

Aspetos diagnósticos, terapêuticos e prognósticos das doenças colestáticas neonatais de causa genética

Ana Catarina Ramos Maia

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

Orientador: Prof. Doutor Jorge Luiz dos Santos

abril de 2022

Agradecimentos

Esta dissertação foi um grande desafio, que marca o final de uma jornada de seis anos do Curso de Medicina, que não se teria concretizado sem o apoio de algumas pessoas às quais gostava de deixar umas palavras de apreço.

Ao Professor Doutor Jorge Luiz dos Santos pela disponibilidade para me orientar, pela partilha de ideias e por toda aprendizagem que me passou ao longo deste percurso.

Aos meus pais por serem o meu pilar e me encorajarem a percorrer o sonho de me tornar numa boa médica.

Ao Jorge e à Beatriz por não me deixarem desanimar quando as dificuldades surgem e pelo apoio incondicional em todos os momentos.

À minha família e amigos.

Muito obrigada a todos.

Resumo

A colestase neonatal é uma das formas mais comuns de doença hepática na infância e afeta cerca de 1:2500 recém-nascidos. A etiologia divide-se entre intra- e extra-hepáticas e dentro do primeiro grupo incluem-se as causas genéticas, que resultam em distúrbios no metabolismo, defeitos da embriogénese ou da morfologia biliar, entre outros. Estas doenças associam-se a um impacto significativo na morbimortalidade e no número de transplantes hepáticos em idade pediátrica. A sua identificação precoce é de extrema importância, uma vez que pode permitir uma janela de oportunidade para intervir de maneira a obter um melhor prognóstico.

O objetivo desta Dissertação foi apresentar uma revisão atualizada sobre as causas genéticas de doença colestática neonatal, em particular os achados clínicos, métodos de diagnóstico, abordagens terapêuticas e aspetos do prognóstico. Para tal, realizou-se uma pesquisa na PubMed e ainda a consulta de alguns livros relevantes da área.

Nesta Revisão constatou-se um grande avanço nos meios de diagnóstico com o desenvolvimento do *Next-generation sequencing*, que permitem a confirmação do diagnóstico, quando os estudos bioquímicos e histopatológicos não são suficientes. Além disso, verificou-se que há cada vez mais conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da colestase neonatal, o que tem permitido a identificação de novos alvos terapêuticos que poderão melhorar o tratamento e qualidade de vida destas crianças.

Palavras-chave

Colestase neonatal; Genética; Diagnóstico; *Next-generation sequencing*

Abstract

Neonatal cholestasis is one of the most common forms of childhood liver disease and affects approximately 1:2500 newborns. The etiology is classified into intra- or extrahepatic. The first group includes genetic causes, for example, metabolic disorders, defective embryogenesis, or biliary morphology, among others. These diseases are associated with a significant impact on morbimortality and the number of pediatric liver transplants. Its early identification is extremely important, as it may allow a window of opportunity to intervene to obtain a better prognosis.

The goal of this Dissertation was to present an up-to-date review of genetic causes of neonatal cholestatic disease, in particular the clinical findings, diagnostic methods, therapeutic approaches, and aspects of prognosis. For this, a PubMed search was conducted, but also some relevant books were consulted.

In this Review, great progress was found in the diagnostic methods with the development of next-generation sequencing, which confirms the diagnosis, when biochemical and histopathological studies are insufficient. In addition, it was verified that there is increasing knowledge of the pathophysiological mechanisms of neonatal cholestasis, which has allowed the identification of new therapeutic targets that could improve the treatment and quality of life of these newborns.

Keywords

Neonatal cholestasis; Genetic; Diagnosis; Next-generation sequencing

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Lista de Figuras.....	xi
Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Acrónimos e Abreviaturas.....	xv
1. Introdução	1
1.1. Anatomia e Fisiologia hepatobiliar	1
1.2. Colestase neonatal: conceito e etiopatogenia	3
2. Objetivos	5
3. Métodos.....	7
4. Colestase neonatal de causa genética	9
4.1. Síndrome de Alagille.....	9
4.2. Deficiência de alfa-1 antitripsina	11
4.3. Doença hepática associada a Fibrose Quística.....	13
4.4. Colestase intra-hepática familiar progressiva (PFIC)	15
4.5. Erros inatos do metabolismo de ácidos biliares	17
4.6. Colangite Esclerosante Neonatal	18
4.7. Doença Hepática Poliquística.....	19
4.8. Hipopituitarismo congénito.....	19
4.9. Distúrbios de armazenamento	20
4.9.1. Lisossomopatias	20
4.9.2. Glicogenose Tipo IV	21
4.10. Hepatopatias mitocondriais	22
4.10.1. Defeitos na cadeia respiratória.....	22
4.10.2. Defeitos no ciclo da ureia	23
4.10.2.1. Deficiência da ornitina-transcarbamilase	23
4.10.2.2. Deficiência de citrina.....	24
4.10.3. Mitocondriopatias associadas ao metabolismo dos ácidos gordos	25
4.11. Intoxicações metabólicas	25
5. Testes empregues na diferenciação diagnóstica de doenças colestáticas de causa genética	27
6. Next-Generation Sequencing (NGS)	29
7. Evolução do diagnóstico, terapêutica e prognóstico	31
8. Conclusão.....	35
9. Bibliografia.....	37

Lista de Figuras

Figura 1. Síntese e metabolização do composto (ácido/sal) biliar cólico (página 2)

Figura 2. Fluxograma para investigação e abordagem de DHFQ (página 14)

Figura 3: Alvos para novas terapêuticas da colestase neonatal (página 32)

Lista de Tabelas

Tabela 1: Diagnóstico diferencial da colestase neonatal (página 4)

Tabela 2: Achados na Síndrome de Alagille (página 10)

Tabela 3: Manifestações clínicas sugestivas de DA1AT (página 11)

Tabela 4: Características e fatores de risco para DA1AT na infância (página 12)

Tabela 5: Achados sugestivos de DHFQ (página 14)

Tabela 6: Indicações para transplante hepático nas DHFQ (página 15)

Tabela 7: Achados típicos das diferentes variantes genéticas de PFIC (página 16)

Tabela 8: Erros inatos do metabolismo de ácidos biliares (página 18)

Tabela 9: Resumo das diferenças histológicas de causas de colestase neonatal (página 27)

Tabela 10: Mutações de causas genética de colestase neonatal (página 29-30)

Lista de Acrónimos e Abreviaturas

3βHSD	3 β -hidroxi-C27-esteróide-oxidorreductase
4-PB	4-fenilbutirato
A1AT	Alfa-1-antitripsina
AB	Ácidos biliares
ABCD3	ATP-binding-cassette-subfamily-D-member-3
AE2	<i>Chloride–bicarbonate anion exchanger 2</i>
AGC2	<i>Aspartate glutamate carrier 2</i> ou Citrina
AINEs	Anti-inflamatórios não-esteroides
AngioTC/RM	Angiografia guiada por tomografia computadorizada/ressonância magnética
ALT	Alanina aminotransferase
AMACR	2-metilacil-CoA racemase
ARPKD	Doença Renal Poliquística Autossómica Recessiva
ASBT	<i>Apical sodium-bile acid transporter</i>
ASMD	Deficiência de esfingomielinase ácida
AST	Aspartato aminotransferase
ATP8B1	<i>Phospholipid-transporting ATPase IC</i>
BAAT	<i>Aminoácido-N-aciltransferase</i>
BD	Bilirrubina direta/conjugada
BRIC	<i>Benign recurrent intrahepatic cholestasis</i>
BSEP	<i>Bile salt export pump</i>
CFTR	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>
CTLN2	Citrulinemia tipo 2
D4O5βR	Δ 4-3-oxoesteróide-5 β -reductase
DA1AT	Deficiência de alfa-1-antitripsina
DCDC2	<i>Doublecortin domain containing 2</i>
DGUOK	Deoxiguanosina cinase
DHFQ	Doença hepática associada a Fibrose Quística
DHP	Doença hepática poliquística
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crónica
FA	Fosfatase alcalina
FIC1	<i>Familial intrahepatic cholestasis 1</i>
FQ	Fibrose Quística
FTTDCD	<i>Failure to thrive and dyslipidemia caused by citrin deficiency</i>

FXR	<i>Farnesoid X receptor</i>
GAL-1-PUT	Galactose-1-fosfato uridililtransferase
GGT	Gama-glutamiltransferase
GSD IV	Glicogenose Tipo IV
HDL	Lipoproteína de alta intensidade
MCADD	Deficiência da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia média
MCT	Triglicerídeos de cadeia média
MDR3	<i>Multidrug resistance-protein 3</i>
MRP3	<i>Multidrug resistance-associated protein 2</i>
MRP3	<i>Multidrug resistance-associated protein 3</i>
MRP4	<i>Multidrug resistance-associated protein 4</i>
MYO5B	Miosina 5B
NGS	<i>Next-generation sequencing</i>
NICCD	<i>Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency</i>
NTBC	<i>2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzol)-1,3-cyclohexanedione</i>
NTCP	<i>Sodium/taurocholate co-transporting polypeptide</i>
OAT1B1/3	<i>Organic-anion-transporting polypeptide 1B e 1B3</i>
OSTα/β	<i>Organic solute transporter-α/β</i>
OTC	Ornitina-transcarbamilase
PFIC	Colestase intra-hepática familiar progressiva
RMN	Ressonância magnética
SALG	Síndrome de Alagille
T3	Triiodotironina
TC	Tomografia computadorizada
TGR5	<i>Membrane-bound Takeda G protein-coupled receptor</i>
TGS	<i>Targeted genes sequencing</i>
UDCA	Ácido ursodesoxicólico
WES	<i>Whole exome sequencing</i>
WGS	<i>Whole genome sequencing</i>

1. Introdução

1.1. Anatomia e Fisiologia hepatobiliar

O sistema hepatobiliar é constituído pelo fígado, vias biliares e vesícula biliar. O fígado é o maior órgão interno, localizado no quadrante superior direito e parcialmente no quadrante superior esquerdo do abdómen. O parênquima hepático é constituído por hepatócitos e sinusóides hepáticos, separados por espaços de Disse. Desempenha diversas funções vitais, entre as quais a síntese da bÍlis e da maioria das proteínas séricas essenciais (albumina, fatores de coagulação, fatores de crescimento), a regulação de nutrientes e micronutrientes (glicose, glicogênio, lípidos, colesterol, aminoácidos, vitaminas A, K, E, D e B12, folato, ferro e cobre) e funções endócrinas (conversão da vitamina D, conversão da tiroxina em T₃, secreção da hormona de crescimento, degradação da insulina e glucagon).(1,2)

A bÍlis é uma secreção amarelo-esverdeada, constituída por água, ácidos biliares (AB), eletrólitos, fosfolípidos, colesterol, bilirrubina, proteínas e xenobióticos.(2)

Os AB, na forma de sais biliares, são o principal componente orgânico da bÍlis. São sintetizados a partir do colesterol pela colesterol-7 α -hidroxilase (CYP7A1) nos hepatócitos. Geram-se AB primários, o ácido cólico e o ácido quenodesoxicólico, que posteriormente são conjugados com glicina ou taurina nos peroxissomas, tornando-se sais biliares, compostos eficazes na emulsificação dos lípidos por apresentarem uma constante de dissociação de ácido (pKa) mais baixa (**Figura 1**). Posteriormente, são transportados para os canalículos biliares via *Bile salt export pump* (BSEP), juntamente com AB secundários re-conjugados provenientes da circulação entero-hepática. Outras moléculas, como fosfolípidios, glutatona, aniões orgânicos também atravessam a membrana canalicular através dos seus transportadores-dependentes-de-ATP específicos para formarem a bÍlis. No intestino, sob ação da microbiota intestinal, os AB primários são desconjugados e desidroxilados, resultando os AB secundários, o ácido desoxicólico e o ácido litocólico, que são depois absorvidos passivamente pela membrana celular, no íleo e intestino grosso. No entanto, a maioria dos AB primários permanecem conjugados e são transportados para o íleo distal através do *Apical sodium-bile acid transporter* (ASBT) e depois para a circulação portal pelos *Organic solute transporter- α/β* (OST α/β) ou MRP3, regressando ao fígado via *Sodium/taurocholate co-transporting polypeptide* (NTCP) e *Organic-anion-transporting-polypeptide 1B1 e 1B3* (OAT1B1/3), completando assim o processo

denominado de circulação entero-hepática. A homeostase dos AB possui um controlo rigoroso, principalmente pelo *Farnesoid-X-receptor* (FXR). O fator de crescimento de fibroblastos-19 (FGF19) é uma das proteínas mediadoras da regulação nuclear hepatocitária, regulando a expressão de CYP7A1 e controlando a absorção ileal de AB através do ASBT.(3–6)

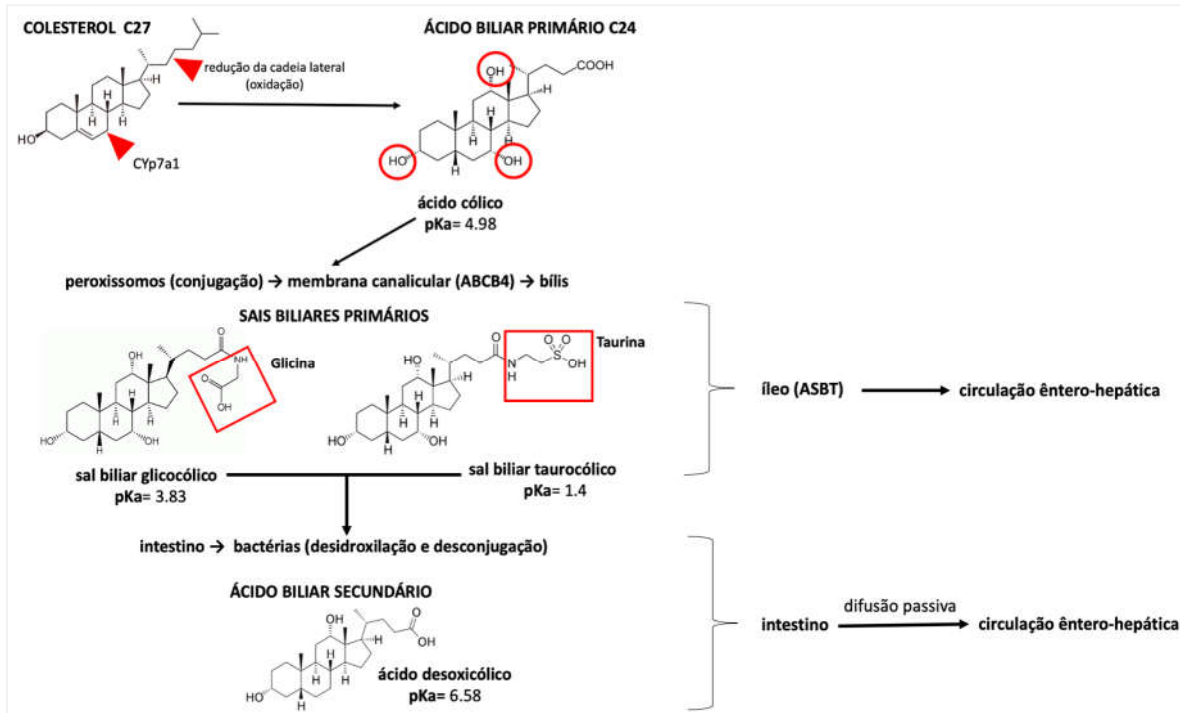


Figura 1. Síntese e metabolização do composto (ácido/sal) biliar cólico.

Os fosfolípidos são moléculas que se associam aos sais biliares e ao colesterol para formar as micelas, tendo uma função protetora contra a ação detergente dos compostos sobre os colangiócitos.(2)

A bilirrubina origina-se a partir da molécula heme, que é oxidada pela biliverdina, depois reduzida a bilirrubina não-conjugada/indireta e sofre conjugação com uma a duas moléculas de ácido glucurónico, um processo que aumenta a solubilidade e reduz a sua citotoxicidade. Assim, a bilirrubina conjugada/direta (BD) é a forma predominante na bÍlis e é depois eliminada nas fezes.(2,3)

A bÍlis é secretada dos hepatócitos para uma rede de canalículos (existentes entre as duplas de hepatócitos) e daí segue para os dúctulos, formados por colangiócitos, que possuem o *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR) e *Chloride-bicarbonate anion exchanger 2* (AE2), que secretam cloreto e bicarbonato na bÍlis.(4,6)

Dos ductulos, a bÍlis segue para ductos progressivamente maiores até ao ducto hepático comum, que quando alcançado pelo ducto cístico da vesícula biliar formam o ducto colédoco, que penetra o duodeno pela ampola de Vater. Entre as refeições, a bÍlis sofre um desvio e é armazenada na vesícula biliar, esvaziando-se quando presentes alimentos no trato gastrointestinal superior. (2,4)

1.2. Colestase neonatal: conceito e etiopatogenia

A colestase neonatal é o distúrbio do fluxo biliar, por alterações anatômicas ou funcionais do sistema hepatobiliar, com início nos primeiros 3 meses de vida. É uma das formas mais frequentes de doença hepática na infância e afeta cerca de 1:2500 recém-nascidos. As principais manifestações clínicas incluem icterícia, hipocolia/acolia fecal, colúria, prurido e xantomas. Laboratorialmente, caracteriza-se por concentrações séricas elevadas de BD>1mg/dL, sais biliares ou seus precursores metabólicos, colesterol e gama-glutamilttransferase (GGT). Nas crianças e adolescentes, a fosfatase alcalina (FA) tem um papel menos relevante no diagnóstico de colestase, devido ao metabolismo ósseo característico desta faixa etária.(4,7)

Em relação à cor das fezes, a detecção da hipocolia/acolia fecal pode contribuir para o diagnóstico precoce de doença colestática, por esse motivo, alguns países já utilizam a escala colorimétrica das fezes para seguimento dos recém-nascidos.(7)

Pode resultar de uma ampla variedade de patologias que podem ser agrupadas em intra- ou extra-hepáticas, como se visualiza na **Tabela 1**.

A etiologia mais comum é a Atresia biliar (25-55%) que resulta de um processo inflamatório progressivo com fibrose e obstrução dos ductos biliares. A sua detecção precoce é crucial para que se realize tratamento cirúrgico (portoenterostomia de Kasai) nas primeiras 8 semanas, de maneira a restabelecer o máximo possível de fluxo biliar.(4,8,9)

Apesar das causas genéticas de doença colestática serem menos comuns, estima-se que 10% dos casos sejam por Deficiência de alfa1-antitripsina (DA1AT) e 25% por causas hereditárias de colestase intra-hepática, que incluem a Síndrome de Alagille (SALG), a Colestase intra-hepática familiar progressiva (PFIC), o Erro inato do metabolismo dos ácidos biliares, entre outras.(3,7)

Tabela 1: Diagnóstico diferencial da colestase neonatal.(7)

Causas intra-hepáticas	
A.	Colestase/Hepatite neonatal idiopática
B.	Defeitos da embriogênese <ol style="list-style-type: none"> 1. Síndrome de Alagille 2. Malformação de placa ductal (ARPKD, doença de Caroli)
C.	Defeitos da biossíntese e conjugação de sais biliares <ol style="list-style-type: none"> 1. Deficiência da $\Delta 4$-3-oxoesteróide-5β-redutase 2. Deficiência da 3β-hidroxi-C27-esteróide-oxidoreductase 3. Deficiência de oxisterol-7α-hidroxilase 4. Deficiência de BACAT (hipercolenemia familiar)
D.	Defeitos do transporte e secreção por membrana <ol style="list-style-type: none"> 1. Defeitos de secreção canalicular <ol style="list-style-type: none"> a. Transporte de sais biliares→deficiência de BSEP <ol style="list-style-type: none"> i. Persistente progressiva (PFIC tipo 2) ii. Recorrente benigna (BRIC tipo 2) b. Transporte de fosfolípidos→deficiência de MDR3 (PFIC tipo 3) c. Transporte iônico→fibrose quística (CFTR) 2. Defeitos complexos ou multiorgânicos <ol style="list-style-type: none"> a. Deficiência de FIC→distúrbio na translocação de fosfatidilserina <ol style="list-style-type: none"> i. Persistente, progressiva (PFIC tipo 1, doença de Byler) ii. Recorrente benigna (BRIC tipo 1) b. Colangite esclerosante neonatal c. Disfunção artrogrípese-renal-colestase
E.	Doenças hepáticas metabólicas <ol style="list-style-type: none"> 1. Patologias glandulares: hipotireoidismo, hipopituitarismo 2. Com envolvimento do trato biliar: deficiência de alfa-1-antitripsina, fibrose quística 3. Sem envolvimento do trato biliar <ol style="list-style-type: none"> a. Defeito do metabolismo dos hidratos de carbono: galactosemia, intolerância hereditária b. Defeito do metabolismo dos aminoácidos: tirosinemia c. Defeito do metabolismo dos lípidos: doença de Wolman, Niemann-Pick, Gaucher d. Defeito do metabolismo dos sais biliares secundária: síndrome de Zellweger e. Defeito no trânsito molecular mitocôndria-citoplasma: deficiência de citrina f. Outras hepatopatias mitocôndrias, hemocromatose neonatal
F.	Infeções congênitas <ol style="list-style-type: none"> 1. Parasitária: toxoplasmose 2. Viral: rubéola, citomegalovírus, herpes simples, vírus hepatotrópicos (A, B e C), parvovírus 19, varicela, paramixovírus, sépsis entérica viral (echo-, coxsackie e adenovírus) 3. Bacteriana: sífilis, sépsis bacteriana, infecção do trato urinário, listeriose, tuberculose
G.	Patologia imune <ol style="list-style-type: none"> 1. Lúpus eritematoso neonatal, hepatite neonatal com anemia hemolítica autoimune
H.	Associada à nutrição parenteral total
I.	Miscelânea <ol style="list-style-type: none"> 1. Histiocitose X 2. Choque e hipoperfusão 3. Asfixia neonatal 4. Associada com obstrução intestinal 5. Hepatite fibrosante com leucemia transitória (trissomia do 21)
Causas extra-hepáticas	
Atresia biliar	
Quisto do colédoco	
Perfuração espontânea do ducto biliar comum	
Lama biliar e colelitíase	

2. Objetivos

O objetivo desta Dissertação é apresentar uma revisão de literatura atualizada sobre o tema descrito no título e, assim, pretenderá contribuir no reconhecimento de causas genéticas de colestase neonatal e sua abordagem.

3. Métodos

Para a realização desta Dissertação foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed entre junho e julho de 2021, através da seguinte chave de palavras: ("liver disease" OR cholestasis) AND (child OR children OR pediatric OR infant OR infantile OR neonatal OR neonate)) AND ("intrahepatic neonatal cholestasis" OR "Idiopathic neonatal hepatitis" OR "Alagille syndrome" OR NOTCH OR JAGGED OR ARPKD OR ADPKD OR (Caroli AND (disease OR syndrome)) OR "Joubert syndrome" OR "COACH syndrome" OR "Meckel syndrome" OR "Renal-hepatic-pancreatic dysplasia" OR NPHP3 OR "congenital hepatic fibrosis" OR cilia OR cilium OR ciliopathy OR ("Disorder of bile acid" AND (synthesis OR conjugation)) OR " Δ 4-3-Oxosteroid 5 β -reductase" OR "3 β -hydroxy-5-C27-steroid dehydrogenase" OR "Oxysterol 7 α -hydroxylase deficiency" OR "BACAT deficiency" OR "familial hypercholanemia" OR "Alpha-methylacyl-CoA racemase function disorder" OR "AMACR function disorder" OR "progressive familial intrahepatic cholestasis" OR PFIC OR "benign recurrent intrahepatic cholestasis" OR BRIC OR "Cystic fibrosis" OR "Neonatal sclerosing cholangitis" OR "Arthrogyrosis-renal dysfunction-cholestasis (ARC) syndrome" OR VPS33B OR VIPAS39 OR "Cerebrotendinous xanthomatosis" OR ((Primary or Secondary) AND "disorder of bile acid" AND (metabolism OR synthesis)) OR CYP27A1 OR "Congenital disorders of glycosylation" OR CDG OR ALG3 OR ALG8 OR GLS1 OR PMM2 OR MPI OR COG1 OR COG7 OR ATP6AP1 OR "Zellweger syndrome" OR "Zellweger syndrome spectrum" OR "peroxisome disorder" OR PEX OR "Refsum disease" OR "Urea cycle disorder" OR citrullinemia OR "citrin deficiency" OR SLC25A13 OR (mitochondrial AND (liver OR hepatic) AND (disease OR disorder)) OR "mitochondrial depletion syndrome" OR dGK OR POLG OR MPV17 OR "complex III deficiency" OR BCS1L OR "Disturbance of nuclear bile acid receptor function" OR "FXR function defect" OR hypothyroidism OR hypopituitarism OR " α 1-antitrypsin deficiency" OR "A1AT deficiency" OR A1AD OR AATD OR "carbohydrate metabolism disorder" OR Galactosaemia OR Galactosemia OR "Fructose hereditary intolerance" OR "Glycogen storage disease" OR GSD OR "carbohydrate deficient-protein syndrome" OR "Disorder of amino acid metabolism" OR Tyrosinemia OR "Disorder of lipid metabolism" OR ((Wolman OR Niemann-Pick OR Gaucher OR Farber OR "cholesterol ester storage") AND disease) OR Mucopolipidosis OR sialidosis OR "GM1 Gangliosidosis" OR mucopolysaccharidosis OR MPS OR "neonatal hepatitis with autoimmune hemolytic anemia" OR "gestational alloimmune liver disease" OR (neonatal AND (hemochromatosis OR haemochromatosis)) OR "biliary atresia" OR "extrahepatic neonatal cholestasis" OR epigenetic) AND ("Genetic Databases" OR "Inborn Genetic Diseases" OR "Genetic Predisposition to Disease" OR "Genetic Heterogeneity" OR

“Genetic Variation” OR “Genetic Polymorphism” OR mutation OR “Genetic Carrier Screening” OR “Genetic Testing” OR “Genetic Markers” OR “Genetic Counseling” OR “Genetic Profile” OR “Molecular Epidemiology” OR “next generation sequencing” OR NGS OR “whole exome sequencing” OR WES).

Foram obtidos 150 resultados, dos quais se selecionaram **64** artigos após a aplicação dos seguintes critérios:

a) CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

1. Estudos preferencialmente de revisão e meta-análises;
2. Artigos publicados entre janeiro de 2011 e julho de 2021;

b) CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

1. Textos noutras línguas que não português, inglês ou espanhol;
2. Estudos experimentais realizados em animais;
3. Estudos de descrição de casos isolados;
4. Artigos publicados anteriormente a 2011.

Para além destes artigos, foram incluídos livros e publicações consideradas relevantes pelo Orientador.

4. Colestase neonatal de causa genética

A colestase neonatal genética engloba um conjunto heterogêneo de doenças, maioritariamente intra-hepáticas, crônicas e, em alguns casos, clinicamente semelhantes, mas com patogênese e prognósticos diferentes.(10)

Pode resultar de mutações de genes que regulam a síntese de AB (AKR1D1, AMACR, CYP7B1, HSD3B7, CYP7A1 e CYP27A1), conjugação (BAAT e SLC27A5) ou o transporte biliar (ABCB11, ABCB4, FXR, ATP8B1, ABCC2 e SLC10A1); a estrutura das junções de oclusão (CLDN1, TJP2 e MYO5B); o trânsito iônico na membrana apical dos colangiócitos (CFTR); ou o DNA mitocondrial ou complexos da cadeia respiratória (POLG, DGUOK e MPV17). Outras mutações podem levar à disfunção metabólica hepatocelular (tirosinemia, intolerância hereditária à frutose ou galactosemia), ao stress do retículo endoplasmático (A1AT) e a defeitos da embriogênese ou morfologia dos ductos biliares (JAGGED1, NOTCH2, DCDC2 ou PKHD1). Além disso, recentemente foi descoberto que mutações no gene PKD1L1 podem estar na origem de atresia biliar associada a malformação esplênica.(4)

4.1. Síndrome de Alagille

A SALG é uma doença multissistémica autossómica dominante causada por mutações de genes envolvidos na via de sinalização Notch, o JAG1 (94-96%) e o NOTCH2 (2-3%). Estima-se que a sua prevalência seja de 1:70000 nascimentos, no entanto os estudos moleculares apontam para uma incidência superior.(11,12)

O papel da sinalização Notch no desenvolvimento de vários órgãos, nomeadamente dos ductos biliares, rim e vasos, explica alguns achados.(13–15) Os mais frequentes são a ductopenia intra-hepática, associada a 3 das seguintes 5 manifestações clássicas: colestase, cardiopatias congénitas, vértebras em asa-de-borboleta, embriotoxon posterior e fácies característica.(12) Adicionalmente, reconhece-se uma alta percentagem de doentes com anomalias renais e vasculares, nomeadamente a malformação moya-moya do sistema nervoso central (**Tabela 2**).(14,16) De notar que existe uma variabilidade clínica significativa, inclusive intrafamiliar, e uma taxa elevada de cerca de 60% de probandos com mutações *de novo*.(11,12,16)

Na avaliação histopatológica, a ductopenia biliar define-se por um rácio do trato portal <0.5 (normal: 0.9-1.8) num estudo de pelo menos 6 tratos portais,

preferencialmente 10 a 20. O mecanismo de progressão nos primeiros meses é desconhecido, mas pode estar relacionado com a conclusão do desenvolvimento dos ductos biliares no período pós-natal. Se a ductopenia biliar não estiver estabelecida ao nascimento, coloca-se a hipótese de uma janela de oportunidade para intervenção.(11)

A avaliação destes doentes deve incluir: função hepática, GGT, colesterol e triglicerídeos, AB, hemograma completo, estudo da coagulação, ecografia hepática; ecocardiograma; função renal, análise de urina, medição de pressão arterial e ecografia renal (pode ser complementada com AngioTC/RM); radiografia anteroposterior à coluna; avaliação oftalmológica; e avaliação nutricional. A identificação das mutações JAG1 ou NOTCH2 confirmam até 96% das suspeitas de SALG pela clínica e para os restantes casos, em que não foram identificadas uma destas mutações, a aplicação de *next-generation sequencing* (NGS) pode ser útil a identificar a mutação causal. Além disso, auxilia a identificação de SALG sem evidência clínica e/ou histopatológica típicas e no aconselhamento genético.(11,14)

Achados clínicos	Prevalência	Comentário
Alterações hepáticas	≤100%	Ductopenia biliar. Colestase neonatal com prurido, xantomas, deficiência de vitaminas lipossolúveis, doença-hepática-avançada.
Malformações cardíacas/vasculares	90%-97%	As mais comuns são a estenose pulmonar (67%) e a tetralogia de Fallot (7-16%).
Embriotoxon posterior	78%-89%	Não afeta a acuidade visual.
Doença renal	39%	Rim hiperecótico pequeno, obstrução uretero-pélvica, quistos renais. Acidose tubular renal. Hipertensão e estenose artéria renal em adulto.
Anomalias vertebrais	33%-93%	Vértebras em asa-de-borboleta
Fácies típica	77%-97%	Face de formato triangular com fronte proeminente e queixo pontiagudo, ponta do nariz bulbosa, olhos com implantação funda e hipertelorismo.
Atraso do crescimento	50-90%	Talvez devido à má nutrição/má absorção.
Atraso motor	16%	
Comprometimento intelectual	2%	Dados de um estudo de 1999. Possivelmente superior.
Acidentes neurovasculares	15%	Estudos apontam para 34% da mortalidade.

O tratamento é sobretudo de suporte. As medidas anti-prurido incluem: ácido ursodesoxicólico (UDCA) ou colestiramina como primeira linha; anti-histamínicos, rifampicina e colesevelam como segunda e terceira linha. Nos casos refratários é possível a derivação biliar. O suporte nutricional é importante e alguns doentes podem beneficiar de alimentação nasogástrica durante a noite e suplementação de vitaminas lipossolúveis e de triglicerídeos de cadeia média (TCM). O transplante hepático é uma boa opção terapêutica nos doentes com doença hepática grave ou com prurido intolerável, refratário ao tratamento, e é necessário em 10-30% dos casos, maioritariamente aos 3-5 anos. Antes do transplante, deve-se avaliar o rim, visto que a insuficiência renal agrava após a

transplantação e recomenda-se o seu seguimento por um nefrologista. Estes doentes devem receber um reforço da imunização.(11,14,17)

4.2. Deficiência de alfa-1 antitripsina

A DA1AT é a causa genética mais comum de doença hepática na infância e um dos distúrbios metabólicos herdados mais comuns na população do Norte da Europa.(18,19) Afeta cerca de 1:2000-1:3000 recém-nascidos na maioria das populações.(19,20) É uma doença resultante da mutação do gene SERPINA1 localizado no cromossoma 14 e que codifica a alfa-1-antitripsina (A1AT).(18,21)

A A1AT é um inibidor de proteases sintetizado principalmente por hepatócitos, mas também por neutrófilos, monócitos e células epiteliais do pulmão e intestino. A sua principal função é a regulação dos efeitos proteolíticos da elastase neutrofílica, que provocam inflamação e alterações da matriz extracelular. Além disso, a A1AT é uma proteína de fase aguda com propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras.(21)

A DA1AT associa-se a doença pulmonar e hepática, mas também pode apresentar granulomatose com poliangeíte e paniculite, como pode ser visto na **Tabela 3**.(18,21)

Tabela 3: Manifestações clínicas sugestivas de DA1AT. (18)	
Achados clínicos	% de casos com o achado
<i>Doença pulmonar:</i>	
DPOC (enfisema, bronquite crónica) Bronquiectasia	60%-80% ~27% (~90% em PI*ZZ)
<i>e/ou algum dos seguintes achados:</i>	
Doença hepática Colestase neonatal Cirrose	~11% 12-40%
Paniculite necrotizante	Incomum
Granulomatose com poliangeíte (GPA)	Incomum

A doença hepática associada a DA1AT resulta da acumulação da A1AT mutada nos hepatócitos e não da sua diminuição sérica.(21) Apresenta dois picos, o primeiro do nascimento aos 5 anos e o segundo aos 50-65 anos.(22) Ocorre em cerca de 11% das crianças, manifestando-se como colestase neonatal (o achado mais comum e associado a gravidade), prurido, anorexia, hepatomegalia e esplenomegalia.(18,20,21) Pode progredir para cirrose, hepatocarcinoma ou, raramente, insuficiência hepática fulminante, no entanto, a maioria dos lactentes com DA1AT hepática evolui bem.(20,22)

Tem hereditariedade autossômica e codominante, ou seja, os dois alelos do gene estão ativos e contribuem para o traço genético, destacando-se os seguintes:

- **PI*M** ou alelo M é o mais comum e associa-se a concentração sérica e funcionamento de A1AT normais;
- **PI*Z** ou alelo Z é o alelo patogénico mais comum, resultando em deficiência quantitativa e funcional de A1AT;
- **PI*S** ou alelos S também se associa a níveis séricos menores de A1AT;
- **PI*F** ou alelo F associa-se a disfunção da proteína A1AT com níveis séricos normais;
- **PI*I** ou alelo I associa-se a deficiência quantitativa ligeira;
- **Alelos nulos** ou alelos QO associam-se a níveis indetetáveis.(18,20,21)

Nos recém-nascidos, os hepatócitos são menos eficazes a degradar a proteína Z mutante, daí apresentarem mais frequentemente afetação hepática. O genótipo PI*ZZ é o mais associado à doença hepática, sendo que 10% dos casos apresentam doença grave, no entanto, outros genótipos também podem causar doença hepática, como o PI*SZ. Já os heterozigotos PI*MZ parecem não desenvolver doença significativa além da elevação transitória das aminotransferases séricas. Doentes com o mesmo genótipo, mesmo irmãos, podem ter uma evolução clínica diferente, mas desconhece-se a razão. Na **Tabela 4** são apresentados alguns achados e fatores de risco para DA1AT hepática grave.(18,20,22)

Tabela 4: Características e fatores de risco para DA1AT na infância.(20)
Características clínicas que sugerem DA1AT PI*ZZ
Recém-nascido com aumento do nível de aminotransferases e/ou bilirrubina Recém-nascido com síndrome de hepatite neonatal Criança ou adolescente com hepatomegalia e/ou hepatoesplenomegalia Recém-nascido com atraso de crescimento Recém-nascido com coagulopatia por deficiência de vitamina K Criança ou adolescente com sintomas de doença hepática crônica Parente de primeiro grau do indivíduo PI*ZZ
Fatores que indicam um prognóstico potencialmente mais grave na doença hepática PI*ZZ
Parente PI*ZZ com doença hepática Colestase neonatal Sexo masculino Hiperbilirrubinemia persistente Hepatomegalia dura Esplenomegalia precoce Tempo de protrombina prolongado Nível de gama-glutamilttransferase persistentemente elevado

Face a suspeita de DA1AT, o diagnóstico pode ser confirmado através da evidência da diminuição quantitativa e/ou qualitativa de A1AT sérica, genotipagem de SERPINA1 e/ou tipagem do inibidor de protease. A biópsia hepática percutânea é um exame útil, pois, a

partir da 12^a semana de vida, mostra um achado característico, a presença de glóbulos citoplasmáticos PAS-positivos resistentes a diástase.(18)

Atualmente não há um tratamento específico, apenas medidas de suporte e o único tratamento curativo é o transplante hepático, que vai restaurar os níveis de A1AT. As indicações para transplante hepático incluem: colestase recorrente e persistente; agravamento do perfil de coagulação; níveis muito elevados das enzimas hepáticas; DA1AT grave associada a glomerulonefrite ou ascite por hipertensão portal.(20) Recomenda-se a vacinação contra a hepatite A e B na doença hepática; avaliações a cada 6-12 meses com avaliação da função pulmonar (espirometria, volume pulmonar, capacidade de difusão e oxigenação e, eventualmente, TC torácica), função hepática, contagem plaquetária e ecografia hepática, elastografia, ou ressonância magnética; evicção de tabagismo, exposições ocupacionais e excesso de álcool.(18,21) Todas as crianças com doença hepática devem ser referenciados para um hepatologista e devem ser monitorizados para sintomas de envolvimento pulmonar.(20)

4.3. Doença hepática associada a Fibrose Quística

A Fibrose Quística (FQ) é uma doença autossômica recessiva que afeta mais de 70.000 indivíduos em todo o mundo e cerca de 1:3000 recém-nascidos.(23,24) É causada por variantes patológicas do gene que codifica a proteína CFTR, no cromossoma 7, sendo a mais frequente a p.Phe508del.(24) Variantes genéticas fora do locus CFTR, denominadas de genes modificadores, modulam a gravidade da FQ e a resposta aos moduladores.(25)

A proteína CFTR funciona como um canal de cloro, e o seu defeito leva a uma combinação de déficit de secreção de cloretos e aumento da absorção de sódio e água na maioria dos epitélios secretores do nosso organismo, tornando as secreções mais desidratadas e espessas capazes de obstruir o fluxo aéreo, ductal ou intestinal. Já nas glândulas sudoríparas o déficit de CFTR resulta na incapacidade de absorver cloro e produção de um suor rico em cloreto e sódio. No fígado, a CFTR é expressa maioritariamente na membrana luminal dos colangiócitos, sendo o principal responsável pela alcalinização e fluidez da bÍlis.(23,26)

Na FQ, a doença hepática é a terceira causa de morte (depois da doença pulmonar e das complicações do transplante), no entanto, afeta apenas cerca de 33% destes doentes

e com um amplo espectro de manifestações (**Tabela 5**). Menos de 10% das doenças hepáticas associadas a FQ (DHFQ) apresentam-se com colestase neonatal.(23,27)

Tabela 5: Achados sugestivos de DHFQ.(27)	
Achados clínicos	Prevalência
Elevação das enzimas hepáticas + assintomático	Comum
Esteatose-hepática	25-60%
Cirrose biliar focal	20-30%
Cirrose biliar multilobular	10%
Colestase neonatal	<10%
Colelitíase e colecistite	15%
Microvesícula biliar	30%
Hipertensão portal	3-5%
Colangite esclerosante	silenciosa

O diagnóstico de FQ pode ser por rastreio neonatal para tripsinogénio imunorreativo, teste de suor e sequenciamento do gene CFTR. A deteção de DHFQ inclui avaliação clínica, análises, ecografia, elastografia e/ou biópsia hepática (**Figura 2**). (27) Recomenda-se o despiste de doença hepática anual em todos os doentes com FQ com hemograma completo, tempo de protrombina, aminotransferases, bilirrubina total e direta, FA, GGT, albumina ou proteínas totais, colesterol e glicose e ecografia hepática.(28)

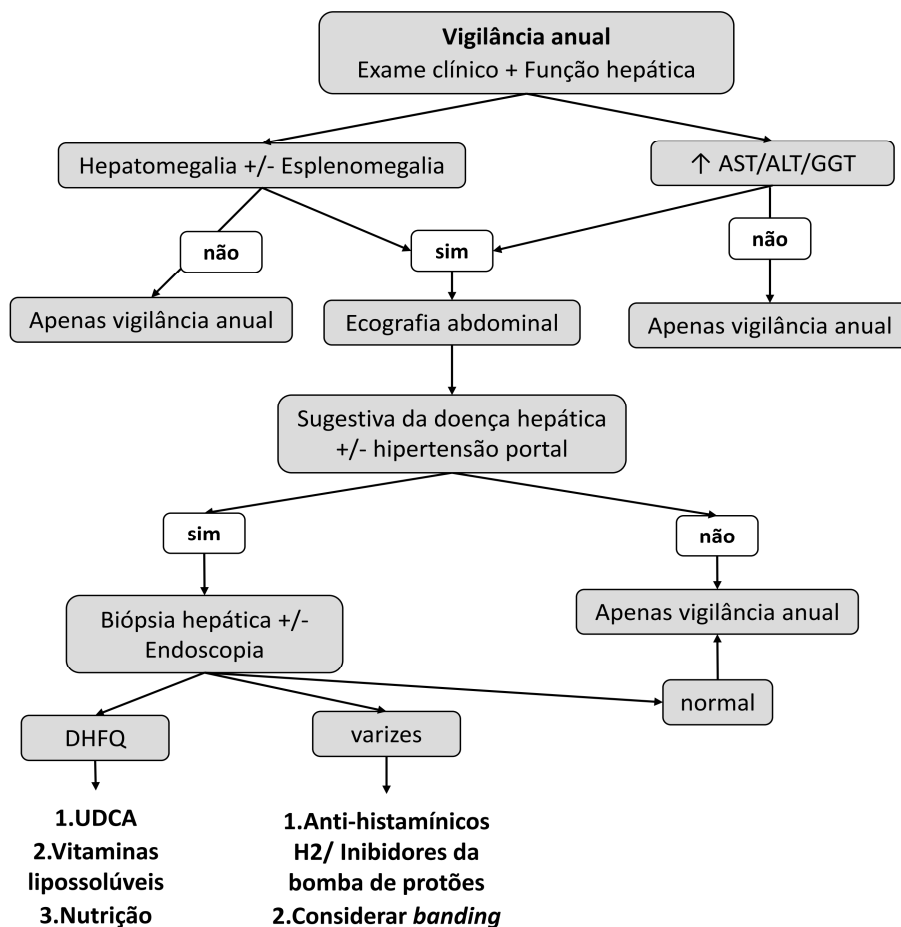


Figura 2. Fluxograma para investigação e abordagem de DHFQ.(27)

Para o tratamento da FQ foi recentemente aprovado pela FDA o Ivacaftor e as combinações Ivacaftor/Lumacaftor ou Ivacaftor/Tezacaftor, úteis num discreto número de variantes CFTR, que correspondem a 60% dos doentes. No entanto, apresentam apenas melhoria da função pulmonar e não foram reportados benefícios para a DHFQ.(23) O único tratamento que, atualmente, pode prevenir progressão das DHFQ é o UDCA 20 mg/kg/dia.(26) Recomenda-se o tratamento anti-prurido (rifampicina, colestiramina), a suplementação de vitaminas lipossolúveis e o tratamento de complicações, como a hipertensão portal.(26,28) O transplante hepático pode ser considerado em alguns doentes, cujas indicações são relatadas na **Tabela 6**. O transplante conjunto de pulmão e fígado já foi realizado, mas os resultados não foram satisfatórios, com taxas de sobrevivência de um e cinco anos de 69% e 49%, respetivamente. A má absorção, má nutrição, agravamento do estado pulmonar e infeção aumentam a morbimortalidade após o transplante.(24,28)

Tabela 6: Indicações para transplante hepático nas DHFQ.(24)

- | | |
|----|--|
| 1) | Insuficiência hepática gradual que não responde ao tratamento “padrão” |
| 2) | Presença de icterícia ou ascite |
| 3) | Presença de hemorragia de varizes |
| 4) | Desenvolvimento de síndromes portopulmonar ou hepatopulmonar |
| 5) | Desnutrição severa que não responde ao suporte nutricional intensivo |
| 6) | Qualidade de vida prejudicada secundária a doença hepática |
| 7) | Função pulmonar prejudicada |

4.4. Colestase intra-hepática familiar progressiva (PFIC)

A PFIC refere-se a um grupo heterogêneo de doenças colestáticas de hereditariedade autossómica recessiva associadas a defeitos na secreção ou transporte dos AB, sem alterações estruturais hepatobiliares. Estima-se uma incidência de 1:50000-1:100000 nascimentos.(29,30)

Manifesta-se no primeiro ano de vida com icterícia, prurido intenso, hepatoesplenomegalia, esteatorreia e atraso do crescimento/neurodesenvolvimento. Outros sintomas podem ser devido ao défice de vitaminas lipossolúveis, incluindo coagulopatia, osteopenia e distúrbios neuromusculares.(5,31,32) Sem tratamento adequado, evolui para cirrose hepática, disfunção hepática e morte precoce na primeira ou segunda década de vida.(30,32)

Pode ser causada por mutações em diferentes genes, nomeadamente *ATP8B1* (PFIC1), *ABCB11* (PFIC2), *ABCB4* (PFIC3), *TJP2* (PFIC4), *NR1H4* (PFIC5) e *MYO5B* (PFIC6), e que se relacionam com diferentes fenótipos que são apresentados na **Tabela 7**.(5,32-34)

Tabela 7: Achados típicos das diferentes variantes genéticas de PFIC.(33)

Gene mutado	Patogenia	Clínica típica	Características histológicas	Evolução clínica típica
<i>ATP8B1</i>	Défice de FIC1. Assimetria da membrana fosfolípídica canalicular. Diminuição da secreção biliar.	PFIC1: GGT normal; Elevação gradual das aminotransferases; Afetação multissistêmica (elevação do cloreto no suor, baixa estatura, diarreia aquosa, surdez, pancreatite).	Colestase canalicular; BÍlis canalicular granular; Fibrose lobular.(30)	Progressão moderada; Esteatose e diarreia pós-transplante hepático.
<i>ABCB11</i>	Défice de BSEP. Defeito no transporte de AB. Diminuição da secreção biliar.	PFIC2: GGT normal; Elevação precoce da ALT >5x normal(32); Risco aumentado de litíase biliar, hepatocarcinoma e colangiocarcinoma.	Hepatite de células gigantes; Colestase canalicular; Necrose hepatocelular; Fibrose portal.	Progressão moderada a rápida; Formação de alo-anticorpos após transplantes em alguns doentes (8%).
<i>ABCB4</i>	Défice de MDR3. Defeito no transporte de fosfolípido.	PFIC3: GGT elevada; Colangiopatia prolongada; Diminuição do teor de fosfolípidos na bÍlis.(5)	Variável: Células gigantes; Infiltrado inflamatório portal; Proliferação ductular periportal; Fibrose biliar.(29)	Progressão variável.
<i>TJP2</i>	Défice de TJP2. Redução das junções de-oclusão das membranas canaliculares e fuga de bÍlis para o parênquima hepático.	PFIC4: GGT ligeiramente aumentada ou normal; Achados extra-hepáticos (respiratórios e neurológicos); Risco aumentado de hepatocarcinoma.	Colestase ligeira.	Progressão rápida para cirrose.
<i>NR1H4</i>	Défice de FXR, que é um regulador chave do metabolismo dos AB.	PFIC5: GGT normal ou diminuída; Coagulopatia precoce independente de vitamina K; Elevação marcada da alfa-fetoproteína; Risco aumentado de doenças metabólicas.	Colestase intralobular; Proliferação ductular; Células gigantes.	Progressão muito rápida para insuficiência hepática; Esteatose pós-transplante hepático.
<i>MYO5B</i>	Défice de MYO5B. Dificulta o fluxo pelos transportadores, nomeadamente o BSEP.	PFIC6: GGT normal; Envolvimento intestinal em grau variável.	Células gigantes; Colestase hepatocelular e canalicular.	Progressão lenta.

Existem ainda duas entidades de Colestase intra-hepática recorrente benigna (BRIC), a BRIC1 e BRIC2, que são caracterizadas por episódios intermitentes de colestase devido a mutações nos genes *ATP8B1* e *ABCB11*, respetivamente. Ao contrário das PFIC, há uma deficiência parcial da função da proteína que codificam e as primeiras manifestações surgem mais tarde.(30)

O UDCA deve ser considerado como terapêutica inicial em todos os tipos de PFIC no alívio do prurido. A colestiramina e a rifampicina podem diminuir o prurido, mas são pouco úteis na PFIC1/2, e a rifampicina tem potencial hepatotóxico. Deve-se também corrigir os défices das vitaminas lipossolúveis, melhorar o estado nutricional e tratar complicações. A cirurgia de derivação biliar pode ser benéfica em alguns doentes,

nomeadamente com PFIC1 ou PFIC2, no entanto ainda não estão bem definidos os perfis genótipo-fenótipo desses doentes.(29–31) O transplante hepático é a última linha e deve ser considerado perante disfunção hepática, hepatocarcinoma ou má qualidade de vida devido ao prurido refratário. Há melhoria da colestase e dos sintomas em 75-100% dos doentes, independentemente do subtipo de PFIC, num prazo de 3-5 anos.(29) No entanto, é de ressaltar que na PFIC1 pode ocorrer desenvolvimento de esteatose hepática no enxerto e a manutenção dos sintomas extra-hepáticos, e, na PFIC2, a ocorrência de reação imune contra a BSEP leva à recidiva da doença no enxerto. Em geral, a PFIC representa 10-15% das indicações de transplante hepático em crianças.(30)

4.5. Erros inatos do metabolismo de ácidos biliares

Os Erros inatos do metabolismo de ácidos biliares classificam-se em primários e secundários. Os primários incluem defeitos enzimáticos congénitos importantes na síntese dos ácidos cólico e quenodesoxicólico, nomeadamente a Deficiência da 3β -hidroxi-C27-esteróide oxidorreductase (3β HSD), Deficiência da $\Delta 4$ -3-oxoesteróide- 5β -redutase ($D4O5\beta R$), Deficiência da colesterol 27-hidroxilase (xantomatose cerebrotendinosa), Deficiência da colesterol 7α -hidroxilase, Deficiência da oxisterol- 7α -hidroxilase, Deficiência de 2-metilacil-CoA racemase (AMACR), Deficiência da ácido trihidroxicolestanóico CoA-oxidase, e os defeitos de amidação envolvendo a Deficiência da ácido biliar CoA-lipase, Deficiência da aminoácido N-aciltransferase (BACAT), Deficiência da CoA-acil-oxidase, Deficiência da *ATP-binding-cassette-subfamily-D-member-3* (ABCD3), e o Defeito na via de 25-hidroxilação. Os secundários englobam Distúrbios peroximais, como a Síndrome de Zellweger, e a Síndrome Smith-Lemli-Opitz causada pela deficiência de $\Delta 7$ -desaturase.(35)

Deve-se suspeitar destas patologias na presença de colestase neonatal progressiva, má absorção, insuficiência hepática ou colestase crónica em idade precoce e ausência de prurido, juntamente com GGT normal/diminuída, níveis de AB séricos normais/baixos, elevação das aminotransferases e hiperbilirrubinemia conjugada, assim como história familiar positiva e histologia hepática compatível. O diagnóstico é feito a partir da suspeita clínica e de NGS, complementado com a pesquisa de intermediários de AB e AB anómalos por espetrometria de massa na urina.(10,35)

Na **Tabela 8** é possível conhecer características de algumas destas doenças, assim como os genes mutados que estão associados e aspetos terapêuticos.

Tabela 8: Erros inatos do metabolismo de ácidos biliares. (10,35–38)		
Classificação	Gene	Características
Causas primárias		
Deficiência 3 β HSD (o mais comum)	HSD3B7	GGT normal, hepatomegalia com/sem esplenomegalia, má absorção de vitaminas lipossolúveis, esteatorreia. Sem prurido. Histopatologia: hepatite neonatal. Inflamação portal leve. Progressão para hepatopatia crônica.
Deficiência D4O5 β R	AKR1D1	GGT elevada, hepatopatia grave, coagulopatia, e sem intervenção apresentam rápida progressão para cirrose e morte. Histopatologia: desarranjo lobular grave. Microscopia eletrônica: canalículos pequenos com redução ou ausência de microvilosidades.
Xantomatose cerebrotendinosa	CYP27A1	GGT normal. Mais tarde: disfunção neurológica progressiva, cataratas, demência, xantomas cerebrais e tendinosos. Redução sanguínea de sais biliares primários e colesterol; depósito de colesterol e colestanol em tecidos; aumento de diglicuronídeos de álcoois na biliar. Histopatologia: hepatite neonatal.
Deficiência colesterol-7 α -hidroxilase	CYP7A1	GGT normal, hepatopatia grave progressiva com hepatoesplenomegalia. Histopatologia: extensa transformação gigantocelular e proliferação biliar, colestase e pontes fibrosas.
Deficiência oxisterol-7 α -hidroxilase	CYP7B1	Aumento sérico de colesterol total e LDL, calculose biliar prematura, doença coronária e vascular periférica.
Deficiência de AMACR	AMACR	Colestase neonatal leve, hematoquízias, má absorção de vitaminas lipossolúveis. Efeitos conjuntos nas sínteses de AB e ácidos gordos.
Defeitos de amidação		
Deficiência na ácido biliar-CoA-ligase	SLC27A5	Atraso do crescimento, má absorção das vitaminas lipossolúveis. Ausência de AB conjugados, elevação sérica e urinária dos AB não conjugados. Tratamento: conjugado glicocólico.
Deficiência de BAAT	BAAT	= Hipercolanemia familiar GGT baixa e aumento dos AB primários.
Causas secundárias		
Defeitos dos peroxissomas		
Síndrome de Zellweger	PEX	Hipotonia, anorexia, fâcies típica (face plana, ponte nasal larga, fontanela anterior grande e suturas cranianas muito separadas), malformações cerebrais, convulsões, quistos renais, hepatomegalia, colestase e disfunção hepática, condrodysplasia punctata da patela e ossos longos. Crianças/Adultos: atraso do desenvolvimento e crescimento, perda auditiva, retinopatia pigmentosa, coagulopatia, hepatomegalia, disfunção suprarrenal, leucodistrofia, neuropatia periférica e ataxia. Histopatologia: fibrose progressiva, displasia biliar intra-hepática. Microscopia eletrônica: ausência de peroxissomas e mitocôndrias anormais.
Defeitos na síntese de colesterol		
Síndrome de Smith-Lemli-Opitz	DHCR7	Maioria: sindactilia 2-3 dedo do pé, restrição do crescimento e microcefalia. Frequentemente: fotossensibilidade, malformações cardíacas, hipospadias/criptorquidia, fenda do palato e hipofonia. Menos comum: polidactilia, anomalias renais, genitália externa feminina com cariótipo 46,XY e cataratas.(36) Redução dos níveis séricos e teciduais de colesterol e acumulação dos precursores. Ausência de AB primários.

O tratamento consiste, sobretudo, na administração de ácido cólico ou UDCA por via oral, optando-se pelo conjugado glicocólico na Deficiência na ácido biliar-CoA-ligase e pelo suplemento de colesterol na Síndrome de Smith-Lemli-Opitz.(7,36,38,39)

4.6. Colangite Esclerosante Neonatal

A Colangite Esclerosante Neonatal (CEN) pode surgir de forma isolada, causada pela mutação do gene DCDC2, que codifica uma proteína ligada à tubulina, a

Doublecortin domain containing 2 (DCDC2), ou pode estar associada a ictiose, causada pela mutação do gene CLDN1 que codifica a claudina-1.(3,34,38) Caracteriza-se por elevação marcada de GGT (>150–200 U/l) e lesão ductal necroinflamatória. Há evidência de que doses elevadas de UDCA podem contribuir para o agravamento da doença hepática e suas complicações.(4)

4.7. Doença Hepática Poliquística

A Doença Hepática Poliquística (DHP) hereditária que se manifesta com colestase neonatal está associada à Doença Renal Poliquística Autossômica Recessiva (ARPKD), que afeta 1:20000 recém-nascidos.(38,39) É causada por mutações no gene PKHD1, que codifica a proteína fibrocistina/polioductina, resultando uma divisão celular defeituosa.(41,42). Além da degeneração quística do rim, a ARPKD provoca doença hepática (conhecida como fibrose hepática congênita) e hepatoesplenomegalia, com função hepática praticamente normal (41), e anormalidades nos ductos biliares (em 70% dos doentes), devido à malformação das estruturas embriológicas que dão origem ao epitélio biliar (malformação da placa ductal). A progressão do envolvimento renal e hepático são independentes e a gravidade não é explicada pelo tipo de mutação.(42,43). Está também relacionada com a Doença de Caroli, uma doença autossômica recessiva rara, mais comum na infância e segunda década de vida, com múltiplos quistos dos ductos intra-hepáticos e que predispõe a litíase biliar, colangite e quistos renais.(41) A avaliação ecográfica e a contagem plaquetária fornecem mais informações da doença hepática na ARPKD do que as enzimas hepáticas.(43) Devido às altas morbidade e mortalidade, é necessário tratamento de suporte, vigilância e, em alguns casos, intervenção cirúrgica.(41) Ao contrário do que se poderia pensar, não está recomendado a profilaxia antibiótica de colangite por rotina, nem a utilização de UDCA.(40) Pode ser necessário o transplante hepático, sobretudo se existir hipertensão portal ou colangite. Quando há envolvimento renal e hepático combinado, o transplante de ambos é frequentemente indicado com excelente sobrevida a longo-prazo.(42)

4.8. Hipopituitarismo congênito

Deve ser suspeitado quando presentes história familiar positiva, apresentação pélvica, anomalias oculares ou cerebrais (a mais conhecida é a displasia septo-ótica), fenda palatina, micropênis (<2cm), criptorquidia, hipoglicemia e colestase neonatal. O diagnóstico é confirmado por insuficiência de uma ou mais hormonas hipofisárias e por

neuroimagem, procurando sinais sugestivos de Síndrome de Interrupção da Haste Hipofisária (hipófise posterior ectópica, haste hipofisária anormal e/ou hipófise anterior hipoplásica).(44,45) Vários genes têm sido associados ao Hipopituitarismo neonatal, nomeadamente TGIF, SHH, CDON, GPR161 e PROKR2, no entanto a discordância fenótipo-genótipo e a existência de portadores assintomáticos sugerem penetrância variável devido a fatores genéticos e/ou ambientais.(45) O tratamento consiste na reposição das hormonas hipofisária em défice, sendo necessário, perante colestase neonatal, altas doses de hidrocortisona e levotiroxina.(44)

4.9. Distúrbios de armazenamento

4.9.1. Lisossomopatias

Pertencem a este grupo a Doença de Niemann-Pick, a Doença de Gaucher e a Deficiência de lipase ácida lisossomal (LAL), que se caracterizam por colestase neonatal, esplenomegalia e, por vezes, hepatomegalia e atraso do desenvolvimento.(38)

A Doença de Niemann-Pick Tipo A (forma neurovisceral dos lactentes), Tipo A/B (forma neurovisceral crónica) ou Tipo B (forma visceral crónica) está associada à Deficiência de esfingomielinase ácida (ASMD), uma doença hereditária autossómica recessiva por mutações no gene *SMPD1*, com uma prevalência de 1:250000.(38,46) A NPD-A apresenta frequentemente com hepatoesplenomegalia aos 3 meses, já a NPD-A/B e NPD-B têm início mais tardio, clínica menos severa e um prognóstico mais favorável. O diagnóstico pode ser feito por testes genéticos e/ou análise da enzima esfingomielinase ácida ($\leq 10\%$ dos controlos). O tratamento é de suporte e a utilização de células estaminais hematopoiéticas pode corrigir o defeito, mas não estabiliza a doença neurológica.(46)

A Doença de Niemann-Pick Tipo C é uma causa de colestase neonatal mais comum do que a DA1AT nos hispânicos(4) e é autossómica recessiva por mutações dos genes *NPC1* e *NPC2*, que resultam em acumulação de colesterol e lípidos nos hepatócitos e, conseqüentemente, colestase, ascite fetal e afetação de outros órgãos, como baço e cérebro. Nestes casos recomenda-se o estudo genético.(8,38) A presença e gravidade do envolvimento neurológico podem ser uma contra-indicação para transplante hepático.(4)

A Doença de Gaucher é uma doença autossómica recessiva causada por mutações no gene *GBA*, que codifica a glucosilceramidase. Esta doença pode iniciar-se com colestase neonatal e caracteriza-se por hepatoesplenomegalia precoce e pancitopenia.(38,47)

A Deficiência de LAL é autossômica recessiva e causada por mutações no gene LIPA. Quando tem início nos primeiros meses de vida designa-se de Doença de Wolman, quando se inicia mais tarde designa-se por Doença de armazenamento dos esteres de colesterol (CESD).(47–49)

Quanto à Doença de Wolman, deve ser suspeitada quando há: vômitos, esteatorreia e distensão abdominal nos primeiros dias de vida; hepatomegalia, má absorção e atraso de crescimento; colestase neonatal associada a calcificação adrenal (sinal patognomónico)(49); elevação das aminotransferases (AST>ALT) e do colesterol total, e HDL diminuído.(47,49) Se uma variante patogénica de LIPA é conhecida na família, o teste genético é o método diagnóstico mais adequado, mas se a variante não for conhecida na família, deve-se dar preferência à análise enzimática (défice de LAL quando $\leq 5\%$ dos controlos).(47) Não se realiza a biópsia hepática por rotina, mas pode servir para diagnóstico diferencial e tipicamente evidencia esteatose hepática. Os doentes não sobrevivem mais de um ano se não tratados adequadamente com transplante de células estaminais hematopoiéticas.(50) O transplante hepático pode ser considerado em casos de cirrose ou insuficiência hepática. A insuficiência suprarrenal pode ser tratada com corticosteróides/mineralocorticóides. Se má nutrição, pode ser necessário utilizar nutrição parentérica. Em 2015, a FDA aprovou a substituição enzimática com *sebelipase alfa* 1mg/kg semanalmente para controlar os sintomas. Recomenda-se monitorização do estado nutricional e do desenvolvimento; avaliação bianual das enzimas hepáticas, lípidos e contagem plaquetária; vigilância do volume hepático e esplénico para rastreio de hepatocarcinoma; e evicção de AINEs nos doentes com trombocitopenia.(47,49–51)

4.9.2. Glicogenose Tipo IV

A Doença do armazenamento do glicogénio tipo IV (GSD IV) é uma doença hepática autossômica recessiva da infância, que se associa a colestase neonatal e apresenta um espectro alargado de fenótipos: subtipo neuromuscular perinatal fatal (diminuição dos movimentos fetais, polihidrâmnios, hidrósia fetal, artrogripose, hipotonia/atonia muscular ao nascimento, com morte neonatal precoce); subtipo neuromuscular congénito (hipotonia grave, insuficiência respiratória, cardiomiopatia dilatada e morte precoce); subtipo hepático clássico (lactentes com atraso no desenvolvimento, hepatomegalia, cirrose, hipertensão portal, varizes esofágicas, hipotonia, cardiomiopatia e morte aos 5 anos por insuficiência hepática); subtipo hepático não-progressivo (crianças com insuficiência hepática, miopatia e hipotonia); e subtipo neuromuscular na infância (miopatia progressiva crónica e cardiomiopatia dilatada). Laboratorialmente, apresentam

aumento das enzimas hepáticas, hipoalbuminemia e prolongamento dos tempos de coagulação. A ecografia revela hepatomegalia, fibrose e cirrose, e na histologia são característicos hepatócitos aumentados PAS-positivos e inclusões resistentes à diástase. O diagnóstico pode ser confirmado pela detecção de deficiência da enzima de ramificação do glicogênio (GBE) e/ou identificação de mutação no gene GBE1. Não há um tratamento definitivo, no entanto as crianças que desenvolvem doença hepática grave podem receber um transplante aos 3 anos. Se envolvimento cardíaco severo, o transplante cardíaco pode ser uma opção. Recomenda-se fisioterapia quando há miopatia ou hipotonia; prevenção de défices nutricionais e a vigilância com ecocardiografias (trimestrais nos lactentes, semestrais na infância e, posteriormente, anuais), análises da função hepática, ecografia abdominal, avaliação neurológica e do estado nutricional.(52,53)

4.10. Hepatopatias mitocondriais

4.10.1. Defeitos na cadeia respiratória

A Síndrome de Alpers é uma doença autossômica recessiva e um dos fenótipos mais graves de mutações no gene POLG, que se caracteriza por convulsões/epilepsia refratárias, regressão psicomotora e insuficiência hepática aguda em lactentes, e que podem ser desencadeadas pelo uso de valproato. Histologicamente, observa-se esteatose, colestase e proliferação do ducto biliar.(53–56)

A Deficiência de deoxiguanosina cinase (DGUOK) é a segunda mitocondriopatia autossômica recessiva que mais frequentemente causa uma síndrome hepatocerebral (a seguir à mutação POLG), mas neste caso a apresentação neonatal é mais comum. É causada por mutações no gene DGUOK. Os achados clínicos incluem icterícia, colestase, hepatomegalia, elevação das aminotransferases, acidose láctica, hipoglicemia, hipotonia, nistagmo e atraso psicomotor. Histologicamente, pode revelar no fígado colestase, esteatose microvesicular, hepatite de células gigantes, cirrose e aumento do número de mitocôndrias.(56,57)

A mutação do gene MPV17 causa uma doença autossômica recessiva com manifestações hepáticas (colestase, insuficiência hepática, hepatomegalia), neurológicas (atraso do desenvolvimento, hipotonia, microcefalia e neuropatia periférica), gastrointestinais (dismotilidade, dificuldades na alimentação, atraso do crescimento) e metabólicas (acidose láctica e hipoglicemia). Na RMN cerebral é possível encontrar alterações na substância branca, tronco cerebral e gânglios da base.(56,58,59)

Mutações no gene BCS1L são a causa mais frequente de déficit do complexo III isolada e apresentam uma diversidade de fenótipos, nomeadamente a Síndrome de GRACILE, um dos mais severos que se caracteriza por restrição do crescimento, aminoacidúria, colestase (com esteatose e cirrose), sobrecarga de ferro, acidose láctica e morte precoce e é definida pela mutação homozigótica em p.Ser78Gly. A histologia hepática mostra esteatose microvesicular e colestase com acumulação de ferro nos hepatócitos e células de Kupffer. Cerca de metade dos casos falecem nas primeiras duas semanas de vida. A patofisiologia deste fenótipo permanece desconhecida.(56,60)

Deve-se suspeitar destas mitocondriopatias perante uma criança com acidose láctica, hipoglicemia e disfunção hepática/insuficiência hepática aguda. O diagnóstico pode ser confirmado pela deteção das mutações referidas.(54,56–60) O tratamento de suporte consiste em suplementação (vitaminas, fórmulas enriquecidas em triglicéridos de cadeia média), correção da acidose ou de complicações (nomeadamente, convulsões na Síndrome de Alpers). O transplante hepático pode estar indicado se insuficiência hepática. Recomenda-se o acompanhamento do neurodesenvolvimento, medidas que previnam deficiências nutricionais, a vacinação completa (incluindo a vacina da gripe) e o rastreio de hepatocarcinoma.(54,56–60)

4.10.2. Defeitos no ciclo da ureia

4.10.2.1. Deficiência da ornitina-transcarbamilase

É o distúrbio mitocondrial do ciclo da ureia mais comum (1:14000 nados-vivos) e tem hereditariedade ligada ao X. Geralmente, não apresenta sintomas ao nascimento, mas ao fim de 2-3 dias de vida surgem manifestações de hiperamonémia, encefalopatia neonatal com hiperventilação e hipotermia. O diagnóstico é confirmado pela deteção de mutações no gene OTC, pelo aumento da excreção de ácido orótico após teste de provocação com alopurinol e/ou pela diminuição da atividade hepática da enzima ornitina-transcarbamilase (OTC). Na fase aguda, o objetivo do tratamento é reduzir rapidamente os níveis sérios de amónia ($\leq 200\mu\text{mol/L}$) por hemodiálise/hemofiltração; eliminação de amónia através da infusão intravenosa de fenilacetato de sódio com benzoato de sódio, que depois deve ser mantida na fórmula oral, e da suplementação de citrulina 170mg/kg/dia; interrupção de ingestão de proteínas por 24h; e adequado tratamento das convulsões. Além disso, a longo prazo recomenda-se: ingestão de proteínas restrita ao necessário; uso de captadores de nitrogénio que permitem uma maior ingestão de proteínas; transplante hepático, geralmente necessário por volta dos 6 meses

de idade; suplementação vitamínica; cumprimento do plano de vacinação, incluindo a vacina da gripe; evicção de stressores físicos/psicológicos, valproato, haloperidol, corticóides sistémicos e jejum prolongado.(38,61)

4.10.2.2. Deficiência de citrina

É uma doença autossómica recessiva causada pela mutação do gene SLC25A13.(62) A citrina (ou AGC2) é um transportador mitocondrial aspartato-glutamato expresso no fígado, coração, rim e intestino delgado. Possui funções importantes na glicólise, na síntese de ureia, proteínas e nucleotídeos, na lipogénese, e na gliconeogénese.(63) Com o seu défice, os hepatócitos não são capazes produzir energia a partir da glicose ou dos ácidos gordos, o que explica a manifestação de fadiga intensa.(59,61,62)

Suspeita-se de Deficiência de Citrina se presentes os seguintes achados:

- Recém-nascido até 12 meses com baixo peso ao nascimento e colestase intra-hepática (NICCD) com um dos seguintes testes de rastreio positivos:
 - Citrulinemia e/ou icterícia prolongada; ou
 - Galactosemia, hipermetionemia, tirosinemia ou hiperfenilalanemia.
- Criança com idade superior a 1 ano que apresenta má progressão ponderal e dislipidemia (FTTDCD).
- Criança a partir dos 11 anos e adulto com fenótipo típico de citrulinemia tipo 2 (CTLN2): encefalopatia hepática com hiperamonemia, sobretudo se história de aversão a hidratos de carbono ou preferência por alimentos ricos em proteína e lípidos.
- Criança ou adulto com pancreatite recorrente inexplicada, hiperlipidemia, esteatose hepática ou carcinoma hepatocelular.(62,63,65)

O diagnóstico definitivo é estabelecido por análise bioquímica (amónia, análise quantitativa de aminoácidos e inibidor da tripsina pancreática) e/ou teste genético (mutações bialélicas de SLC25A13); ou análise *Western Blot*, se não for identificada nenhuma variante patogénica.(63)

Nestes doentes recomenda-se uma dieta rica em proteínas e lípidos; evicção de refeições rica em hidratos de carbono e álcool; evicção de infusões de glicerol, frutose e glicose; evicção paracetamol e rabeprazole; administração de arginina (diminui a amónia sérica); e para cada fenótipo em específico:

- NICCD: suplementação de vitaminas lipossolúveis e de zinco se existir déficit, e fórmula sem lactose e enriquecida em triglicerídeos de cadeia média (MCT);
- FTTDCD: piruvato de sódio;
- CTLN2: transplante hepático, piruvato de sódio, arginina e óleo MCT.(62)

4.10.3. Mitocondriopatias associadas ao metabolismo dos ácidos gordos

O distúrbio mais comum deste grupo é a Deficiência da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia média (MCADD), que possui hereditariedade autossômica recessiva. Manifesta-se geralmente aos 3-24 meses, com hipoglicemia hipocetótica, vômitos e progressão para letargia, convulsões ou coma. Nos episódios agudos são comuns a hepatomegalia e a descompensação hepática, já os sintomas cardíacos ou renais são raros.(66)

O rastreio neonatal é importante, porque permite identificar recém-nascidos assintomáticos e travar a deterioração metabólica.(56,67) O diagnóstico pode ser confirmado por testes bioquímicos (acilcarnitina plasmática, ácidos orgânicos na urina ou acilglicina urinária) ou pela detecção de mutação no gene ACADM. O tratamento mais importante é administração de hidratos de carbono simples e o prognóstico é favorável se realizarem refeições frequentes para evitar o jejum prolongado.(66)

Os outros defeitos de oxidação de ácidos gordos apresentam algumas diferenças clínicas e bioquímicas, nomeadamente uma afetação comum dos sistemas cardíacos, renal e/ou musculoesquelético.(56,66) Mais à frente, na **Tabela 10** são identificados esses defeitos e mutações associadas.

4.11. Intoxicações metabólicas

As intoxicações metabólicas incluem a Galactosemia, a Intolerância hereditária à frutose e a Tirosinemia tipo 1, doenças autossômicas recessivas causadas por mutações nos genes GALT, ALDOB e FAH, respetivamente.(38) Do ponto de vista da suspeita diagnóstica, estas patologias caracterizam-se por, após um período assintomático, iniciarem os sintomas com o consumo de agentes ofensores (galactose, lactose, ou frutose, sacarose, sorbitol ou aminoácidos) na dieta, são, por isso, causas tratáveis de colestase neonatal através da remoção dos nutrientes desencadeantes.(4)

A Galactosemia é uma doença do metabolismo da galactose, de transmissão autossômica recessiva, que resulta da deficiência da galactose-1-fosfato uridililtransferase (GAL-1-PUT). Pode apresentar-se com colestase neonatal, hipoglicemia, alterações neurológicas, cataratas, disfunção tubular renal e episódios recorrentes de sépsis (geralmente, por *Escherichia coli*). O estudo laboratorial deve incluir a identificação de GAL-1-PUT sérica ou urinária. O tratamento consiste numa dieta isenta de galactose e lactose.(4,38)

A Intolerância hereditária à frutose (ou Frutosemia) é uma doença autossômica recessiva do metabolismo da frutose, que resulta da deficiência da frutose-bifosfato aldolase B, que pode ser diagnosticada pelo doseamento da enzima ou testes genéticos. Além da colestase neonatal, os doentes apresentam hipoglicemia, vômitos e, por vezes, choque. O tratamento consiste numa dieta isenta de frutose, sacarose e sorbitol.(4,38)

A Tirosinemia Tipo I (ou Tirosinemia hepato-renal) é uma doença hereditária do metabolismo do aminoácido tirosina, que resulta da deficiência da fumarilacetoacetase. Pode ser detetada no rastreio neonatal de diagnóstico precoce ou pela deteção de succinilacetona. Alguns dos achados que apontam para o seu diagnóstico são a disfunção tubular renal, o raquitismo, a cirrose e hepatocarcinoma em idade precoce. O tratamento inclui uma dieta restrita em tirosina e fenilalanina e a administração de nitisinona ou NTBC (do inglês, *2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzol)-1,3-cyclohexanedione*), que bloqueia a 4-hidroxifenilpiruvato e, assim, previne a acumulação de metabolitos tóxicos.(4,38,67)

5. Testes empregues na diferenciação diagnóstica de doenças colestáticas de causa genética

Uma história clínica completa deve incluir antecedentes gestacionais/obstétricos (incluindo de ecografias pré-natais), caracterização da icterícia e de outros sinais/sintomas, desenvolvimento neuropsicomotor, antecedentes heredo-familiares, história nutricional, medicação prévia/habitual. O exame objetivo deve ser completo, atento a sinais de alarme e achados ou fácies característicos de determinadas síndromes, como visto anteriormente.(4)

A avaliação inicial inclui: hemograma completo, níveis séricos de bilirrubina (total e direta), ácidos biliares, colesterol e enzimas hepáticas (AST, ALT e GGT); ecografia abdominal e cintilografia hepatobiliar com tecnécio-99m-DISIDA (ácido diisopropil-iminodiacético), que permitem investigar a presença de uma doença obstrutiva extra-hepática; sumário de urina; serologias para alguns vírus (citomegalovírus, herpes vírus, hepatite B); glicemia; excluir causas intra-hepáticas mais facilmente reversíveis, nomeadamente a Galactosemia, Frutosemia, Tirosinemia tipo 1, Hipotireoidismo e Pan-hipopituitarismo; níveis de A1AT e fenotipagem; teste do suor para a FQ; rastreio neonatal para erros inatos do metabolismo, através espectrometria de massa. Uma bateria de exames que deve ser guiada pela anamnese e clínica do doente.(4) De acordo com os resultados pode-se prosseguir para biópsia hepática, que pode ser útil, sobretudo nos casos de doença hepática grave.(4) Um resumo das diferenças histológicas de algumas causas de colestase neonatal é apresentado na **Tabela 9**.

Tabela 9: Resumo das diferenças histológicas de causas de colestase neonatal. (4,34,68)	
SALG	Ductopenia biliar.
DA1AT	Hepatócitos com glóbulos citoplasmáticos PAS-positivos resistentes à diástase. Esteatose periportal. Ductopenia biliar e acumulação de proteína associada ao cobre em 10%.
PFIC	Achados na microscopia eletrónica (Ver Tabelas 7 e 8)
Doenças do armazenamento	
DHFQ	Fibrose, esteatose, pequenos ductos biliares com mucina eosinofílica luminal (sinal patognomónico), calcificação portal.
CEN	Lesões necrótico-inflamatórias ductais.
Doença hepática metabólica	Esteatose e formação pseudoacinar de hepatócitos.
Atresia biliar	Tampões biliares nos ductos biliares, edema do estroma portal, sem ductopenia, ausente/rara transformação em células gigantes, ausente/rara hematopoiese extramedular.
Colestase neonatal idiopática	Células gigantes multinucleadas, hepatopoiese extramedular e colestase hepatocelular sem envolvimento porta.

Muitas vezes os estudos bioquímico e histopatológico não são suficientes para confirmar um diagnóstico ou são dispendiosos e demorados, daí a importância dos testes genéticos, nomeadamente do NGS, para o diagnóstico definitivo.(4,38)

6. Next-Generation Sequencing (NGS)

O NGS permite sequenciar um gene, um painel de vários genes, o exoma completo (WES) ou o genoma completo (WGS). Este método é rápido, sendo possível sequenciar o genoma humano em algumas horas a partir da análise de uma amostra de sangue, e é relativamente barato. As limitações são sobretudo interpretativas. A técnica com genes alvo (TGS) e o WES são particularmente úteis para identificar mutações pontuais que originam doenças monogénicas. No entanto, nem sempre há uma correlação entre o fenótipo e o genótipo, de maneira que é provável a afetação de outros fatores, nomeadamente modificadores epigenéticos. Em regra geral, quanto maior o número de genes, menos precisa é a cobertura, maior o número de variantes e mais difícil a interpretação.(4,34,38) Na **Tabela 10** apresentam-se os genes mencionados nesta Dissertação.(34,38)

Tabela 10: Mutações de causas genética de colestase neonatal.(34,38)	
Doenças	Mutações genéticas conhecidas
Síndrome de Alagille	JAG1, NOTCH2
Deficiência de A1AT	SERPINA1
Fibrose Quística	CFTR
Colestase intra-hepática familiar PFIC1, BRIC1 PFIC2, BRIC2 PFIC3 PFIC4 PFIC5 PFIC6	ATP8B1 ABCB11 ABCB4 TJP2 NR1H4 MYO5B
Erros inatos do metabolismo de ácidos biliares Deficiência 3βHSD Deficiência D4O5βR Xantomatose cerebrotendinosa Deficiência colesterol-7α-hidroxilase Deficiência oxisterol-7α-hidroxilase Deficiência AMACR Deficiência ácido biliar-CoA-ligase Hipercolanemia familiar Peroxisomopatias (Zellweger) Síndrome Smith-Lemli-Opitz	HSD3B7 AKR1D1 CYP27A1 CYP7A1 CYP7B1 AMACR SLC27A5 BAAT PEX DHCR7
Colestase esclerosante neonatal CEN isolada CEN com ictiose	DCDC2 CLDN1
Doença hepática poliquística ARPKD	PKHD1
Hipopituitarismo congénito	TGIF, SHH, CDON, GPR161, PROKR2
Distúrbios do armazenamento Niemann-Pick Tipo A,B Niemann-Pick Tipo C Gaucher Deficiência de LAL, Doença de Wolman GSD IV	SMPD1 NPC1, NPC2 GBA LIPA GBE1
Mitocondriopatias hepáticas Da cadeia respiratória Do ciclo da ureia	POLG, DGUOK, MPV17, BCS1L

Doenças colestáticas neonatais de causa genética

Deficiência da OTC Deficiência de citrina Da oxidação dos ácidos gordos MCADD Acidúria Glutárica Tipo II Deficiência da Desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia curta Deficiência da Desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia muito longa Deficiência da Desidrogenase de 3-Hidroxi-Acil-CoA de cadeia longa Deficiência da proteína trifuncional Distúrbio do transporte da carnitina	OTC SLC25A13 ACADM EFTA, EFTB, ETFDH ACADS ACADVL HADHA HADHB SLC22A5, CPT1A, CPT2, SLC25A20
Intoxicações metabólicas Galactosemia Intolerância hereditária à frutose Tirosinemia tipo 1	GALT ALDOB FAH

7. Evolução do diagnóstico, terapêutica e prognóstico

A genotipagem através de NGS tem revolucionado o conhecimento que se tinha das causas de colestase neonatal. A descoberta de novas mutações já reduziu os casos diagnosticados como colestase neonatal idiopática para menos de 20% de todos os doentes pediátricos com icterícia conjugada. No entanto, não substitui os exames bioquímicos, que são centrais para definir o fenótipo. Assim, há autores que recomendam utilização de WES e WGS perante ausência de achados ou em casos mais complexos, e sempre que presentes sinais ou sintomas específicos de uma doença ou de um grupo de doenças dirige-se o estudo para essas causas.(4,38)

Quanto ao tratamento, atualmente, assenta em medidas de suporte, suplementação nutricional (principalmente de vitaminas lipossolúveis), vacinação (incluindo vacina da gripe), acompanhamento do neurodesenvolvimento e familiar.(3,4) Para minimizar o prurido e evitar escoriações recomendam-se medidas como a hidratação da pele, unhas aparadas, evicção de banhos quentes. Além disso, podem ser utilizados fármacos anti-prurido, que incluem UDCA ou colestiramina, em primeira linha, e, para o prurido refratário, rifampicina, anti-histamínicos ou sertralina (utilizada em alguns doentes com SALG e PFIC).(17,31) O transplante hepático é uma opção em alguns casos, geralmente, como última linha.(3,4) Algumas doenças possuem abordagens terapêuticas mais específicas, nomeadamente:

- nas Intoxicações metabólicas: remoção do agente ofensor e a terapia com NTBC na Tirosinemia tipo 1;
- nas Doenças endócrinas, como o Hipotireoidismo e o Hipopituitarismo congénitos: reposição hormonal precoce;
- em alguns Erros inatos do metabolismo dos ácidos biliares: reposição com o ácido cólico e ursodesoxicólico;
- na Deficiência de LAL: sebelipase-alfa 1mg/kg semanalmente (aprovada pela FDA em 2015)(47).

Na **Figura 3** são identificados alvos para possíveis novas terapêuticas de colestase neonatal.

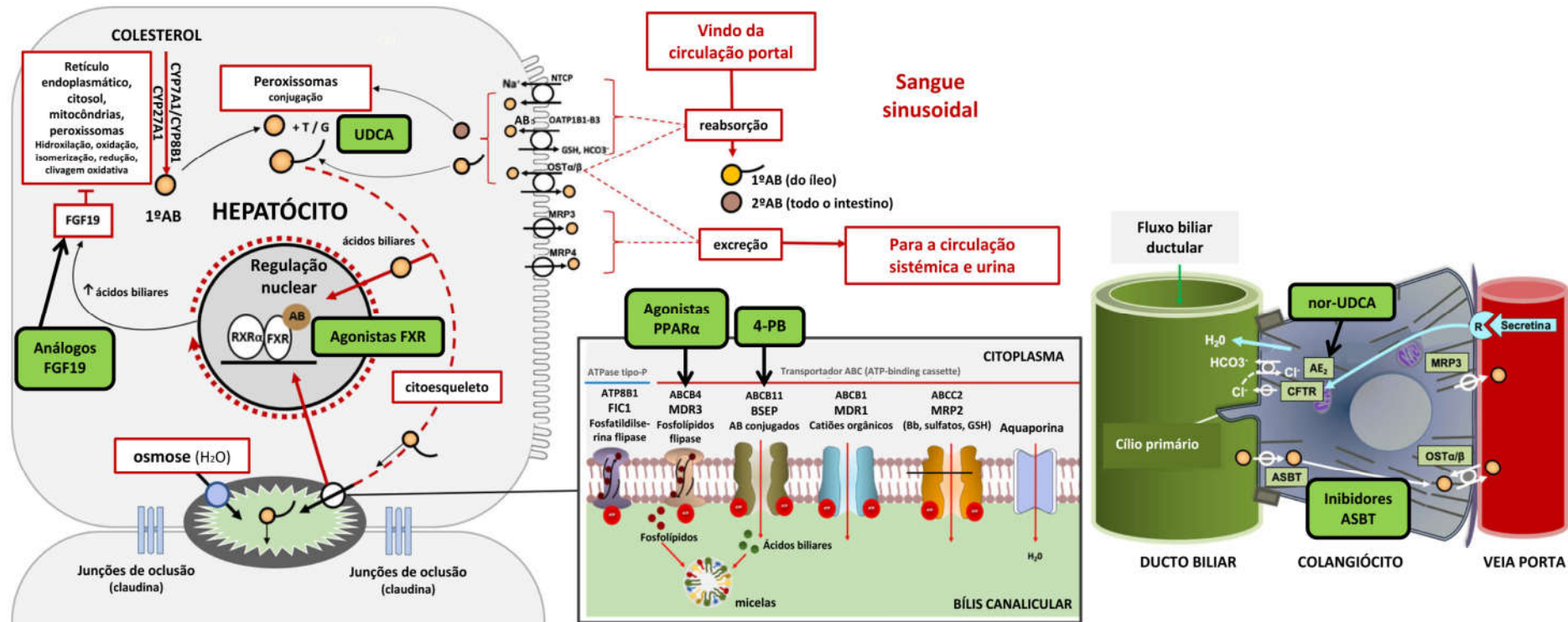


Figura 3. Alvos para novas terapêuticas da colestase neonatal. As caixas verdes representam os potenciais agentes terapêuticos da colestase. A redução da carga de AB ou a melhoria do fluxo biliar pode ser obtida pela estimulação das bombas de efluxo sinusoidais (NTCP, OATP1B1/3, OSTα/β, MRP3, MRP4) com **agonistas FXR** ou **UDCA**, ou através da estimulação dos transportadores da membrana canalicular (MDR3, BSEP, MDR1, MRP2), nomeadamente com o **4-PB** (para BSEP) ou os **agonistas PPARα** (para MDR3). A estimulação do MDR3 pode aumentar a secreção de fosfolípidos, protegendo os colangiócitos da toxicidade dos AB. Os **inibidores do ASBT** interrompem a circulação entero-hepática, aumentando a excreção fecal de AB e, assim, diminuem os níveis de AB hepáticos, o que, por sua vez, estimula a sua síntese e altera a composição da biliar. Ao nível da sinalização FXR, os **agonistas FXR** podem aumentar a secreção de FGF19, assim como os **análogos de FGF19**, com subsequente inibição de CYP7A1 no hepatócito, suprimindo a síntese de AB. O **nor-UDCA** atua sobre os mecanismos cole-hepáticos, aumentando o fluxo biliar. Legenda: 1ºAB, ácidos biliares primários; 2ºAB, ácidos biliares secundários; 4-PB, 4-fenilbutirato; AB, ácidos biliares; AE2, choride-bicarbonato anion exchanger 2; ASBT, apical sodium-bile acid transporter; ATP8B1, phospholipid-transporting ATPase IC (o mesmo que FIC1); Bb, bilirrubina; BSEP, bile salt export pump; CFTR, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CYP7A1, colesterol-7α-hidroxilase; CYP8B1, oxisterol-7α-hidroxilase; CYP27A1, colesterol-27α-hidroxilase; FGF19, fator de crescimento do fibroblasto 19; FXR, farnesoid X receptor; MRP2, multidrug resistance-associated protein 2; MRP3, multidrug resistance-associated protein 3; MRP4, multidrug resistance-associated protein 4; NTCP, sodium/taurocholate co-transporting polypeptide; nor-UDCA, derivado de UDCA encurtado de cadeia lateral; OATP1B1/3, organic-anion-transporting polypeptide 1B1 e 1B3; OSTα/β, organic solute transporter-α/β; PPARα, Peroxisome proliferator-activated receptor-α; RXRα, retinoid X receptor α; UDCA, ácido ursodesoxicólico. Baseado em (3,4,6).

Potenciais tratamentos para algumas causas genéticas de doença colestática encontram-se em estudo, sendo de referir:

- Para a **SALG**: Modulação da via de sinalização Notch e as terapias baseadas em células ou correção de mutações específicas, nomeadamente pela tecnologia CRISPR/Cas9 (11); Maralixibat, um inibidor do transportador ASBT, para tratamento alívio do prurido (12);
- Para a **DA1AT**: Carbamazepina e sirolimus (ou rapamicina), promissores por estimularem a autofagia e suprimirem A1AT aberrantes (18,69,70); Flufenazina e Pimozina, possíveis potenciadores de autofagia(19); Ciclosporina, promissora para a redução da lesão hepática; nor-UDCA; 4-fenilbutirato (4-PB); e tecnologia de inibição do RNA (siRNA) (21);
- Para a **DHFQ**: Moduladores CFTR, inibidores-TLR4, inibidores-Src e agonistas-PPAR (27);
- Para a **PFIC**: Inibidores ERAD (MG132), 4-PB, agonistas-recetor-nuclear (6 α -etil-quenodesoxicolato, fibratos, estatinas), aminoglicosídeos e PTC124 (29,30); Plasmaferese e rituximab (anti-CD20) para alívio de sintomas na PFIC2 (32);
- Para a **DHP**: Sirolimus e everolimus, análogos da somatostatina e tolvaptan, inibidor Src-ABL, bosutinib, triptolida, desacetilase-histona, fosfatase-Cdc25A, miRNAs e metaloproteinases (41);
- Para a **Doença de Niemann-Pick Tipo A,B**: Reposição enzimática com olipudase-alfa (71).

O reconhecimento precoce e a rápida abordagem de uma criança com colestase são de extrema importância para uma intervenção precoce, pois resulta num melhor prognóstico.(4) Um pior prognóstico associa-se frequentemente à afetação multissistémica e à progressão para fibrose, cirrose e/ou insuficiência hepática. No entanto, os fatores que condicionam um pior desfecho (morbilidade, mortalidade, má resposta terapêutica) ainda estão por esclarecer.(4,10,14,22,30,52,57,58,68)

8. Conclusão

As causas genéticas de colestase neonatal associam-se a grande impacto na morbidade e mortalidade e no número de transplantes hepáticos realizados em idade pediátrica, sendo, por isso, um tema da Gastroenterologia pediátrica cada vez mais explorado.

Nesta Dissertação pretendeu-se rever o conhecimento que se tem até à data sobre estas doenças e expor as abordagens diagnósticas/terapêuticas recomendadas e o que se pode esperar para o futuro.

Nas últimas décadas, os avanços da biologia molecular (WES, WGS) melhoraram significativamente a deteção das mutações genéticas, assim como de patologias anteriormente desconhecidas. De notar que muitas não apresentam relação genótipo-fenótipo, o que sugere o envolvimento de outros fatores genéticos e/ou ambientais, que estão ainda por esclarecer. Portanto, a identificação de todas as condições genéticas associadas requererá um contínuo melhoramento da sequenciação do genoma e da sua interpretação, padronização da fenotipagem dos doentes e uma partilha global de dados genéticos e clínicos em bancos de dados altamente especializados.

Tem-se verificado também que o maior conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos de colestase neonatal tem permitido identificar potenciais alvos terapêuticos, o que promoverá o desenvolvimento de tratamentos mais precisos e personalizados no futuro. No entanto, sabemos que são necessários estudos da eficácia, tolerabilidade, segurança e do perfil de efeitos adversos que confirmem que estas terapêuticas possam ser utilizadas. Até à existência destas opções, continua a ser essencial conhecer medidas que possam melhorar a qualidade de vida dos doentes e que o seu seguimento seja multidisciplinar.

Assim, esta revisão pode representar uma oportunidade para incentivar mais investigações nesta área, nomeadamente relacionados com as correlações genótipo-fenótipo, o acesso mais generalizado do NGS e a descoberta de novos alvos terapêuticos.

9. Bibliografia

1. Arias IM, Alter HJ, Boyer JL, Cohen DE, Fausto N, Shafritz DA, et al. *The Liver: Biology and Pathobiology*. 6th ed. John Wiley & Sons Ltd.; 2020. 3–12 p.
2. Santos JL. Metabolismo e fluxo biliar. In: *Hepatologia em Pediatria*. 1ª Edição. Manole; 2012. p. 47–72.
3. 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. *Journal of Biomedical Science*. 2018;25(1):1–13.
4. Feldman AG, Sokol RJ. Neonatal cholestasis: emerging molecular diagnostics and potential novel therapeutics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* [Internet]. 2019;16(6):346–60.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41575-019-0132-z>
5. Sticova E, Jirsa M. ABCB4 disease: Many faces of one gene deficiency. *Annals of Hepatology* [Internet]. 2020;19(2):126–33.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.09.010>
6. Boyer JL, Soroka CJ. Bile formation and secretion: An update. *Journal of Hepatology* [Internet]. 2021 Jul;75(1):190–201.
Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827821001112>
7. Santos JL, Carvalho E, Seixas R. Colestase neonatal. In: *Hepatologia em Pediatria*. Manole; 2012. p. 225–68.
8. Fischler B, Lamireau T. Cholestasis in the newborn and infant. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* [Internet]. 2014;38(3):263–7.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2014.03.010>
9. Santos J, Silveira TR. Atresia biliar. In: *Hepatologia em Pediatria*. Manole; 2012. p. 269–302.
10. Carvalho E, Santos JL, Seixas R. Síndromes colestáticas intra-hepáticas familiares. In: *Hepatologia em Pediatria*. Manole; 2012. p. 303–36.
11. Mitchell E, Gilbert M, Loomes KM. Alagille Syndrome. *Clinics in Liver Disease* [Internet]. 2018;22(4):625–41.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.06.001>
12. Spinner NB, Gilbert MA, Loomes KM, Krantz ID. Alagille Syndrome. *Gene Reviews*. 2019;
13. Penton AL, Leonard LD, Spinner NB. Notch signaling in human development and disease. 2013;23(4):450–7.

14. Kamath BM, Spinner NB, Rosenblum ND. Renal involvement and the role of Notch signalling in Alagille syndrome. *Nature Reviews Nephrology* [Internet]. 2013;9(7):409–18.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2013.102>
15. Mašek J, Andersson ER. The developmental biology of genetic notch disorders. *Development (Cambridge)*. 2017;144(10):1743–63.
16. Grochowski CM; Loomes KM; Spinner NB. Jagged1 (JAG1): Structure, expression, and disease associations. *Gene* [Internet]. 2016;576(1):381–4.
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26548814/>
17. Jesina D. Alagille syndrome: An overview. *Neonatal Network*. 2017;36(6):343–7.
18. Stoller JK, Lacbawan FL, Aboussouan LS. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Summary Diagnosis Suggestive Findings. *US National Library of Medicine*. 2020;1–27.
19. Maurice N, Perlmutter DH. Novel Treatment Strategies for Liver Disease Due to α 1-Antitrypsin Deficiency. *Clinical and Translational Science*. 2012;5(3):289–94.
20. Lin HC, Kasi N, Quiros JA. Alpha1-Antitrypsin Deficiency: Transition of Care for the Child With AAT Deficiency into Adulthood. *Current Pediatric Reviews*. 2018;15(1):53–61.
21. Greene CM, Marciniak SJ, Teckman J, Ferrarotti I, Brantly ML, Lomas DA, et al. α 1-Antitrypsin deficiency. *Nature Reviews Disease Primers* [Internet]. 2016;2(July):1–18.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2016.51>
22. Bouche-careilh M. Alpha-1 antitrypsin deficiency-mediated liver toxicity: Why do some patients do poorly? what do we know so far? *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases*. 2020;7(3):172–81.
23. Fiorotto R, Strazzabosco M. Pathophysiology of Cystic Fibrosis Liver Disease: A Channelopathy Leading to Alterations in Innate Immunity and in Microbiota. *Cmgh* [Internet]. 2019;8(2):197–207.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.04.013>
24. Parisi GF, di Dio G, Franzonello C, Gennaro A, Rotolo N, Lionetti E, et al. Liver disease in cystic fibrosis: An update. *Hepatitis Monthly*. 2013;13(8):8.
25. Raynal C, Corvol H. Variant classifications, databases and genotype-phenotype correlations. *Archives de Pédiatrie* [Internet]. 2020;27:eS13–8.
Available from: [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(20\)30045-2](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(20)30045-2)
26. Assis DN, Debray D. Gallbladder and bile duct disease in Cystic Fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2017;16:S62–9.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.07.006>

27. al Sinani S, Al-Mulaabed S, Naamani K al, Sultan R. Cystic fibrosis liver disease: Know more. *Oman Medical Journal*. 2019;34(6):482–9.
28. Kobelska-Dubiel N, Klineciewicz B, Cichy W. Liver disease in cystic fibrosis. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 2014;9(3):136–41.
29. Srivastava A. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* [Internet]. 2014;4(1):25–36.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jceh.2013.10.005>
30. Jacquemin E. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* [Internet]. 2012;36(SUPPL.1):S26–35.
Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2210-7401\(12\)70018-9](http://dx.doi.org/10.1016/S2210-7401(12)70018-9)
31. Baker A, Kerkar N, Todorova L, Kamath BM, Houwen RHJ. Systematic review of progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* [Internet]. 2019;43(1):20–36.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2018.07.010>
32. Sticova E, Jirsa M, Pawłowska J. New Insights in Genetic Cholestasis: From Molecular Mechanisms to Clinical Implications. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;2018.
33. Bull LN, Thompson RJ. Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis. *Clinics in Liver Disease* [Internet]. 2018;22(4):657–69.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.06.003>
34. Cho SJ, Kim GE. A practical approach to the pathology of neonatal cholestatic liver disease. *Seminars in Diagnostic Pathology* [Internet]. 2019;36(6):375–88.
Available from: <https://doi.org/10.1053/j.semmdp.2019.07.004>
35. Heubi JE, Setchell KDR, Bove KE. Inborn Errors of Bile Acid Metabolism. *Clinics in Liver Disease* [Internet]. 2018;22(4):671–87.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.06.006>
36. Nowaczyk MJ, Wassif CA. Smith-Lemli-Opitz Syndrome [Internet]. *GeneReviews®*. 2020. 1–24 p.
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1143/>
37. Steinberg SJ, Raymond G v, Braverman NE, Moser AB. Zellweger Spectrum Disorder Summary GeneReview Scope Suggestive Findings. *Gene Reviews* [Internet]. 2020;
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1448/>
38. Nicastro E, D’Antiga L. Next generation sequencing in pediatric hepatology and liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2018;24(2):282–93.

39. Mindnich R, Drury JE, Penning TM. The effect of disease associated point mutations on 5 β -reductase (AKR1D1) enzyme function. *Chemico-Biological Interactions* [Internet]. 2011 May;191(1–3):250–4.
Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279710006848>
40. Woodford LMG, Bissler JJ, Braun MC, Bockenhauer D, Cadnapaphornchai MA, Dell KM, et al. Consensus expert recommendations for the diagnosis and management of autosomal recessive polycystic kidney disease: report of an international conference. *J Pediatr*. 2014;165(3):611–7.
41. de Miranda Henriques MS, de Morais Villar EJ. The Liver and Polycystic Kidney Disease. In: *Polycystic Kidney Disease* [Internet]. Codon Publications; 2015. p. 425–41.
Available from: <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/85>
42. Rock N, McLin V. Liver involvement in children with ciliopathies. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* [Internet]. 2014;38(4):407–14.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2014.04.001>
43. Gunay-Aygun M, Font-Montgomery E, Lukose L, Tuchman Gerstein M, Piwnicka-Worms K, Choyke P, et al. Characteristics of congenital hepatic fibrosis in a large cohort of patients with autosomal recessive polycystic kidney disease. *Gastroenterology* [Internet]. 2013;144(1):112–121.e2.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.09.056>
44. Parks JS. Congenital Hypopituitarism. *Clinics in Perinatology* [Internet]. 2018;45(1):75–91.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clp.2017.11.001>
45. Voutetakis A, Sertedaki A, Dacou-Voutetakis C. Pituitary stalk interruption syndrome: Cause, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Current Opinion in Pediatrics*. 2016;28(4):545–50.
46. Wasserstein MP, Schuchman EH. Acid Sphingomyelinase Deficiency Summary Genetic counseling GeneReview Scope. *GeneReviews*. 2021;1–22.
47. Hoffman EP, Barr ML, Giovanni MA, Murray MF. Lysosomal Acid Lipase Deficiency [Internet]. *GeneReviews*®.
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26225414/>
48. 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 Journal of Gastroenterology*. 2019;25(30):4172–80.

49. Zhang B, Porto AF. Cholesteryl ester storage disease: Protean presentations of lysosomal acid lipase deficiency. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2013;56(6):682–5.
50. Carter A, Brackley SM, Gao J, Mann JP. The global prevalence and genetic spectrum of lysosomal acid lipase deficiency: A rare condition that mimics NAFLD. *Journal of Hepatology* [Internet]. 2019;70(1):142–50.
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.028>
51. Reynolds T. Cholesteryl ester storage disease: A rare and possibly treatable cause of premature vascular disease and cirrhosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2013;66(11):918–23.
52. Magoulas PL, El-Hattab AW. Glycogen Storage Disease Type IV [Internet]. GeneReviews®.
Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23285490>
53. DiMauro S, Garone C. Metabolic disorders of fetal life: Glycogenoses and mitochondrial defects of the mitochondrial respiratory chain. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* [Internet]. 2011;16(4):181–9.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2011.04.010>
54. Cohen BH, Chinnery PF, Copeland WC. POLG -Related Disorders Summary Clinical characteristics Genetic counseling GeneReview Scope. *GeneReviews*. 2020;1–32.
55. Gardeitchik T, Wyckmans J, Morava E. Complex Phenotypes in Inborn Errors of Metabolism: Overlapping Presentations in Congenital Disorders of Glycosylation and Mitochondrial Disorders. *Pediatric Clinics of North America*. 2018;65(2):375–88.
56. Fellman V, Kotarsky H. Mitochondrial hepatopathies in the newborn period. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* [Internet]. 2011;16(4):222–8.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2011.05.002>
57. Form H, El-hattab AW, Scaglia F, Wong L jun. Deoxyguanosine Kinase Deficiency Summary Suggestive Findings. 2020;1–14.
58. Almannai M, Scaglia F. MPV17- Related Mitochondrial DNA Maintenance Defect Clinical characteristics Genetic counseling GeneReview Scope Diagnosis Suggestive Findings. 2019;
59. Löllgen S, Weiher H. The role of the Mpv17 protein mutations of which cause mitochondrial DNA depletion syndrome (MDDS): Lessons from homologs in different species. *Biological Chemistry*. 2015;396(1):13–25.

60. Baker RA, Priestley JRC, Wilstermann AM, Reese KJ, Mark PR. Clinical spectrum of BCS1L Mitopathies and their underlying structural relationships. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2019;179(3):373–80.
61. Lichter-Konecki U, Caldovic L, Morizono H, Simpson K, Ah Mew N, MacLeod E. Ornithine Transcarbamylase Deficiency [Internet]. GeneReviews®. 2016. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24006547>
62. Saheki T, Song Y zong. Citrin Deficiency [Internet]. GeneReviews®. 2017. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301360>
63. Hayasaka K. Metabolic basis and treatment of citrin deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2021;44(1):110–7.
64. Saheki T, Moriyama M, Funahashi A, Kuroda E. Agc2 (Citrin) deficiency—from recognition of the disease till construction of therapeutic procedures. *Biomolecules*. 2020;10(8):1–17.
65. Hayasaka K, Numakura C. Adult-onset type II citrullinemia: Current insights and therapy. *Application of Clinical Genetics*. 2018;11:163–70.
66. Merritt JL, Chang IJ. Medium-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency [Internet]. Vol. 68, GeneReviews®. 2019. 302–304 p. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301597>
67. Instituto Nacional de Saude Doutor Ricardo Jorge. Diagnóstico Precoce: Doenças rastreadas [Internet]. [cited 2021 Nov 18]. Available from: <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/DiagnosticoPrecoce/Paginas/DoencasRastreadas.aspx>
68. Clouston AD. Pathologic Features of Hereditary Cholestatic Diseases. *Surgical Pathology Clinics* [Internet]. 2018;11(2):313–27. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.path.2018.02.001>
69. Teckman JH, Mangalat N. Alpha-1 antitrypsin and liver disease: Mechanisms of injury and novel interventions. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*. 2015;9(2):261–8.
70. Teckman JH, Jain A. Advances in alpha-1-antitrypsin deficiency liver disease. *Current Gastroenterology Reports*. 2014;16(1):1–7.
71. Wasserstein M, Dionisi-Vici C, Giugliani R, Hwu WL, Lidove O, Lukacs Z, et al. Recommendations for clinical monitoring of patients with acid sphingomyelinase deficiency (ASMD). Vol. 126, *Molecular Genetics and Metabolism*. 2019. p. 98–105.