pode ser uma realidade.(38)	<i>ASS1</i>
Défice de citrina	Pode manifestar-se sob 3 formas - colestase intra-hepática neonatal causada por deficiência de citrina (NICCD) nos recém-nascidos, falência no crescimento e dislipidemia em crianças mais velhas, e hiperamoniemia recorrente com sintomas neuropsiquiátricos nos adultos (Citrulinemia tipo II). Na NICCD, o recém-nascido, normalmente, apresenta baixo peso à nascença com restrição do crescimento, hepatomegalia, fígado gordo difuso e disfunção hepática, hipoproteinemia, anemia hemolítica e hipoglicemia. Esta forma da patologia não é grave e resolve após um	<i>SLC25A13</i>

	ano de idade, com dieta específica (fórmula enriquecida com triglicéridos de cadeia média e sem lactose, com suplementação de vitaminas lipossolúveis).(37)	
--	---	--

Tabela 6: Perfis bioquímicos específicos dos distúrbios do ciclo da ureia com implicação hepática. Fontes: (30–32,34–38)

Distúrbio metabólico	Parâmetros bioquímicos			
	Citrulina plasmática	Ácido orótico urinário	Ornitina plasmática	Outros
Défice de ornitina translocase	Diminuição	Aumento	Aumento	Aumento da homocitrulinemia
Défice de ornitina transcarbamilase			Normal	Diminuição da arginina
Défice de argininossuccinato liase	Aumento			Aumento do ácido argininossuccínico (ASA) no plasma e na urina
Défice de argininossuccinato sintetase				Ausência de ASA e aumento da lisina, glutamina e alanina
Défice de citrina				Arginina normal/aumentada em combinação com níveis aumentados de metionina, tirosina e treonina

3. Anomalias do armazenamento lisossomal

Neste grupo incluem-se distúrbios herdados do metabolismo causados, maioritariamente, por deficiências enzimáticas lisossomais, com consequente acumulação de substrato não degradado. Mucopolissacaridoses, mucopolipidoses, oligossacaridoses, Doença de Pompe (acumulação de glicogénio), Doença de Gaucher (a mais comum, consistindo na acumulação de glicosilceramida), Doença de Fabry (acumulação de globotriaosilceramida), doenças de Niemann-Pick e lipofuscinoses ceroides neuronais integram este amplo conjunto de patologias.(39,40)

Estas alterações no processo de armazenamento levam a um espectro alargado de manifestações clínicas, sempre dependentes do substrato que se acumula e do local em que esta acumulação ocorre.(40) Pacientes com este tipo de doenças, habitualmente, apresentam-se normais à nascença, surgindo sintomatologia durante o 1º ano de vida, apesar de também ser possível a identificação de achados patológicos no feto.(39)

Deste grupo de doenças, aquelas que mais frequentemente se têm revelado associadas à colestase neonatal são a Doença de Niemann-Pick Tipo C e a deficiência de lipase ácida lisossomal (Doença de Wolman). De notar que a NP-C e a deficiência de esfingomielinase ácida (doenças de Niemann-Pick tipo A e tipo B) diferem na sua patogénese e são distúrbios metabólicos completamente diferentes, apesar de poderem partilhar algumas características clínicas.(40,41)

3.a. Doença de Niemann-Pick Tipo C

A doença de Niemann-Pick tipo C (NP-C) é o distúrbio de armazenamento lisossomal mais frequentemente reportado em pacientes com colestase neonatal, caracterizando-se por uma alteração no tráfego de colesterol lisossomal, que leva à acumulação de colesterol não esterificado no sistema lisossomal e, conseqüentemente, em tecidos como o cérebro, fígado e baço.(14,42,43) Além desta acumulação tecidual, as respostas homeostáticas mediadas pelo colesterol LDL ficam comprometidas.(43) Trata-se de uma doença de hereditariedade autossómica recessiva e apresenta uma incidência estimada de 1 em cada 100.000 nascimentos.(42,43) Assim sendo, o gene que se encontra alterado é *NPC1*, em 95% dos casos, ou *NPC2*, nos restantes 5%, genes estes responsáveis pela codificação de proteínas envolvidas na saída do colesterol dos lisossomas para outros organelos celulares e membranas.(42,44)

A apresentação clínica é bastante variável e é contínua, podendo estabelecer-se logo no período neonatal, na infância precoce (2 meses-2 anos) ou tardia (2-6 anos), no período juvenil (6-15 anos – forma clássica), ou surgir ainda mais tarde, já na vida adulta (16-70 anos).(43) Os sintomas que mais precocemente podem surgir são a colestase neonatal e hepatoesplenomegalia ou esplenomegalia isolada.(42-44) A colestase neonatal está relacionada com a inibição da autofagia por disfunção lisossomal e, habitualmente, regride espontaneamente nos primeiros 2 a 4 meses.(42,43) Deste modo, ainda na vida intrauterina, a objetivação de esplenomegalia, com ou sem hepatomegalia, hidrúpsia fetal ou ascite fetal inexplicada devem levar à suspeita de possível diagnóstico de NP-C.(14,43) Os seus sintomas podem ser, maioritariamente, divididos em 3 grupos, podendo surgir em diferentes fases do ciclo de vida:

- viscerais – hepatoesplenomegália, ascite, colestase, falência hepática, infiltração pulmonar;

- neurológicos – atrasos no desenvolvimento cognitivo e motor, convulsões, espasticidade, cataplexia, sinais cerebelares (ataxia, distonia, disfagia e dismetria), alterações do sono, paralisia supranuclear do olhar vertical, surdez;
- psiquiátricos – psicose (semelhante à apresentada na esquizofrenia), perturbação de défice de atenção e hiperatividade, catatonia, alucinações visuais e auditivas, depressão, perturbação bipolar.(42–44)

A neurodegeneração observada durante o curso da doença resulta da acumulação de colesterol e glicoesfingolípido no tecido cerebral, levando à formação de tranças neurofibrilares, à distrofia neuroaxonal e à neuroinflamação.(14,43,44) Afeta particularmente as células de Purkinje do cerebelo e estabelece-se no início da infância ou na adultícia jovem, sendo, habitualmente, antecedida de sintomatologia sistémica.(14,43,44)

É difícil diagnosticar esta condição, especialmente quando os sintomas neurológicos que já possam existir não se fizeram acompanhar de organomegalias prévias ou em casos em que só existe sintomatologia psiquiátrica.(42,43) O teste genético molecular através da sequenciação dos genes associados é o *gold-standard*.(42,43) No entanto, perante identificação de variantes de significado desconhecido, é possível confirmar se tais variantes serão passíveis de causar doença através da medição dos níveis plasmáticos de oxisteróis e de ácidos biliares.(43) Determinados biomarcadores plasmáticos, como a atividade da enzima quitotriosidase e a concentração de oxisteróis, podem ajudar a aumentar a suspeita diagnóstica, mas não são suficientemente sensíveis ou específicos para fazerem o diagnóstico *per se*, uma vez que podem ser encontrados noutras esfingolipidoses.(14,42,44) Adicionalmente, para descartar o diagnóstico de NPC, pode ser utilizada a coloração filipina de fibroblastos obtidos a partir de uma biópsia de pele.(43)

Pode revelar-se necessário excluir outras lipidoses lisossomais, recorrendo-se à medição de atividade enzimática de proteínas como a β -glucosidase ácida e a esfingomielinase ácida para descartar a doença de Gaucher e a deficiência de esfingomielinase ácida, respetivamente.(42)

Apesar de não existir um tratamento curativo, a melhoria da qualidade de vida é possível graças ao diagnóstico atempado, à instituição de terapêutica sintomática adequada e à toma de *Miglustat* (N-butildeoxinojirimicina) para controlo dos sintomas neurológicos.(14,44) O *Miglustat* consiste numa pequena molécula de iminoaçúcar que

atua como uma chaperona e como inibidor competitivo da enzima glicosilceramida sintase, responsável pela catalisação do primeiro passo na síntese de glicosfingolípidos.(14,44) Uma vez inibida esta enzima, existe uma redução da acumulação neurotóxica de gangliósidos, permitindo estabilizar e retardar a progressão das manifestações neurológicas.(44) Sabe-se que, apesar de poder existir um tempo de latência até serem objetiváveis os benefícios clínicos, este fármaco permite aumentar a esperança de vida destes pacientes.(43,44) Este fármaco pode ser utilizado em pacientes com idade inferior a 4 anos, desde que apresentem diagnóstico confirmado e sintomatologia neurológica.(44)

Outras terapêuticas têm estado em desenvolvimento ou esperam aprovação, como é o caso do *Arimoclomol*. Este fármaco estimula a produção de uma chaperona, a HSP70, que ajuda a dobrar as proteínas na sua forma conformacional funcional, proteínas essas que se encontram normalmente afetadas pela mutação *missense* do gene *NPC1*, retardando a evolução da doença.(43)

Há que manter uma monitorização frequente da função neurológica, bem como do impacto da terapêutica na qualidade de vida. Contudo, infelizmente, todos os pacientes acabam por morrer prematuramente, entre os 10 e os 25 anos de idade, sendo que, raramente, alguns podem chegar aos 60 ou 70 anos. A principal causa de morte é a broncopneumonia secundária à aspiração resultante da disfagia progressiva. A deterioração do paciente será tanto maior quanto mais cedo se iniciarem alterações neurológicas.(44)

3.b. Doença de Wolman

Consiste na manifestação precoce da deficiência de lipase ácida lisossomal, uma enzima essencial para o metabolismo lipídico intracelular, responsável pela regulação da hidrólise intra-lisossomal dos ésteres de colesterol e dos triglicéridos, obtidos a partir das LDLs, e produção resultante de ácidos gordos e colesterol livres.(45,46) É uma patologia de transmissão autossómica recessiva, cuja incidência é desconhecida, mas que se estima oscilar entre 1:40.000 e 1:350.000.(47)

Na *Figura 5*, encontra-se esquematizado o mecanismo fisiológico de regulação da síntese de colesterol livre. Claro está que a ausência de síntese deste composto levará a um aumento da atividade da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, para geração de colesterol intracelular, e a um incremento dos recetores de LDL para

endocitose do colesterol.(45) Por outro lado, ocorre diminuição da ativação dos recetores X hepáticos, com redução do fluxo de apolipoproteína A1 e da produção de colesterol HDL.(45,47)

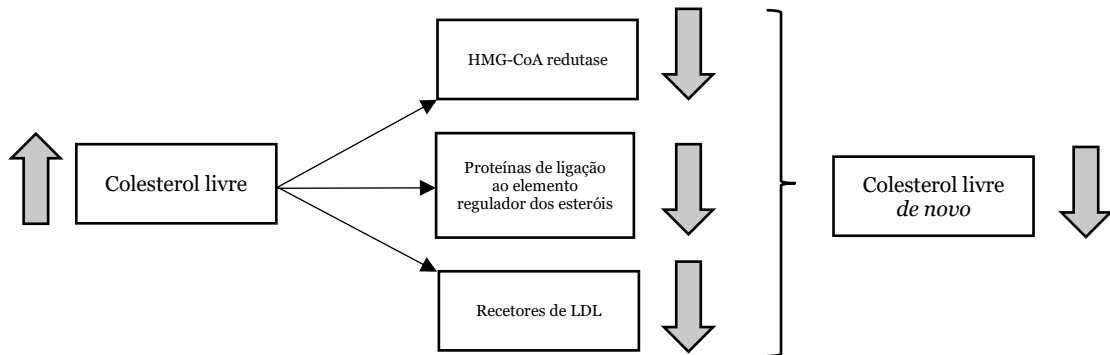


Figura 5: Mecanismo fisiológico de regulação da síntese de colesterol livre. Fontes: (45,47,48)

Assim sendo, aquilo que se observa é a acumulação de ésteres de colesterol e triglicéridos nos lisossomas de vários sistemas e órgãos, nomeadamente, fígado, vasos sanguíneos, baço, glândulas adrenais, sistema hematopoiético, gânglios linfáticos e trato gastrointestinal, e diminuição de colesterol livre e ácidos gordos livres.(45–48)

A doença de Wolman, deficiência de lipase ácida lisossomal de início precoce, apresenta-se nas primeiras semanas de vida, com bastante gravidade.(46) Manifesta-se através de má-absorção com esteatorreia, diarreia crónica e vômitos, desnutrição, atraso no crescimento, hepatoesplenomegália, anemia rapidamente progressiva e disfunção hepática grave com fibrose e colestase.(45–48) Muitos dos pacientes exibem um achado patognomónico desta patologia, a calcificação bilateral das glândulas suprarrenais, que culmina com insuficiência adrenal primária, falência multiorgânica e morte antes do 1º ano de vida.(45–47)

O diagnóstico é realizado com base na apresentação clínica típica conjuntamente com alterações laboratoriais, como o aumento das enzimas hepáticas ALT e AST, aumento da GGT, dislipidemia (níveis aumentados de triglicéridos, de colesterol total e de LDL, e níveis reduzidos de HDL) e hiperbilirrubinemia.(46–48) É possível confirmar o diagnóstico através da identificação de variantes patogénicas nos 2 alelos do gene *LIPA*, por sequenciação direta do gene ou com recurso a painel multigénico, ou por medição da atividade enzimática em leucócitos do sangue periférico, fibroblastos ou em gotas de sangue em papel-filtro.(48) A biópsia hepática não é uma ferramenta de diagnóstico de 1ª linha, mas nela podemos encontrar cristais de éster de colesterol no interior dos hepatócitos, células de *Kupffer* e macrófagos, esteatose microvascular fibrose e cirrose progressivas.(46,47)

Exames de imagem podem complementar a documentação da patologia e o seu diagnóstico: a TC abdominal permite visualizar a calcificação das suprarrenais, a hepatoesplenomegália e linfadenopatias; a ecografia abdominal constata a distorção da arquitetura da parede intestinal, por infiltração da lâmina própria do intestino delgado por parte de macrófagos vacuolados.(46,47)

No que concerne ao tratamento, a terapia de substituição enzimática com *Sebelipase Alfa*, uma lipase ácida lisossomal recombinante, pode garantir a sobrevivência dos pacientes afetados, apresentando segurança e eficácia na regularização dos parâmetros bioquímicos e na resolução sintomática e das organomegalias.(46–48) Sabe-se, ainda, que o transplante de células estaminais hematopoiéticas pode corrigir o déficit enzimático, para prevenção de complicações cardiovasculares a longo prazo e para evitar a recorrência da doença num paciente que tenha que ser sujeito a um transplante hepático por falência e cirrose hepáticas progressivas.(47,48)

É imperativo garantir a nutrição adequada, eventualmente recorrendo à forma parenteral, e assegurar a reposição corticosteroide e mineralocorticoide se insuficiência adrenal. Impõe-se uma vigilância apertada dos parâmetros bioquímicos (perfil lipídico, contagem plaquetária e enzimas hepáticas), do volume hepático, do crescimento e do estado nutricional, aliada ao rastreio do carcinoma hepatocelular.(48)

4. Anomalias mitocondriais

Os distúrbios mitocondriais primários são um grupo de patologias bastante heterogêneo e com uma clínica variável, podendo afetar qualquer sistema do organismo, sendo frequentemente denominadas de síndrome do distúrbio multiorgânico mitocondrial. A maioria destas patologias apresenta hereditariedade autossômica recessiva, apesar desta também poder ser materna (ligada ao DNA mitocondrial), autossômica dominante ou ligada ao cromossoma X.(49,50)

Contextualizando fisiologicamente, sabe-se que as mitocôndrias são organelos celulares produtores de energia e que contêm o seu próprio material genético, sob a forma de DNA mitocondrial, que inclui, aproximadamente, 16.500 pares de bases na sua constituição, organizados em 37 genes. Contudo, existem genes constituintes do DNA nuclear responsáveis pela manutenção da biogênese mitocondrial, que garantem a replicação, reparo e síntese adequados do DNA mitocondrial, que se poderão modificar

aquando de exigências energéticas superiores e se existir stress patológico. (49,50) Deste modo, as alterações genéticas podem motivar, além de várias anomalias celulares, como disfunção na homeostase do cálcio, excesso de produção de espécies reativas de oxigênio e apoptose desregulada, a disfunção das mitocôndrias, que passam a ser incapazes de gerar energia suficiente para suprir as necessidades dos vários órgãos (sistema nervoso, músculos cardíaco e esquelético, rins, fígado e sistema endócrino), com consequências importantes para o organismo.(51)

As anomalias mitocondriais podem ser divididas em várias categorias:

- **defeitos primários do metabolismo energético** – associados a defeitos no metabolismo do piruvato, essencial para a produção de energia a partir da glicose através da via glicolítica. Categorizam-se em defeitos no complexo piruvato desidrogenase e em deficiência na enzima piruvato carboxilase, apresentando-se, frequentemente, com acidose láctica, que pode ser fatal;
- **defeitos na cadeia respiratória** – relacionados com alterações nos complexos (I a V) constituintes da cadeia respiratória localizados na membrana interna mitocondrial, fulcrais na produção de adenosina trifosfato (ATP). A sintomatologia apresentada está dependente do complexo deficiente;
- **defeitos do DNA mitocondrial** – deleções em larga escala neste DNA circular poderão resultar, principalmente, em 3 grandes síndromes - Síndrome de Pearson, Síndrome de Kearns-Sayre e oftalmoplegia externa progressiva. Contudo, podem ocorrer mutações *missense* de genes polipeptídeos do DNA mitocondrial ou em genes de RNA, que culminam, habitualmente, em patologias com características degenerativas neuromusculares;
- **defeitos no DNA nuclear** - associados a alterações na manutenção, replicação e síntese do DNA mitocondrial devidas a anomalias no DNA nuclear. Geram-se, assim, síndromes de depleção do DNA mitocondrial, que têm nas mutações do DNA nuclear a sua etiologia. Esta categoria inclui patologias com maior expressão hepática, como a síndrome de depleção mitocondrial hepatocerebral relacionada com o gene *DGUOK* ou a Síndrome de Alpers-Huttenlocher;
- **distúrbios secundários com envolvimento mitocondrial** – relacionados com deficiências enzimáticas, enzimas essas não codificadas por DNA mitocondrial e não diretamente envolvidas na fosforilação oxidativa. Deste

modo, defeitos em enzimas associadas ao ciclo da ureia, ao metabolismo dos corpos cetônicos, à síntese de heme e ao catabolismo dos ácidos gordos podem levar à disrupção da função mitocondrial.(49,52,53)

As hepatopatias mitocondriais são os distúrbios mitocondriais que, com mais frequência, podem levar ao surgimento de colestase neonatal. O envolvimento hepático varia no que toca à sua apresentação clínica, bem como à sua idade de início. (50) Assim sendo, sintomas como a restrição de crescimento fetal, acidose láctica pós-natal, hipoglicemia, coagulopatia e colestase, em combinação com sintomas neurológicos ou tubulopatia renal, devem alertar para a suspeita de estarmos perante uma hepatopatia mitocondrial. Também é comum existir aumento plasmático das aminotransferases e da bilirrubina conjugada, e a hepatoesplenomegália poderá surgir em casos mais graves. Características da histologia hepática como a depleção de glicogénio nos hepatócitos e a acumulação microvascular de lípidos podem ser comumente encontradas.(52)

O diagnóstico poderá envolver estudo bioquímico, biópsias hepáticas ou musculares, permitindo analisar e quantificar a atividade das enzimas da cadeia respiratória, bem como o estudo genético confirmatório, através de análise do exoma completo do DNA nuclear e mitocondrial ou de painel genético com genes selecionados.(50)

Muito frequentemente, o tratamento é de suporte e sintomático, garantindo um aporte nutricional adequado com aumento das calorias ingeridas.(50,52,53) A ingestão de fórmulas enriquecidas com triglicéridos de cadeia média, a prevenção do jejum e da hipoglicemia e uma dieta pobre em carboidratos, para diminuir o risco de acidose láctica, são estratégias-chave no período neonatal.(52,53) Pode recorrer-se à suplementação com Coenzima Q e vitaminas do complexo B, cuja eficácia se tem revelado promissora.(50) Relativamente ao transplante hepático, apesar deste ser a única opção terapêutica para a falência hepática associada aos síndromes hepatocerebrais de depleção mitocondrial, reveste-se de uma grande controvérsia, devido ao envolvimento multiorgânico, que não impede a progressão da disfunção neurológica, da cardiomiopatia e da hipertensão pulmonar, que acabam por constituir as principais causas de morte nestes pacientes.(21,50,51,53) Assim sendo, perante as hepatopatias mitocondriais, é recomendada a realização de transplante hepático se apenas se estiver perante envolvimento hepático primário, sem afetação extra-hepática.(21)

De seguida, são explicitadas, em maior pormenor, os distúrbios mitocondriais com maior implicação hepática.

4.a. Síndrome de Pearson

A Síndrome de Pearson representa a manifestação hepática mais comum cuja causa reside na deleção do DNA mitocondrial.(52)

Também conhecida por Síndrome medula-pâncreas de Pearson, apresenta-se no período neonatal com anemia macrocítica refratária, neutropenia e trombocitopenia de grau variável, vacuolização de células precursoras mielóides e eritróides e sideroblastos em anel na medula.(50,52) Em alguns casos, pode mesmo ocorrer hidrósia fetal.(52) Devido à ocorrência de insuficiência pancreática exócrina, desenvolve-se má absorção das gorduras e diarreia.(49,50,52) Quanto às manifestações hepáticas, é frequente existir colestase com aumento das enzimas hepáticas, hepatomegalia, esteatose e cirrose, que poderão culminar em falência hepática progressiva e morte na infância.(50,52) Outros sintomas associados incluem disfunção tubular renal (Síndrome de Fanconi), lesões dermatológicas, diabetes mellitus, fraqueza muscular proximal e retinopatia.(52)

Existem alguns marcadores diagnósticos úteis, nomeadamente o aumento da excreção urinária de ácido 3-metilglutacónico e o aumento dos níveis plasmáticos de alanina e ácido fumárico, sendo estes últimos pouco específicos para esta doença mitocondrial.(50,52)

4.b. Síndromes hepatocerebrais de depleção mitocondrial

As síndromes de depleção mitocondrial por mutação do DNA nuclear podem manifestar-se, inicialmente, como insuficiência hepática severa de origem mitocondrial, sendo uma das principais causas de hepatopatia neonatal.(52)

As síndromes hepatocerebrais podem estar associadas a vários genes, entre eles, o gene da deoxiguanosina cinase (*DGUOK*), o *MPV17*, o da succinil-CoA ligase (*SUCLG1*), o da polimerase γ DNA-dependente (*POLG1*) e o *C10orf2* (gene *Twinkle*).(49,52) Explicitam-se, de seguida, na *Tabela 7*, as principais características de cada uma destas patologias.

Tabela 7: Principais características clínicas e diagnósticas das síndromes hepatocerebrais de depleção mitocondrial. Fontes: (49,52,53)

Gene mutado	Principal apresentação clínica	Marcadores diagnósticos
<i>DGUOK</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Falência multiorgânica neonatal, com acidose láctica e hipoglicemia; <li style="padding-left: 20px;">- Colestase neonatal; - Falência hepática com ascite, edema e coagulopatia; - Miopatia, regressão do desenvolvimento, nistagmo rotatório e hipotonia.(52,53) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento da concentração plasmática da tirosina/fenilalanina; - Elevação das enzimas hepáticas, GGT e hiperbilirrubinemia conjugada; - Aumento da ferritina plasmática e da saturação da transferrina e acumulação de ferro nos hepatócitos; - Deficiência dos complexos I, III e IV.(49,52,53)
<i>MPV17</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Hipoglicemia severa, acidose láctica e falha no crescimento; - Icterícia seguida de falência hepática com hepatoesplenomegália; - Manifestações neurológicas, incluindo hipotonia, fraqueza muscular e neuropatia periférica.(52,53) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento dos níveis de aminotransferases, GGT e bilirrubina direta; - Leucoencefalopatia em exames de imagem; - Deficiência do complexo I e/ou do III.(49,52,53)
<i>POLG1</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Pode manifestar-se como o fenótipo mais severo do espectro de doenças resultantes da mutação do gene <i>POLG</i>, a Síndrome de Alpers-Huttenlocher; - Hepatopatia com ou sem falência hepática aguda, no período neonatal; - Encefalopatia progressiva com epilepsia intratável e atraso psicomotor; - Falência hepática progressiva.(52,53) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento dos níveis de aminotransferases; <li style="padding-left: 20px;">- Hipoalbuminemia; - Atrofia cerebral e gliose.(49,53)
<i>SUCLG1</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Origina uma hepatoencefalomiopatia; <li style="padding-left: 20px;">- Acidose láctica severa; - Alterações musculares, surdez e doença hepática progressivas.(52) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento dos níveis plasmáticos e urinários de ácido metilmalônico; <li style="padding-left: 20px;">- Aumento do lactato plasmático; - Alterações do neurónio motor evidentes na eletromiografia; - Deficiência dos complexos I, III e IV.(49,53)
<i>C10orf2</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Acidose láctica, hepatomegalia, hipotonia e atraso psicomotor, no período neonatal; <li style="padding-left: 20px;">- Colestase e coagulopatia; - Atraso no crescimento e problemas na alimentação.(53) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento das aminotransferases; - Aumento dos níveis plasmáticos de lactato; <li style="padding-left: 20px;">- Atrofia cortical cerebelar; - Diminuição da atividade dos complexos I, III e IV.(49,53)

4.c. Síndrome de Fellman

Também denominada por síndrome GRACILE (cada letra remete para uma das principais manifestações desta patologia) diz respeito ao distúrbio mais frequentemente atribuído a mutações do gene *BCS1L*, que apresenta mais de 20 mutações patogénicas humanas. As características que mais se associam a esta patologia são a restrição de crescimento fetal, aminoacidúria (manifestações semelhantes à tubulopatia de Fanconi), colestase acompanhada de esteatose mista (macro e microvesicular) e cirrose, sobrecarga de ferro e acidose láctica grave. Habitualmente, a acidose láctica é resistente ao tratamento e os recém-nascidos apresentam crescimento precário. À semelhança de outras patologias mitocondriais, existem alterações nos níveis de aminotransferases e na coagulação, bem como uma diminuição da atividade do complexo III da cadeia respiratória no fígado e rim.(21,52)

Claro está que esta patologia também cursa com morte precoce, mais associada à depleção de energia *per se* do que à falência hepática, como acontece com as síndromes de depleção mitocondrial.(52)

5. Alterações no armazenamento do glicogénio

As doenças de armazenamento do glicogénio (GSD) são erros inatos do metabolismo, habitualmente de herança autossómica recessiva, que pautam por uma disrupção no metabolismo do glicogénio, com inadequação no seu armazenamento ou utilização.(54,55) Os defeitos enzimáticos observados nestas doenças levam a concentrações anormais de glicogénio ou das suas formas estruturalmente aberrantes em diversos tecidos.(56)

À luz da atualidade, existem cerca de 14 tipos de doenças incluídas neste grupo, sendo classificadas de acordo com a enzima ou transportador deficiente e segundo a afetação orgânica provocada.(57)

Os tipos I, III, IV (sobretudo, o seu subtipo hepático clássico), VI e IX constituem-se como as principais doenças com afetação hepática e, por isso, serão objeto de discussão subsequente mais aprofundada.(11,54,55,58) A hipoglicemia, a hepatomegalia e a falência no crescimento adequado revelam-se como os sinais cardinais destas doenças, graças à incapacidade de catabolização do glicogénio hepático e à falta de produção de glicose livre suficiente pelo fígado, respetivamente.(54,56,59) Sabe-se, ainda, que estas doenças se apresentam, mais frequentemente, após o período neonatal quando os pacientes passam a fazer períodos mais alargados de jejum, apesar do seu início se poder manifestar logo nesta altura, com hipoglicemia severa acompanhada de convulsões.(55)

Quanto ao diagnóstico, é importante que este inclua uma boa história clínica e um exame objetivo com ênfase na caracterização da hepatomegalia, mais comumente presente a partir dos 6 meses.(55) A solicitação de análises bioquímicas que incluam hemograma, testes de função hepática, eletrólitos, creatina cinase, ácido úrico, colesterol e triglicéridos, e a análise da atividade enzimática ou a análise genética molecular, possibilitando a confirmação do diagnóstico, são parte integrante de toda a marcha diagnóstica.(54,55) Se existir apresentação neonatal, é de extrema importância a avaliação da hipoglicemia com relação ao *timing* da alimentação.(55)

No que concerne ao tratamento, a nutrição adequada baseada em dieta específica para cada tipo de GSD mantém-se como a pedra basilar do tratamento.(60) A terapia genética baseada em vetores associados com o Adenovírus tem-se revelado como uma solução promissora, ainda em estudo, para providenciar uma terapêutica mais eficaz para este tipo de doenças.(56)

A Tabela 8 que se segue apresenta de forma muito sucinta algumas características e a principal proposta terapêutica específica para as GSDs com afeção hepática supracitadas.

Tabela 8: Principais características e proposta terapêutica específica para as GSDs com afeção hepática. Fontes: (11,54–56,58–67)

Tipo de GSD	Gene mutado	Enzima alterada	Principais características	Tratamento específico
I	<i>G6PC (Ia)</i> <i>SLC37A4 (Ib)</i>	Glicose-6-fosfatase (Ia) ou transportador da glicose-6-fosfatase (Ib) (54,56,64,67)	<ul style="list-style-type: none"> - Apresenta uma incidência de 1 em cada 100.000 indivíduos e manifesta-se por glicogenólise e gliconeogénese defeituosas.(60,64) - Pode ser dividido em 2 subtipos, sendo o tipo Ia o mais prevalente e, por isso, o explicitado aqui.(54) - Caracteriza-se por hipoglicemia, acidose láctica, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hiperuricemia e hepatomegalia.(54,55,64) - O desenvolvimento de adenoma e carcinoma hepáticos e de doença renal crónica são algumas das complicações que podem ocorrer com a evolução da doença.(54,55) 	<ul style="list-style-type: none"> - Dieta rigorosa de substituição da glicose com amido de milho não cozinhado e controlo nutricional rigoroso, prevenindo a hipoglicemia e a acidose metabólica.(56,60,64) - O transplante hepático melhora o controlo metabólico, levando a uma normal tolerância ao jejum. Contudo, os sintomas extra-hepáticos poderão persistir.(63) - O transplante de células estaminais hepáticas reveste-se como uma alternativa futura, com menor exigência de terapêutica imunossupressora, reduzindo, por isso, o risco de complicações pós-transplante.(63)
III	<i>AGL</i>	Enzima de “desramificação” do glicogénio, a amilo-1,6-glucosidase (54,56,66)	<ul style="list-style-type: none"> - Apresenta-se apenas com uma glicogenólise defeituosa.(60) - Tem uma incidência estimada de 1/100.000. Também se subdivide em 2 subtipos: IIIa, o mais comum e com afetação muscular e hepática; IIIb, apenas com envolvimento hepático.(66) - A elevação das aminotransferases e a hipertrigliceridemia, além da hepatomegalia e hipoglicemia habituais, caracterizam este tipo também.(55,66) - É comum o aumento dos lactatos após ingestão de glicose e, se o músculo estiver envolvido, verifica-se elevação da creatina cinase.(55) - A maioria dos pacientes desenvolve cardiomiopatia progressiva.(55,66) 	<ul style="list-style-type: none"> - Suprimento consistente das necessidades glicémicas e proteicas, de modo a evitar a cetose, a hipercolesterolemia e a hipertrigliceridemia.(60,66) Salienta-se, assim, a importância de uma dieta rica em proteínas aliada à ingestão de amido de milho.(56,66) - Uma dieta rica em gorduras pode trazer benefícios aos pacientes com hipertrofia cardíaca.(59) - O transplante hepático pode ser ponderado nos casos de cirrose hepática severa, disfunção hepática e/ou carcinoma hepatocelular.(56,66)
IV	<i>GBE1</i>	Enzima de ramificação do glicogénio (54,56,58)	<ul style="list-style-type: none"> - Apresenta-se com alteração do armazenamento do glicogénio.(60) - Constitui-se como o principal tipo associado a colestase neonatal.(11) - Tem uma incidência estimada entre 1/600.000 e 1/800.000.(58) 	<ul style="list-style-type: none"> - O transplante hepático é o único tratamento no subtipo hepático progressivo, pois sem ele, a falência hepática é responsável pela morte por volta dos 5 anos de idade.(58) - O transplante cardíaco pode revelar-se necessário se

			- No subtipo hepático clássico progressivo, a falência do crescimento manifesta-se rapidamente após o nascimento, conjuntamente com hepatomegalia, disfunção hepática, cirrose, hipotonia e cardiomiopatia.(58)	existir envolvimento cardíaco severo.(58) - Adoção de uma dieta adequada, de modo a prevenir défices nutricionais.(56)
VI	<i>PYGL</i>	Glicogénio-fosforilase hepática (61,62)	- Apresenta-se apenas com uma glicogenólise defeituosa, cuja prevalência se situa entre 1/65.000 e 1/85.000.(60,61) - Habitualmente, caracteriza-se por um fenótipo leve. Contudo, raramente, podem existir casos de doença severa, com hipoglicemia e hepatomegalia marcadas, cirrose e atraso no crescimento.(61,62) - Elevação das aminotransferases, hiperlipidemia e baixo nível de pré-albumina são algumas das alterações laboratoriais que podem ser encontradas.(61)	- Apesar de, em certos casos, poder ser dispensado, baseia-se numa dieta proteica aliada ao amido de milho.(61)
IX	<i>PHKA1</i> <i>PHKA2</i> <i>PHKB</i> <i>PHKG2</i>	Fosforilase cinase (56,65)	- Apresenta-se apenas com uma glicogenólise defeituosa.(60) - É difícil de distinguir do tipo VI com base na clínica ou nos achados laboratoriais, uma vez que estes são, frequentemente, sobreponíveis, sobretudo o subtipo IXa.(54,62) - O subtipo IXc (variante <i>PHKG2</i>) encontra-se associado a um fenótipo mais grave, evoluindo com fibrose e cirrose hepáticas.(54,65)	- Nutrição adequada para prevenir a hipoglicemia diurna, através de dieta baseada em carboidratos complexos e proteína.(65) - As manifestações hepáticas deverão ser geridas sintomaticamente.(65)

6. Anomalias de glicosilação

Os distúrbios congénitos da glicosilação (CDG) representam defeitos genéticos na síntese e na ligação de glicolípidos e glicoproteínas.(68) Trata-se de um grupo de patologias com mais de 130 erros congénitos de metabolismo documentados afetando o processo de glicosilação envolvendo grupos *N* e *O* proteicos e lípidos.(69) A maioria das patologias que constituem este grupo são de hereditariedade autossómica recessiva e a prevalência estimada do estado de portador de variantes patogénicas é de cerca de 1:10.000 nos países europeus.(21,70,71)

Dada a omnipresença das vias de glicosilação em praticamente todos os sistemas do organismo, qualquer um deles pode estar implicado neste grupo de patologias, apesar das anomalias neurológicas se constituírem como uma das principais consequências.(70) As mutações podem ocorrer nos genes que codificam as glicosiltransferases, as glicosidasas de remodelação e os transportadores de nucleótidos

açucarados, assim como, mais recentemente descobertos, os genes com implicações no tráfego vesicular, na homeostase do pH e do manganês (Mn^{2+}). Defeitos no metabolismo dos aminoácidos e na biossíntese e remodelação de fosfolípidos, esfingolípidos e ácidos gordos complexos leva à afetação patológica do sistema nervoso e de muitos outros órgãos.(68)

O início e a gravidade destas patologias variam desde a letalidade do período neonatal até à idade adulta assintomática. A constelação geral de sintomas inclui atraso no desenvolvimento, progressão ponderal difícil, hipotonia, alterações neurológicas, hipoglicemia e afetação variável de vários sistemas (hepático, oftalmológico, gastrointestinal, dermatológico, imunológico e esquelético). O atraso no desenvolvimento constitucional transversal a muitas doenças deste grupo está associado à hipoglicosilação e à função alterada de numerosas glicoproteínas que integram a via de crescimento da insulina.(70,71)

Os defeitos de glicosilação do grupo *N* proteico representam o grupo das anomalias de glicosilação mais frequentemente diagnosticado, pautado por uma síntese defeituosa de oligossacáridos ligados a um grupo *N*.(70,71) Dentro deste grupo mais restrito, destacam-se as seguintes anomalias, com especial impacto na função hepática:

- **Deficiência de fosfomanomutase 2 (CDG-Ia – gene *PMM2*)** – apresenta-se como a patologia mais comum deste grupo. Pode ser dividida em 3 fases clínicas, sendo a apresentação multissistémica infantil a mais comum. Esta apresentação caracteriza-se por uma falha na progressão ponderal, hepatopatia, hiporreflexia, hipoplasia cerebelar, dismorfismo facial e atraso no desenvolvimento. Também se incluem outras manifestações multissistémicas, como síndrome nefrótica, cardiomiopatia hipertrófica, coagulopatia, e, inclusive, a hidrósia fetal, que condiciona uma sobrevivência muito limitada. Sabe-se que a hepatopatia pode ter 2 fenótipos distintos: um mais grave, com falência hepática neonatal/infantil severa, ou um mais leve, com aumento das aminotransferases durante o 1º ano de vida, sem sequelas clínicas;
- **Deficiência de manosefosfato isomerase (CDG-Ib – gene *MPI*)** – apresenta pouco ou nenhum envolvimento neurológico, com sintomatologia essencialmente hepato-intestinal, sem características dismórficas ou atrasos cognitivos.(70) Os pacientes apresentam-se com vômitos cíclicos, hipoglicemia significativa, atraso no crescimento, enteropatia perdedora de proteínas severa,

alterações fibróticas hepáticas e dilatação ductal biliar, e com risco aumentado de eventos trombóticos;

- **Deficiências de ATP6AP1 e de CCDC115 (ATP6AP1-CDG e CCDC115-CDG - genes *ATP6AP1* e *CCDC115*) e mutações do complexo de Golgi oligomérico (sobretudo, 6 e 7 – CDG-IIL e CDG-IIe – genes *COG6* e *COG7*)** – doenças mais frequentemente associadas a alterações hepáticas, como colestase neonatal, icterícia, falência hepática, hepatomegalia e cirrose.(68,70–73)

Relativamente ao diagnóstico, este pode ser feito através da análise de isoformas de transferrina plasmática por focalização isoelétrica ou por eletroforese capilar.(71) Os resultados quantitativos obtidos a partir desta análise permitem chegar a um padrão específico, cuja interpretação pode ser mais indicativa de uma determinada doença dentro deste grande grupo.(70) Contudo, para diagnóstico definitivo é essencial realizar a análise genética molecular, através de um painel NGS dirigido ou de sequenciação genómica.(68,70–72) Ultimamente, têm vindo a desenvolver-se outras técnicas de diagnóstico, nomeadamente a análise de glicoproteínas com o intuito de identificar biomarcadores proteicos específicos, bem como estudos epigenéticos que permitam demonstrar características na cromatina, contribuindo para o estabelecimento do diagnóstico da patologia concreta.(68)

Quanto ao tratamento, sabe-se que a estratégia geral passa pela suplementação com açúcares de forma a providenciar monossacarídeos exógenos que possam ultrapassar a disrupção da glicosilação através do recrutamento de mecanismos complementares das vias afetadas.(72) Nas doenças que cursam com afetação hepática, designadamente colestase, recomenda-se a suplementação com vitaminas lipossolúveis e a integração na dieta de triglicéridos de cadeia média.(69,72) A deficiência de manosefosfato isomerase é a única patologia deste grupo que apresenta tratamento, havendo um restauro da glicosilação pela administração de manose.(69) Não obstante, pode haver necessidade de proceder a transplante hepático nesta patologia e noutras com afetação hepática, como a deficiência de CCDC115, por progressão da fibrose hepática e cirrose.(21,70,72)

7. Distúrbios do espectro Zellweger

As anomalias deste espectro representam o maior subgrupo de distúrbios associados a alterações da biogénese peroxissomal, causados por defeitos nos genes *PEX*. São um grupo heterogéneo de anomalias de hereditariedade autossómica recessiva que podem culminar com disfunções em múltiplas vias metabólicas.(74) A taxa de incidência global ronda 1:50.000, apesar de poder apresentar valores bastante variáveis consoante a região do mundo.(75)

Este espectro abarca 3 fenótipos principais: a síndrome de Zellweger, a adrenoleucodistrofia neonatal e a doença de Refsum infantil. É certo que os pacientes podem manifestar sintomas durante o período neonatal, muitas vezes graves, ou mais tarde na vida, como na adolescência, frequentemente com sintomatologia mais leve.(74)

Contextualizando o espectro destes distúrbios na sua patogénese molecular, estes resultam de variantes patogénicas bialélicas num dos 13 genes *PEX*, sendo que estes genes são responsáveis pela codificação de proteínas essenciais à síntese de peroxissomas e à importação de proteínas por parte destes.(74,75) Desta forma, mutações nestes genes determinam a perda de função das proteínas, as peroxinas.(75) Tendo em conta que os peroxissomas se encontram envolvidos em múltiplos processos metabólicos catabólicos e anabólicos, como a biossíntese de fosfolípidos e ácidos biliares, a α - e β -oxidação de ácidos gordos e a desintoxicação de espécies reativas de oxigénio, a sua disfunção gera a acumulação de vários produtos no sangue, urina e nalguns tecidos.(74)

Quanto à sintomatologia, sabe-se que os distúrbios da biogénese dos peroxissomas podem trazer graves danos neurológicos, por migração cerebral anormal afetando os hemisférios cerebrais, cerebelo e complexo olivar inferior, organização anormal das células de Purkinje e alterações da substância branca.(76) Desta forma, nas principais características clínicas encontradas incluem-se, além das anomalias neurológicas, a disfunção hepática, o atraso no desenvolvimento, cataratas, dismorfia, anomalias esqueléticas, a disfunção adrenocortical e a perda de visão e de audição.(8,74,76)

Habitualmente, é no recém-nascido que se apresenta a forma mais severa deste espectro, a Síndrome de Zellweger propriamente dita.(75) Este apresenta-se hipotónico e malnutrido, com uma fácies distinta, epilepsia, surdez neurossensorial, cataratas, condrodysplasia punctata da patela e de ossos longos e quistos renais.(74,75) No que toca

às manifestações hepáticas, estas consistem em hepatomegalia, disfunção hepática com colestase e icterícia prolongada, assim como uma fibrose que pode progredir para cirrose durante o 1º ano de vida.(21,74,75,77) As características craniofaciais típicas incluem uma cara plana, com uma ponte nasal alargada, uma grande fontanela anterior e suturas afastadas.(75)

Relativamente ao diagnóstico, pode recorrer-se, numa primeira abordagem, a testes bioquímicos no sangue e na urina.(74) Os resultados esperados discriminam-se seguidamente:

- Aumento das concentrações plasmáticas de ácidos gordos de cadeia muito longa e de ácidos fitânico e pristânico;
- Aumento das concentrações de C26:0-lisofosfatidilcolina em gotas de sangue seco em papel-filtro;
- Redução das concentrações dos plasmalogenes C16 e C18 na membrana eritrocitária;
- Aumento das concentrações plasmática e urinária de ácido pipecólico;
- Aumento da concentração plasmática dos intermediários de ácidos biliares peroxissomais di- e trihidroxicolestanóico (DHCA e THCA).(74,75)

Caso exista uma alta suspeita de diagnóstico, em que os parâmetros peroxissomais do sangue e urina se mantenham inalterados, podem realizar-se testes adicionais a partir de fibroblastos, que também permitirão distinguir este espectro de patologias das deficiências de enzimas peroxissomais únicas. Contudo, dada a maior disponibilidade de testes genéticos, estes poderão constituir a 1ª linha de diagnóstico. É, ainda, possível proceder ao diagnóstico pré-natal através de teste genético ou de testes bioquímicos em biópsias de vilosidades coriônicas ou em culturas de células provenientes das mesmas, assim como em culturas de amniócitos.(74)

O tratamento foca-se, essencialmente, na terapia sintomática, podendo incluir a realização de gastrostomia de modo a garantir um aporte calórico adequado.(75) O ácido cólico é a única terapia adjuvante eficaz nos pacientes com este espectro de patologias, permitindo a melhoria dos parâmetros hepáticos, a redução da acumulação de intermediários tóxicos dos ácidos biliares, o aumento do crescimento e dos níveis de vitaminas lipossolúveis.(74,75,77) Esta terapia deverá ser iniciada quando ainda não existem sinais de doença hepática avançada.(77) A suplementação com vitaminas lipossolúveis, a terapêutica de substituição adrenal com cortisona (se presença de

insuficiência adrenal severa) e a terapia anticonvulsiva são algumas das estratégias terapêuticas a instituir.(74,75)

O seguimento deste pacientes deve pautar pela avaliação do crescimento e estado nutricional, avaliações oftalmológicas, audiométricas, cognitivas e psicomotoras, determinação da evolução da arquitetura hepática e monitorização da atividade convulsiva.(75)

O paciente com Síndrome de Zellweger acaba por falecer no primeiro ano de vida, morte esta secundária a apneia progressiva ou a compromisso respiratório consequente a infecção.(75)

8. Fibrose Quística

Consiste numa doença monogénica, com hereditariedade autossómica recessiva, causada por mutações do gene *CFTR*, que afeta 1 em cada 2.000 a 4.000 recém-nascidos.(78–80) Trata-se, pois, de uma doença complexa sistémica que envolve o epitélio do trato respiratório, do pâncreas exócrino, do intestino, do sistema hepatobiliar e das glândulas sudoríparas, tecidos nos quais esta proteína é expressa e apresenta uma função crítica.(79)

A expressão do gene *CFTR* no sistema hepatobiliar ocorre apenas ao nível do epitélio dos ductos biliares e da vesícula, não estando presente nos hepatócitos.(78) Este gene codifica, assim, uma proteína na membrana apical dos colangiócitos, responsável pelo transporte de iões de cloreto e bicarbonato e pela alcalinização da bÍlis, sendo um grande determinante da sua secreção.(78–80) As consequências da alteração desta proteína prendem-se com uma anomalia da secreção biliar, devido à espessura da bÍlis, com formação de radicais livres, maior suscetibilidade a agentes infecciosos e acumulação de outros produtos tóxicos.(78)

Para a maior parte dos pacientes com esta patologia, os sinais e sintomas gastrointestinais, pancreáticos e hepatobiliares representam a evidência mais precoce de doença, iniciando-se antes do 1º ano de vida. Manifestações tipicamente observadas incluem défices nutricionais e baixo peso, disbiose, íleo meconial, esteatorreia e colestase.(80)

A colestase neonatal é, pois, a manifestação mais precoce e frequente de envolvimento hepático. Recém-nascidos com íleo meconial têm risco aumentado de vir a desenvolver colestase. Adicionalmente, estes pacientes também se podem apresentar com fezes acólicas, hepatomegalia, esplenomegalia, hipoalbuminemia, aumento dos níveis plasmáticos de aminotransferases, fosfatase alcalina e/ou GGT.(80) Claro está que a estase biliar intraluminal associada à anomalia dos canais CFTR leva a uma proliferação e expansão ductais e do trato portal, podendo conduzir à obstrução biliar extra-hepática, predispondo, a longo prazo, à ocorrência de fibrose e consequente cirrose e hipertensão portal.(78,80,81)

O diagnóstico inicia-se com o rastreio neonatal, que se baseia na medição dos níveis sanguíneos de tripsinogénio imunorreativo, que normalmente se encontram elevados, uma vez que o tripsinogénio não consegue atingir o lúmen intestinal por bloqueio dos ductos pancreáticos, não sendo, consequentemente, transformado em tripsina. Se este teste se revelar positivo, deverá ser realizado o teste do suor, desde que o recém-nascido tenha um peso superior a 2 kg.(82) Em bebés com menos de 6 meses, os seguintes intervalos de valores de referência de cloreto no suor, encontram-se atribuídos a uma probabilidade de diagnóstico da doença:

- **≥ 60 mmol/L** – consistente com o diagnóstico, que deverá ser confirmado com um segundo teste de suor ou com a identificação de 2 variantes patogénicas do gene *CFTR*;
- **30 - 59 mmol/L** - implica um risco intermédio da doença. O diagnóstico poderá ser confirmado com a identificação de 2 variantes genéticas patogénicas;
- **< 30 mmol/L** – indicativo de diagnóstico improvável.(82)

Sabe-se que, habitualmente, a colestase regride durante o 1º ano de vida, não deixando quaisquer sequelas. Contudo, a gestão da colestase deverá ser feita, predominantemente, através de tratamento de suporte, garantindo uma nutrição capaz de assegurar o crescimento adequado.(80) A longo prazo, a utilização de ácido ursodeoxicólico não revela quaisquer benefícios em termos de alterações nos níveis de enzimas hepáticas e na melhoria na excreção biliar.(83) Os moduladores dos canais CFTR, cuja função se prende com o restauro da função da proteína CFTR, e a terapia-alvo genética são terapêuticas potenciais que necessitam de ser exploradas no âmbito da doença hepática associada à fibrose quística.(81)

A doença hepática associada a fibrose quística é uma causa não pulmonar comum de mortalidade, contribuindo para 2,5 a 5% de mortes por esta patologia genética.(79)

9. Deficiência de α_1 -antitripsina

A deficiência de alfa1-antitripsina (A1AT) diz respeito a uma das causas mais comuns de colestase neonatal intra-hepática e a uma das principais causas de doença hepática metabólica herdada no Ocidente, cuja incidência se estima ser de cerca de 1 em cada 1.600 a 3.500 nascimentos.(21,84)

A A1AT é uma glicoproteína sintetizada maioritariamente pelo fígado e constitui-se como o principal inibidor de proteases, atuando, sobretudo, contra a elastase neutrofílica.(85) O gene *SERPINA1*, que codifica a A1AT e que se encontra no cromossoma 14, apresenta herança recessiva com expressão codominante e mais de 100 variantes genéticas.(21,85,86)

A patofisiologia desta doença reside, essencialmente, na lesão hepática, por acumulação intracelular de agregados de A1AT mutada nos hepatócitos, e na doença pulmonar obstrutiva crónica, por falta de contraposição da A1AT à atividade da elastase neutrofílica.(21,85,86) Desta forma, a lesão hepática resulta da inflamação e morte dos hepatócitos, com conseqüente fibrose e cirrose, estando a colestase neonatal presente em, aproximadamente, 11% dos casos da doença.(85,86) O tipo de deficiência mais comum e o único que leva à ocorrência de colestase neonatal é o *PiZZ*, visto o alelo *Z* ser o mais provável de conduzir a um fenótipo patogénico ao resultar numa proteína quantitativa e qualitativamente deficiente.(84,86) O fenótipo *PiSZ* (heterozigoto) também pode causar lesão hepática, embora menos grave.(86)

O diagnóstico definitivo é genético, sendo, contudo, possível proceder à determinação aos níveis plasmáticos de A1AT, que se situam entre 0,2 e 0,3 g/L (25% do valor normal), ou à eletroforese de variantes da A1AT.(84,86)

O transplante hepático constitui-se como o tratamento definitivo da doença hepática severa, permitindo o retorno dos níveis de A1AT ao normal durante o período pós-transplante, com prognóstico favorável a longo prazo.(21,84,86)

10. Hipopituitarismo congênito

O hipopituitarismo congênito caracteriza-se pela deficiência de uma ou mais hormonas produzidas pela hipófise anterior (adeno-hipófise) ou libertadas pela hipófise posterior (neuro-hipófise). Estima-se que a sua incidência se encontre entre 1/4.000 e 1/10.000.(87,88)

A hipófise define-se como o regulador central do crescimento, metabolismo, reprodução e homeostasia do corpo, e consiste numa glândula endócrina, localizada na sela turca (osso esfenóide) e composta por 3 lobos (anterior, médio e posterior) com duas origens embriológicas distintas.(87,88)

Relativamente à fisiopatologia, sabe-se que o hipopituitarismo neonatal poderá ser causado por defeitos no desenvolvimento da própria glândula, por mutações genéticas, infeções congénitas e por eventos peri e neonatais (sépsis neonatal, hemocromatose transitória).(88) A incidência de mutações genéticas é baixa, constituindo 16% dos casos, sendo o gene *PROP1* aquele que mais frequentemente se associa às causas familiar e esporádica de deficiência combinada de hormonas hipofisárias.(87,89)

Fatores como a história familiar, complicações durante a gravidez ou parto, achados ao exame objetivo (anomalias encefálicas ou oculares, micropénis) ou problemas pós-natais como hipoglicemia e icterícia, devem levantar a suspeita para o diagnóstico de hipopituitarismo congénito e motivar a investigação.(89)

Claro está que em bebés prematuros, este diagnóstico é de mais difícil suspeita, devido, sobretudo, à imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise, à ausência de valores definidores da normalidade de vários parâmetros e à contraindicação da realização de testes de estimulação.(87,88) Deve ser tido em consideração que todos os recém-nascidos com suspeita de hipopituitarismo deverão ser avaliados na tentativa de identificação de hipoplasia do nervo ótico (associada à displasia septo-ótica), defeitos da linha média ou síndromes específicos.(88,89)

Seguidamente, serão apresentados, sumariamente, os principais défices de hormonas hipofisárias que cursam com colestase neonatal, conjuntamente com a respetiva abordagem diagnóstica e tratamento.

10.a. Déficit de Hormona de Crescimento (GH)

Esta é a hormona pituitária que mais frequentemente se encontra afetada na infância, sendo que a maior parte dos casos de déficit são esporádicos. A hipoglicemia, a colestase e a presença de micropénis são algumas das características que poderão ser encontradas. De notar que a criança manifestará atraso no crescimento no período pós-natal, apesar do seu crescimento fetal não ter sido comprometido.(87)

O diagnóstico, habitualmente, é feito através da medição dos níveis de GH num período de hipoglicemia, que deverão ser inferiores a 5 µg/L na presença de outros défices de hormonas hipofisárias e/ou perante alterações imagiológicas típicas documentadas na ressonância magnética (tríade clássica, que inclui neuro-hipófise ectópica, adeno-hipófise hipoplásica e infundíbulo hipofisário anormal, tipicamente presente na Síndrome da Interrupção do Infundíbulo Pituitário, uma causa de déficit combinado de hormonas hipofisárias). As concentrações de IGF-1 (estimulada pela GH) não devem ser usadas como teste de rastreio em recém-nascidos, uma vez que se mantêm baixas, habitualmente até aos 15 a 18 meses de idade.(87,89)

O seu tratamento consiste na administração subcutânea de GH recombinante humana, diariamente, ao final do dia, de modo a mimetizar a natural secreção da hormona. Deverá ser instituído ainda no período neonatal, contribuindo para a resolução da colestase e dos episódios de hipoglicemia. Adicionalmente, deverá ser realizada a vigilância de sintomatologia ou resultados analíticos sugestivos de hipotiroidismo ou insuficiência adrenal, visto que a terapêutica com GH aumenta o metabolismo das hormonas tiroideias e do cortisol.(87,89)

10.b. Déficit de Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH)

Os recém-nascidos com déficit desta hormona podem apresentar atraso no crescimento, colestase e hipoglicemia severa, que pode mesmo culminar com letargia e convulsões.(87,89) A colestase, habitualmente observada nas 2 primeiras semanas de vida, justifica-se pela falta de estimulação biliar proporcionada pelo cortisol, que, devido à sua relação de interdependência com a ACTH, também se encontra diminuído, levando a anomalias na síntese e no transporte de ácidos biliares.(87,88)

O diagnóstico de déficit total é estabelecido com base nos baixos níveis de ACTH e com níveis basais de cortisol inferiores a 2,2 µg/dL.(89) Contudo, há que ter em mente

que os recém-nascidos carecem de ritmo circadiano, cuja maturidade se encontra estabelecida por completo entre os 2 e os 6 meses de idade, pelo que a medição das concentrações de cortisol matinal não é útil na avaliação do déficit de ACTH.(87,88)

O tratamento deverá ser iniciado o mais brevemente possível, utilizando a hidrocortisona, em infusão contínua subcutânea, devido à menor implicação na saúde óssea e no crescimento, quando comparada com outros glicocorticoides. Claro está que nos recém-nascidos e perante situações de stress ou doença, a dose administrada deverá ser incrementada, devido à taxa superior de secreção de cortisol implicada.(87,89)

10.c. Déficit de Hormona Estimulante da Tireoide (TSH)

O gene mais frequentemente mutado no hipotiroidismo congénito central é o *IGSF1*.(87,90) O hipotiroidismo congénito central associado a mutações bialélicas do gene *TSH β* encontra-se associado a hipotiroidismo severo e, se não tratado, culminará em cretinismo.(90)

A típica constelação de sintomas inclui icterícia prolongada, baixos níveis de energia e sonolência marcada, desregulação da temperatura corporal, hérnia umbilical, bradicardia, macroglossia e obstipação.(87)

O diagnóstico atempado é fulcral, visto que as hormonas tiroideias são essenciais ao normal desenvolvimento cerebral. O diagnóstico tardio poderá trazer consequências como a hepatite neonatal e mortalidade aumentada.(88) Assim, dever-se-á excluir hipotiroidismo congénito central sempre que estejamos perante um bebé com sinais ou sintomas de hipotiroidismo congénito em conjugação com uma concentração de TSH baixa, normal ou apenas ligeiramente aumentada.(90)

O tratamento de eleição é a levotiroxina, que só deverá ser administrada após exclusão de déficit de cortisol. Tal facto se deve ao aumento da taxa metabólica proporcionado pela levotiroxina, com conseqüente elevação da taxa de metabolização do cortisol e risco de precipitação de uma crise adrenal. Assim sendo, é imperativo que, perante um déficit de ACTH, a hidrocortisona seja iniciada previamente à levotiroxina.(87–89)

Tal como acontece com a administração de hidrocortisona no déficit de ACTH, a levotiroxina também deverá ver a sua dose aumentada perante um contexto de stress, bem como perante a existência de colestase, devido à absorção limitada.(87,88)

Conclusões finais

Após realização de uma revisão aprofundada sobre as principais doenças hepáticas genético-metabólicas passíveis de causar colestase neonatal, conclui-se que estas são entidades bastante raras e cujo reconhecimento dos sintomas, diagnóstico e tratamento atempados se revelam, muitas vezes, fulcrais para a sobrevivência e garantia da qualidade de vida dos pacientes. A *Figura 6* tem como intuito sistematizar alguns dos sintomas sugestivos e a abordagem diagnóstica inerente às DHMs, permitindo fazer o diagnóstico diferencial entre as mesmas.

Fazendo um paralelismo com a realidade portuguesa, no que ao diagnóstico diz respeito, em 2019, foi aprovado o Programa Nacional do Rastreio Neonatal, dando continuidade ao Programa Nacional de Diagnóstico Precoce, criado em 1979, que se instituiu como o tão conhecido Teste do Pezinho. Este teste é, habitualmente, realizado entre o 3º e o 6º dia de vida, tendo como objetivo primordial o diagnóstico e atuação precoces perante doenças hereditárias do metabolismo. A lista de doenças cujo diagnóstico se encontra contemplado por este teste versa 27 entidades, onde também se incluem doenças que cursam com colestase neonatal, como a Fibrose Quística (desde 2013), a Tirosinemia tipo 1 e o Hipotireoidismo Congénito (desde 1981).(91) Contudo, esta abrangência de patologias com diagnóstico através deste rastreio revela-se insuficiente quando, das principais doenças hereditárias do metabolismo que cursam simultaneamente com intoxicação metabólica e colestase neonatal, apenas a Tirosinemia tipo 1 é visada neste teste. Assim sendo, é claro que, perante esta lacuna, se perde a oportunidade de diagnosticar precocemente um conjunto de patologias que, apresentando um período de latência assintomático e, por isso, sem um diagnóstico fácil à nascença, podem cursar com manifestações sistémicas importantes e falência hepática aguda. Tendo em conta que o rastreio neonatal se constitui como uma ferramenta de grande sucesso no que toca à prevenção secundária, é inegável o benefício económico que a aposta num rastreio neonatal alargado representaria ao nível da morbimortalidade neonatal.(92,93) É certo que este alargamento deverá ter sempre por base as especificidades da população no que concerne à prevalência das doenças a adicionar ao painel do rastreio, com a criação de critérios de inclusão para a sua seleção, de modo a garantir a custo-efetividade de tal investimento. Assim, num tom que encerra em si uma apreciação construtiva, apesar de Portugal estar longe daquilo que é o débil panorama verificado no Leste da Europa, há sempre margem para melhorar e evoluir, à semelhança daquilo que se tem feito nos últimos anos, com a introdução do diagnóstico da Fibrose Quística e a atualização do protocolo de rastreio do Hipotireoidismo Congénito para

diagnóstico em recém-nascidos prematuros.(91,94,95) Como tal, sugere-se a introdução do rastreio de mais patologias causadoras de colestase neonatal, nomeadamente aquelas que cursam com intoxicação metabólica, como a Galactosemia Clássica e a Citrulinemia tipo II (defeito do ciclo da ureia que não é abrangido pelo rastreio português), tal como já é praticado na Itália.(95)

A construção de relatórios anuais de qualidade que atestem o custo-efetividade do aumento da abrangência das doenças preconizadas pelo rastreio neonatal permitir-nos-á continuar a evoluir no sentido de reduzir a morbimortalidade deste tipo de patologias que, muitas vezes, após diagnóstico, apenas implica um simples ajuste dietético como principal medida terapêutica.(92)

Além do rastreio neonatal, que se deveria constituir como principal arma de ataque no diagnóstico precoce de doenças hereditárias do metabolismo, é essencial estar atento aos principais sinais clínicos, para que se possa levar a cabo um estudo mais aprofundado (através de um painel genético dirigido, por exemplo), sobretudo quando se trata da suspeita de doenças cujo diagnóstico não se encontra, ainda, coberto pelo Programa Nacional do Rastreio Neonatal.

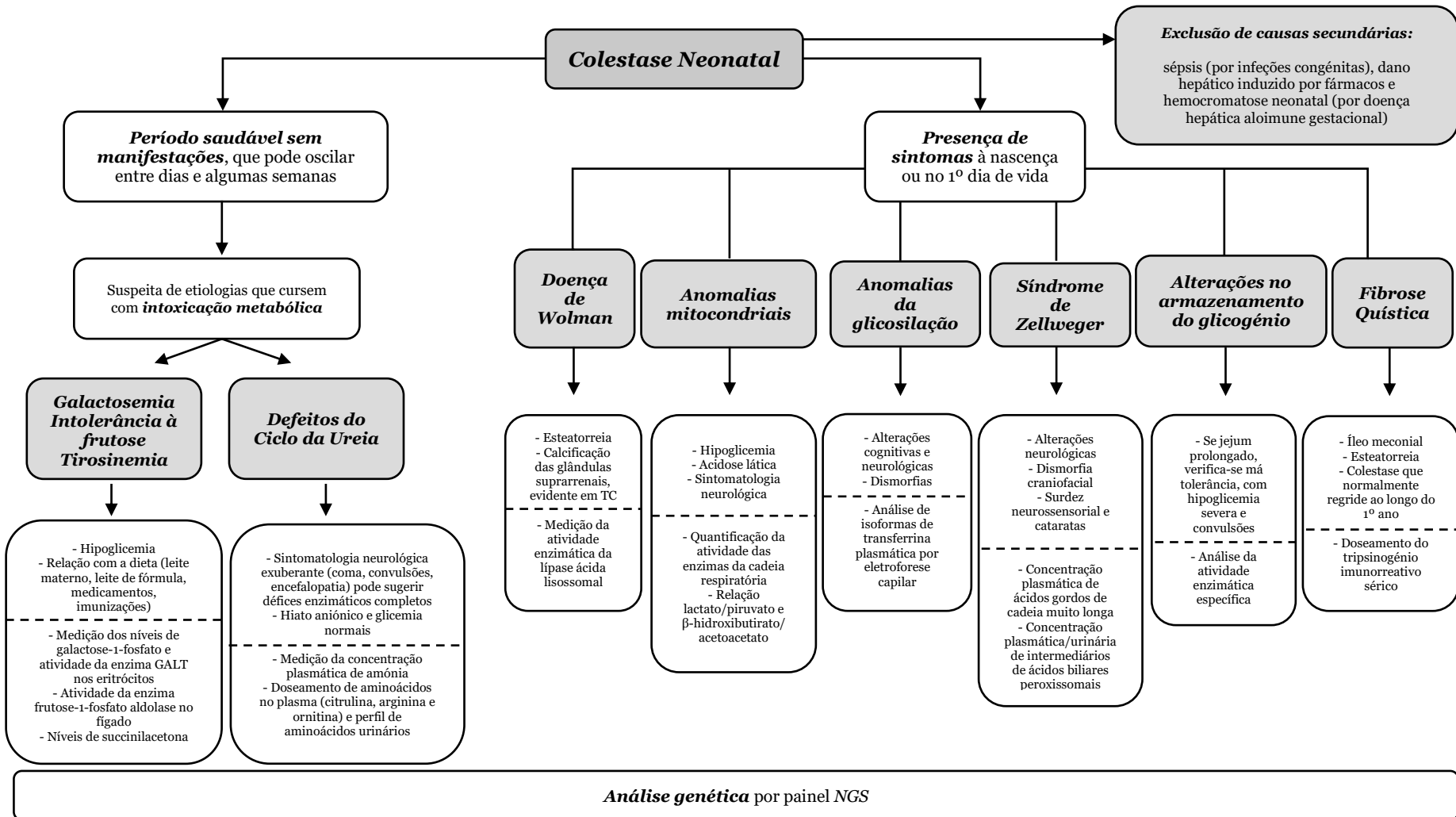


Figura 6: Sistematização da abordagem diagnóstica das doenças hepáticas metabólicas.

Bibliografia

1. Chen HL, Wu SH, Hsu SH, Liou BY, Chen HL, Chang MH. Jaundice revisited: recent advances in the diagnosis and treatment of inherited cholestatic liver diseases. *J Biomed Sci.* 2018 Oct 26;25(1):1–13.
2. Cohen RS, Wong RJ, Stevenson DK. Understanding neonatal jaundice: a perspective on causation. *Pediatr Neonatol.* 2010 Jun;51(3):143–8.
3. Pandita A, Gupta V, Gupta G. Neonatal Cholestasis: A Pandora’s Box. *Clin Med Insights Pediatr.* 2018 Jan;12:1–6.
4. Olusanya BO, Kaplan M, Hansen TWR. Neonatal hyperbilirubinaemia: a global perspective. *Lancet Child Adolesc Heal.* 2018 Aug 1;2(8):610–20.
5. Yueh MF, Chen S, Nguyen N, Tukey RH. Developmental, Genetic, Dietary, and Xenobiotic Influences on Neonatal Hyperbilirubinemia. *Mol Pharmacol.* 2017 May 1;91(5):545–53.
6. Rose J, Vassar R. Movement disorders due to bilirubin toxicity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2015 Feb 1;20(1):20–5.
7. Lane E, Murray KF. Neonatal Cholestasis. *Pediatr Clin North Am.* 2017 Jun 1;64(3):621–39.
8. Prasad D, Bhriguvanshi A. Ocular manifestations of liver disease in children: Clinical aspects and implications. *Ann Hepatol.* 2020 Nov 1;19(6):608–13.
9. Santos JL, Choquette M, Bezerra JA. Cholestatic liver disease in children. *Curr Gastroenterol Rep.* 2010 Feb;12(1):30–9.
10. Gottesman LE, Del Vecchio MT, Aronoff SC. Etiologies of conjugated hyperbilirubinemia in infancy: a systematic review of 1692 subjects. *BMC Pediatr.* 2015 Nov 20;15(1):1–8.
11. Quelhas P, Jacinto J, Cerski C, Oliveira R, Oliveira J, Carvalho E, et al. Protocols of Investigation of Neonatal Cholestasis—A Critical Appraisal. *Healthc.* 2022 Oct 1;10(10):1–25.
12. 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. *Eur J Pediatr.* 2019;178(4):515–23.
13. Alam S, Lal BB. Metabolic Liver Diseases Presenting as Acute Liver Failure in Children. *Indian Pediatr.* 2016 Aug 1;53(8):695–701.

14. Illsinger S, Das AM. Impact of selected inborn errors of metabolism on prenatal and neonatal development. *IUBMB Life*. 2010 Jun;62(6):403–13.
15. Karadağ N, Güneş AO, Karatekin G. Acute liver failure in newborns. *Turkish Arch Pediatr*. 2021;56(2):108–14.
16. Feldman AG, Sokol RJ. Recent developments in diagnostics and treatment of neonatal cholestasis. *Semin Pediatr Surg*. 2020 Aug 1;29(4):1–12.
17. Larson-Nath C, Vitola BE. Neonatal Acute Liver Failure. *Clin Perinatol*. 2020 Mar 1;47(1):25–39.
18. Berry GT. Classic Galactosemia and Clinical Variant Galactosemia. *GeneReviews®*. 2021;1–30.
19. Lak R, Yazdizadeh B, Davari M, Nouhi M, Kelishadi R. Newborn screening for galactosaemia. *Cochrane database Syst Rev*. 2020 Jun 22;12(12):1–13.
20. Berry GT. Galactosemia: when is it a newborn screening emergency? *Mol Genet Metab*. 2012 May;106(1):7–11.
21. Menon J, Vij M, Sachan D, Rammohan A, Shanmugam N, Kaliamoorthy I, et al. Pediatric metabolic liver diseases: Evolving role of liver transplantation. *World J Transplant*. 2021 Jun 1;11(6):161–79.
22. Chinsky JM, Singh R, Ficicioglu C, van Karnebeek CDM, Grompe M, Mitchell G, et al. Diagnosis and treatment of tyrosinemia type I: a US and Canadian consensus group review and recommendations. *Genet Med*. 2017 Dec 1;19(12):1–16.
23. Geppert J, Stinton C, Freeman K, Fraser H, Clarke A, Johnson S, et al. Evaluation of pre-symptomatic nitisinone treatment on long-term outcomes in Tyrosinemia type 1 patients: a systematic review. *Orphanet J Rare Dis*. 2017 Sep 11;12(1):1–13.
24. De Jesús VR, Adam BW, Mandel D, Cuthbert CD, Matern D. Succinylacetone as primary marker to detect tyrosinemia type I in newborns and its measurement by newborn screening programs. *Mol Genet Metab*. 2014;113(1):67–75.
25. Das AM. Clinical utility of nitisinone for the treatment of hereditary tyrosinemia type-1 (HT-1). *Appl Clin Genet*. 2017 Jul 24;10:43–8.
26. van Ginkel WG, Rodenburg IL, Harding CO, Hollak CEM, Heiner-Fokkema MR, van Spronsen FJ. Long-Term Outcomes and Practical Considerations in the Pharmacological Management of Tyrosinemia Type 1. *Paediatr Drugs*. 2019 Dec 1;21(6):413–26.

27. Bijarnia-Mahay S, Bhatia S, Arora V. Fructose-1,6-Bisphosphatase Deficiency. *GeneReviews®*. 2019 Dec 5;1–17.
28. Gaughan S, Ayres L, Peter R Baker I. Hereditary Fructose Intolerance. *GeneReviews®*. 2021 Feb 18;1–22.
29. Singh SK, Sarma M Sen. Hereditary fructose intolerance: A comprehensive review. *World J Clin Pediatr*. 2022 Jul 7;11(4):321–9.
30. Häberle J, Boddaert N, Burlina A, Chakrapani A, Dixon M, Huemer M, et al. Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7(1):1–30.
31. Scaglia F, Lee B. Clinical, Biochemical, and Molecular Spectrum of Hyperargininemia Due to Arginase I Deficiency NIH Public Access. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2006;0(2):113–20.
32. Ah Mew N, Simpson KL, Gropman AL. Urea Cycle Disorders Overview. *GeneReviews®*. 2017;1–20.
33. Matsumoto S, Häberle J, Kido J, Mitsubuchi H, Endo F, Nakamura K. Urea cycle disorders-update. *J Hum Genet*. 2019 Sep 1;64(9):833–47.
34. Camacho J, Rioseco-Camacho N, Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM. Hyperornithinemia-Hyperammonemia-Homocitrullinuria Syndrome. *GeneReviews®*. 2020;1–29.
35. Lichter-Konecki U, Caldovic L, Morizono H, Simpson K, Ah Mew N, MacLeod E. Ornithine Transcarbamylase Deficiency Synonyms: Ornithine Carbamoyltransferase Deficiency, OTC Deficiency. *GeneReviews®*. 2022;1–32.
36. Nagamani S, Erez A, Lee B, Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM. Argininosuccinate Lyase Deficiency. *GeneReviews®*. 2019;1–20.
37. Song Y-Z, Yazaki M, Saheki T. Citrin Deficiency. *GeneReviews®*. 2017 Aug 10;1–26.
38. Quinonez SC, Lee K; N, Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM. Citrullinemia Type I. *GeneReviews®*. 2022;1–28.
39. Ferreira CR, Gahl WA. Lysosomal storage diseases. *Transl Sci Rare Dis*. 2017;2(1–2):1–71.
40. Sun A. Lysosomal storage disease overview. *Ann Transl Med*. 2018;6(24):1–14.
41. McGovern MM, Avetisyan R, Sanson BJ, Lidove O. Disease manifestations and burden of illness in patients with acid sphingomyelinase deficiency (ASMD).

- Orphanet J Rare Dis. 2017 Feb 23;12(1):1–13.
42. López de Frutos L, Cebolla JJ, de Castro-Orós I, Irún P, Giraldo P. Neonatal cholestasis and Niemann-pick type C disease: A literature review. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2021 Nov 1;45(6):1–10.
 43. Berry-Kravis E. Niemann-Pick Disease, Type C: Diagnosis, Management and Disease-Targeted Therapies in Development. *Semin Pediatr Neurol*. 2021 Apr 1;37:1–9.
 44. Patterson MC, Hendriksz CJ, Walterfang M, Sedel F, Vanier MT, Wijburg F. Recommendations for the diagnosis and management of Niemann-Pick disease type C: An update. *Mol Genet Metab*. 2012 Jul;106(3):330–44.
 45. Baratta F, Pastori D, Ferro D, Carluccio G, Tozzi G, Angelico F, et al. Reduced lysosomal acid lipase activity: A new marker of liver disease severity across the clinical continuum of non-alcoholic fatty liver disease? *World J Gastroenterol*. 2019 Aug 14;25(30):4172–80.
 46. Su K, Donaldson E, Sharma R. Novel treatment options for lysosomal acid lipase deficiency: critical appraisal of sebelipase alfa. *Appl Clin Genet*. 2016 Oct 17;9:157–67.
 47. Gómez-Duarte C, García V, Botero V, Aristizabal A, Echeverri G, Pachajoa H. Deficiencia de lipasa ácida lisosomal, una patología infrecuente. *Gac Med Mex*. 2019;155(3):291–7.
 48. Hoffman EP, Barr ML, Giovanni MA, Murray MF. Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *GeneReviews®*. 2016 Sep 1;1–17.
 49. Kanungo S, Morton J, Neelakantan M, Ching K, Saeedian J, Goldstein A. Mitochondrial disorders. *Ann Transl Med*. 2018 Jan 1;6(24):261–88.
 50. Gopan A, Sen Sarma M. Mitochondrial hepatopathy: Respiratory chain disorders- ‘breathing in and out of the liver.’ *World J Hepatol*. 2021 Nov 11;13(11):1707–26.
 51. El-Hattab AW, Zarante AM, Almannai M, Scaglia F. Therapies for mitochondrial diseases and current clinical trials. *Mol Genet Metab*. 2017 Nov 1;122(3):1–9.
 52. Fellman V, Kotarsky H. Mitochondrial hepatopathies in the newborn period. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2011 Aug;16(4):222–8.
 53. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA depletion syndromes: review and updates of genetic basis, manifestations, and therapeutic options. *Neurotherapeutics*. 2013 Apr 1;10(2):186–98.

54. Burda P, Hochuli M. Hepatic glycogen storage disorders: what have we learned in recent years? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015 Jul 1;18(4):415–21.
55. Bhattacharya K. Investigation and management of the hepatic glycogen storage diseases. *Transl Pediatr*. 2015 Jul;4(3):240–8.
56. Kishnani PS, Sun B, Koeberl DD. Gene therapy for glycogen storage diseases. *Hum Mol Genet*. 2019 Oct 1;28(R1):R31–41.
57. Derks TGJ, van Rijn M. Lipids in hepatic glycogen storage diseases: pathophysiology, monitoring of dietary management and future directions. *J Inherit Metab Dis*. 2015 May 16;38(3):537–43.
58. Magoulas PL, El-Hattab AW. Glycogen Storage Disease Type IV. *GeneReviews®*. 2019 Aug 1;1–16.
59. Rossi A, Hoogeveen IJ, Bastek VB, de Boer F, Montanari C, Meyer U, et al. Dietary lipids in glycogen storage disease type III: A systematic literature study, case studies, and future recommendations. *J Inherit Metab Dis*. 2020 Jul 1;43(4):770–7.
60. Ross KM, Ferrecchia IA, Dahlberg KR, Damska M, Ryan PT, Weinstein DA. Dietary Management of the Glycogen Storage Diseases: Evolution of Treatment and Ongoing Controversies. *Adv Nutr*. 2020 Mar 1;11(2):439–46.
61. Labrador E, Weinstein DA. Glycogen Storage Disease Type VI. *GeneReviews®*. 2019 Nov 27;1–14.
62. Grünert SC, Hannibal L, Spiekerkoetter U. The Phenotypic and Genetic Spectrum of Glycogen Storage Disease Type VI. *Genes (Basel)*. 2021 Aug 1;12(8):1–10.
63. Boers SJB, Visser G, Smit PGPA, Fuchs SA. Liver transplantation in glycogen storage disease type I. *Orphanet J Rare Dis*. 2014 Apr 9;9(1):1–7.
64. Derks TGJ, Rodriguez-Buritica DF, Ahmad A, de Boer F, Couce ML, Grünert SC, et al. Glycogen Storage Disease Type Ia: Current Management Options, Burden and Unmet Needs. *Nutrients*. 2021 Nov 1;13(11):1–17.
65. Herbert M, Goldstein JL, Rehder C, Austin S, Kishnani PS, Bali DS. Phosphorylase Kinase Deficiency. *GeneReviews®*. 2018 Nov 1;1–30.
66. Schreuder AB, Rossi A, Grünert SC, Derks TG. Glycogen Storage Disease Type III. *GeneReviews®*. 2022 Jan 6;1–21.
67. Chou JY, Jun HS, Mansfield BC. Glycogen storage disease type I and G6Pase- β deficiency: etiology and therapy. *Nat Rev Endocrinol*. 2010 Dec;6(12):676–88.

68. Péanne R, de Lonlay P, Foulquier F, Kornak U, Lefeber DJ, Morava E, et al. Congenital disorders of glycosylation (CDG): Quo vadis? *Eur J Med Genet.* 2018 Nov 1;61(11):643–63.
69. Witters P, Cassiman D, Morava E. Nutritional Therapies in Congenital Disorders of Glycosylation (CDG). *Nutrients.* 2017 Nov 1;9(11):1–10.
70. Chang IJ, He M, Lam CT. Congenital disorders of glycosylation. *Ann Transl Med.* 2018 Dec;6(24):477–477.
71. Sparks SE, Krasnewich D; M, Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM. Congenital Disorders of N-Linked Glycosylation and Multiple Pathway Overview. *GeneReviews®.* 2017;1–23.
72. Colantuono R, D’Acunto E, Melis D, Vajro P, Freeze HH, Mandato C. Liver Involvement in Congenital Disorders of Glycosylation: A Systematic Review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2021 Oct 1;73(4):444–54.
73. Sparks SE, Krasnewich DM. PMM2-CDG. *GeneReviews®.* 2021 May 20;1–28.
74. Klouwer FCC, Berendse K, Ferdinandusse S, Wanders RJA, Engelen M, Poll-The BT. Zellweger spectrum disorders: clinical overview and management approach. *Orphanet J Rare Dis.* 2015 Dec 1;10(1):1–11.
75. Steinberg SJ, Raymond G V, Braverman NE. Zellweger Spectrum Disorder. *GeneReviews®.* 2020;1–24.
76. Crane DI. Revisiting the neuropathogenesis of Zellweger syndrome. *Neurochem Int.* 2014;69(1):1–8.
77. Anderson JN, Ammous Z, Eroglu Y, Hernandez E, Heubi J, Himes R, et al. Cholbam® and Zellweger spectrum disorders: treatment implementation and management. *Orphanet J Rare Dis.* 2021 Dec 1;16(1):1–13.
78. Kobelska-Dubiel N, Klinecicz B, Cichy W. Liver disease in cystic fibrosis. *Prz Gastroenterol.* 2014;9(3):136–41.
79. Fiorotto R, Strazzabosco M. Pathophysiology of Cystic Fibrosis Liver Disease: A Channelopathy Leading to Alterations in Innate Immunity and in Microbiota. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019 Jan 1;8(2):197–207.
80. Galante G, Freeman AJ. Gastrointestinal, Pancreatic, and Hepatic Manifestations of Cystic Fibrosis in the Newborn. *Neoreviews.* 2019 Jan 1;20(1):e12–24.
81. Staufer K. Current Treatment Options for Cystic Fibrosis-Related Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 2;21(22):1–22.

82. Dickinson KM, Collaco JM. Cystic Fibrosis. *Pediatr Rev.* 2021 Feb 1;42(2):1–24.
83. Cheng K, Ashby D, Smyth RL. Ursodeoxycholic acid for cystic fibrosis-related liver disease. *Cochrane database Syst Rev.* 2017 Sep 11;9(9):1–27.
84. Fischler B, Lamireau T. Cholestasis in the newborn and infant. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2014 Jun 1;38(3):263–7.
85. Monajemzadeh M, Shahsiah R, Vasei M, Tanzifi P, Rezaei N, Najafi M, et al. Alpha 1 Antitrypsin Deficiency in Infants with Neonatal Cholestasis. *Iran J Pediatr.* 2013;23(5):501–7.
86. Stoller JK, Lachawan FL, Aboussouan LS. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *GeneReviews.* 2020 May 21;1–24.
87. Bosch i Ara L, Katugampola H, Dattani MT. Congenital Hypopituitarism During the Neonatal Period: Epidemiology, Pathogenesis, Therapeutic Options, and Outcome. *Front Pediatr.* 2021 Feb 2;8:1–17.
88. Kurtoğlu S, Özdemir A, Hatipoğlu N. Neonatal Hypopituitarism: Approaches to Diagnosis and Treatment. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2019 Mar 1;11(1):4–12.
89. Parks JS. Congenital Hypopituitarism. *Clin Perinatol.* 2018 Mar 1;45(1):75–91.
90. Van Trotsenburg P, Stoupa A, Léger J, Rohrer T, Peters C, Fugazzola L, et al. Congenital Hypothyroidism: A 2020–2021 Consensus Guidelines Update—An ENDO-European Reference Network Initiative Endorsed by the European Society for Pediatric Endocrinology and the European Society for Endocrinology. *Thyroid.* 2021 Mar 1;31(3):387–419.
91. Vilarinho L, Garcia P, Costa P. Programa Nacional de Rastreio Neonatal. 2021. 1–116 p.
92. Zimmer KP. Newborn screening: Still room for improvement. *Dtsch Arztebl Int.* 2020;118(7):99–100.
93. Lüders A, Blankenstein O, Brockow I, Ensenaer R, Lindner M, Schulze A, et al. Neonatal screening for congenital metabolic and endocrine disorders. *Dtsch Arztebl Int.* 2020;118(7):101–8.
94. Therrell BL, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo GJC, et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. *Semin Perinatol.* 2015;39(3):171–87.
95. Castiñeras DE, Couce M-L, Marín JL, González-Lamuño D, Rocha H. Newborn screening for metabolic disorders in Spain and worldwide. *An Pediatría (English Ed.* 2019;91(2):128e.1-128e.14.

