

SUMÁRIO

Resumo.....	2
Abstract	3
Palavras-Chave.....	3
1. Introdução.....	4
2. Metabolismo da Bilirrubina.....	7
2.1 Vias Alternativas na Eliminação da Bilirrubina	13
2.2 Regulação Génica da Conjugação da Bilirrubina e suas Implicações	13
3. Mensuração da Bilirrubina no Organismo.....	16
4. Efeitos Nocivos e Protectores da Bilirrubina.....	19
4.1 Efeitos Nocivos	19
4.1.1 Neurotoxicidade	19
4.1.2 Formação de Cálculos de Bilirrubinato	20
4.2 Efeitos protectores	22
4.2.1 Poder Anti-oxidante.....	22
5. Classificação das Hiperbilirrubinémias Congénitas Familiares Não Hemolíticas.....	25
5.1 Hiperbilirrubinémia Não Conjugada	26
5.1.1 Síndrome de Gilbert	26
5.1.2 Síndrome de Crigler-Najjar	30
5.2 Hiperbilirrubinémia Conjugada	34
5.2.1 Síndrome de Dubin-Johnson	34
4.2.2 Síndrome de Rotor.....	36
6. Diagnóstico Diferencial das Hiperbilirrubinémias Isoladas	38
6.1 Icterícia Fisiológica Neonatal.....	40
6.2 Icterícia do Leite Materno	42
6.3 Hiperbilirrubinémia Induzida por Fármacos.....	44
6.4 Avaliação do Doente com Hiperbilirrubinémia Isolada	46
7. Tratamento das Hiperbilirrubinémias Isoladas	55
7.1 Fototerapia.....	55
7.2 Exsanguineo-transfusão.....	56
7.3 Tratamento Farmacológico.....	57
7.4 Transplantação Hepática e Transplante ortotópico de células hepáticas	58
7.5 Terapêuticas Emergentes	59
8. Algoritmo de Abordagem do Doente com Hiperbilirrubinémia Isolada	61
9. Bibliografia.....	62

RESUMO

O estudo das hiperbilirrubinémias congénitas familiares não hemolíticas é importante, pois estas incluem quer formas benignas, como a Síndrome de Gilbert, quer patologias com elevado índice de mortalidade, como a Síndrome de Crigler-Najjar. Ainda que algumas destas condições sejam benignas, é importante identificar os seus portadores, pois estes podem apresentar susceptibilidade aumentada para intoxicação por determinadas substâncias. Por outro lado, a Síndrome de Crigler-Najjar pode originar manifestações neurológicas irreversíveis, como o *kernicterus*, cuja incidência tem vindo a aumentar.

A hiperbilirrubinémia isolada é a única manifestação laboratorial das formas congénitas familiares não hemolíticas.

Apesar da maioria destas formas congénitas serem pouco prevalentes, o seu conhecimento é indispensável para o diagnóstico diferencial da hiperbilirrubinémia isolada.

Desta forma, os objectivos primordiais desta revisão passam por avaliar o valor semiológico da hiperbilirrubinémia isolada e os efeitos que lhe estão associados; analisar e compreender os mecanismos fisiopatológicos que lhe são inerentes; sistematizar e classificar as hiperbilirrubinémias familiares congénitas não hemolíticas; identificar os meios de diagnóstico passíveis de esclarecer a sua etiologia; efectuar adequadamente o diagnóstico diferencial de hiperbilirrubinémia isolada e, por fim, desenhar as estratégias terapêuticas mais convenientes.

ABSTRACT

The study of congenital familial nonhemolytic hyperbilirubinaemias is important, because it includes not only benign pathologies, such as Gilbert Syndrome, but also forms with a high mortality rate, such as Crigler-Najjar Syndrome. Even if some conditions are benign, it is important to identify them, because these patients show increased susceptibility to certain drugs. On the other hand, Crigler-Najjar Syndrome can cause irreversible neurological manifestations, such as kernicterus, whose incidence has been increasing.

Isolated hyperbilirubinaemia is the only laboratory manifestation of these nonhemolytic familiar congenital forms.

Although most of these congenital forms are not prevalent, their knowledge is essential for the differential diagnosis of isolated hyperbilirubinaemia.

Thus, the primary objectives of this review are to evaluate the semiological value of isolated hyperbilirubinaemia and its effects; to analyze and understand its pathophysiological mechanisms; to systematize and classify the familiar congenital nonhemolytic hyperbilirubinaemias; to identify diagnostic means that can help clarify its etiology; to correctly do the differential diagnosis of isolated hyperbilirubinaemia, and finally to draw the most appropriate therapeutic strategies.

PALAVRAS-CHAVE

Metabolismo da Bilirrubina; Hiperbilirrubinemia; Síndrome de Gilbert; Síndrome de Crigler-Najjar; Icterícia Fisiológica Neonatal; Icterícia do Leite Materno; Síndrome de Dubin-Johnson; Síndrome de Rotor; Kernicterus; Icterícia

1. INTRODUÇÃO

A bilirrubina é um pigmento de coloração amarelada, produzido pela degradação do heme, constituinte da hemoglobina. O aumento da sua concentração sérica (superior a 1 mg/dl) é designado por hiperbilirrubinémia¹, a qual pode ser apenas uma alteração laboratorial isolada ou acompanhar outras alterações analíticas. Para além disso, pode manifestar-se clinicamente, sob a forma de icterícia, alterações urinárias ou gastrointestinais.

A icterícia corresponde à pigmentação amarelada dos tecidos, decorrente da deposição de bilirrubina nos mesmos, tornando-se evidente quando os valores de bilirrubina total atingem os 3mg/dl¹. A icterícia pode ser o primeiro ou até mesmo o único sinal de doença hepática, sendo a sua avaliação de extrema importância.

Existem, no entanto, outras causas para a coloração amarelada da pele, como é o caso da deposição de carotenos – carotenodermia – ou o uso de fármacos como a quinacrina e ácido pícrico. A carotenodermia ocorre em indivíduos saudáveis que ingerem quantidades excessivas de vegetais e frutas, ricos em carotenos (cenoura, pêssago, laranja, abóbora)². Clinicamente, pode distinguir-se a carotenodermia da icterícia pela distribuição da pigmentação corporal. Enquanto na carotenodermia o pigmento concentra-se sobretudo nas palmas das mãos, plantas dos pés, região frontal e pregas naso-labiais, na icterícia tem uma distribuição corporal uniforme, com progressão cefalo-caudal, depositando-se também nas escleras, algo que não se verifica na carotenodermia². Relativamente à quinacrina, trata-se de um fármaco utilizado no tratamento da giardíase ou ainda como anti-helmíntico. Um dos seus efeitos adversos é

a pigmentação amarelada da pele, inclusive das escleras, sendo fundamental, na anamnese, excluir a sua toma¹.

Vários factores ambientais e genéticos contribuem para o desenvolvimento de hiperbilirrubinémia³. Esta alteração laboratorial é muito frequente na prática clínica e pode traduzir um amplo espectro de patologias, desde formas benignas a formas com elevado índice de mortalidade⁴. Deste modo, é necessário que o clínico tenha conhecimento e esteja atento aos sinais e sintomas que o doente pode apresentar, tendo em particular atenção os factores de risco que podem conduzir a hiperbilirrubinémia grave. O clínico deve estar familiarizado com as diferentes etiologias e a sua correcta abordagem, de modo a reduzir o número de exames complementares de diagnóstico, evitando custos desnecessários, e a minorar a preocupação e ansiedade causada nos doentes e seus familiares, principalmente naqueles com formas benignas.

As formas congénitas familiares não hemolíticas incluem patologias frequentes como a Síndrome de Gilbert e formas mais raras como a Síndrome de Crigler-Najjar, a Síndrome de Dubin-Johnson e a Síndrome de Rotor.

O interesse pelo estudo e identificação de doentes com estas formas, muitas vezes consideradas benignas, tem vindo a crescer, quer na compreensão da sua etiologia quer no desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes. Para além disso, estudos recentes indicam que estes doentes podem ter alterações no metabolismo de alguns fármacos, sendo por isso mais susceptíveis à sua toxicidade, tornando ainda mais relevante a abordagem deste tema⁵.

O conhecimento destas síndromas é indispensável, em particular no recém-nascido, devido à elevada frequência de icterícia nesta idade. Uma vez que a hiperbilirrubinémia isolada é a única alteração apresentada por estas síndromas, o diagnóstico diferencial entre causas fisiológicas e causas patológicas é fundamental,

para uma correcta abordagem destes doentes, tendo em vista um diagnóstico definitivo e um tratamento adequado.

Epidemiologicamente, existem diferenças na sua incidência e prevalência global atribuídas à existência de heterogeneidade étnica⁶. Os recém-nascidos de etnia asiática, incluindo as populações da China, Japão, Tailândia e da Coreia, demonstram uma maior incidência de hiperbilirrubinémia relativamente a outras populações e um maior risco de desenvolver hiperbilirrubinémia grave⁶.

2. METABOLISMO DA BILIRRUBINA

A bilirrubina (Brb) é o produto final do catabolismo do heme ⁷, que tem origem, em 70-90% ^{1,7}, na degradação da hemoglobina dos eritrócitos senescentes, que ocorre ao nível do sistema retículo-endotelial (SRE). O restante heme provém das células eritróides, que são destruídas prematuramente na medula óssea e do “turnover” das hemoproteínas (mioglobina, citocromos) ^{7,8}.

A formação de Brb ocorre principalmente nas células do SRE do baço (figura 1). A primeira reacção, catalisada pela enzima microsómica heme-oxigenase, cliva a ponte α do grupo porfirina (quebrando as ligações entre os 2 resíduos pirrólicos), originando, biliverdina, monóxido de carbono e ferro ^{9,10}. A segunda reacção, catalisada pela enzima citosólica biliverdina-reductase, converte a biliverdina em bilirrubina. Esta é designada de bilirrubina não conjugada (BNC) ou indirecta, a qual é lipossolúvel (solubilidade aquosa <0,5%) ⁷.

A BNC é transportada no sangue até ao fígado, 90% acoplada à albumina, por uma ligação reversível não covalente, e os restantes 10% acoplada à apolipoproteína D ^{7,11}. Uma vez dissociada da albumina, a BNC pode atravessar barreiras membranares, nomeadamente a placenta, a barreira hemato-encefálica e o endotélio vascular ¹².

No fígado, a captação hepática da BNC ocorre através de um processo activo mediado por um sistema da membrana sinusoidal, pertencente à família das proteínas transportadoras de aniões orgânicos (OATPs – organic anion transporter proteins - genes: SLCOs) ¹³. O OATP2 (também conhecido como transportador-1-específico-hepático) ^{14,15} e o OATP8 medeiam o transporte de aniões orgânicos como a bilirrubina,

conjugados de estrogénios e múltiplos tóxicos. Este sistema difere do sistema de absorção dos ácidos biliares¹³ (figura 2).

No hepatócito, a BNC é acoplada à proteína citosólica ligandina ou glutathione S-transferase. A ligandina limita o refluxo de BNC novamente para o plasma, através da criação de um gradiente entre este e o citosol⁷. A BNC é transportada para os microsomas do retículo endoplasmático liso, onde é conjugada¹³ com o ácido glicurónico, através da enzima uridina-difosfato-glicuroniltransferase (UDP-UGT1A1) formando mono e diglucoronídeos hidrofílicos de bilirrubina, designados conjuntamente por bilirrubina conjugada (BC) ou directa^{12,16} (Figura 1 e 2). Nos adultos, 80% dos conjugados são normalmente diglucoronídeos, enquanto os monoconjugados predominam nos recém-nascidos¹⁷. A conjugação é um processo indispensável para que possa ocorrer a excreção a bilirrubina na bÍlis, através dos canalículos biliares.^{7,12,13}.

A conjugação da bilirrubina é regulada pela disponibilidade de ácido glicurónico e pela actividade da enzima UGT1A1, pertencente à superfamília das enzimas UGTs¹⁸. Esta enzima é influenciada pela função hepática, por catiões divalentes, por factores nutricionais e hormonais (glucagina, secretina, tiroxina e cortisol) e, ainda, por receptores nucleares (RN) multifuncionais, incluindo:

- Constitutive androstam receptor (CAR)
- Pregnane X receptor (PXR)
- Glucocorticoid receptor (GR)
- Aryl hydro-carbon receptor (AhR)
- Hepatocyte nuclear receptor 1 α (HNF1 α)

Todos estes factores influenciam a transcrição da UGT1A1, através da estimulação do PBREM (phenobarbital-responsive enhancer module)^{6,19}. Para além disso, o CAR e o

AhR são regulados pela própria bilirrubina não conjugada. O interesse clínico destes receptores reside na possibilidade de tratamento da hiperbilirrubinemia através de moduladores farmacológicos¹⁹. Recentemente tem surgido a ideia de que compostos endobióticos (entre os quais a bilirrubina e os ácidos biliares) e xenobióticos partilham a mesma forma de transporte hepático e sistemas metabólicos, os quais são regulados, a nível transcripcional, pelos receptores nucleares (RN) acima referidos.

A expressão e função destes receptores são reguladas por mecanismos existentes em diferentes órgãos (intestino, fígado e rim) que actuam simultaneamente.

Quando a conjugação está comprometida não ocorre excreção e a bilirrubina não conjugada acumula-se na circulação e nos tecidos extravasculares, dando origem a diferentes patologias¹².

Após a conjugação, os glicuronídeos de bilirrubina são excretados para dentro do canalículo biliar, por um processo activo (dependente do ATP), através da proteína de membrana canalicular denominada por proteína associada à resistência de múltiplos medicamentos 2 (MRP2 – multidrug resistance associated protein, também conhecida por ABCC2)^{6,12}. Este transportador é partilhado por vários diâniões orgânicos. Contudo, a BNC e os sais biliares conjugados são secretados por outros transportadores ATP-dependentes, dos quais são exemplos o MRP4 (ABCC4), o MRP1 (ABCC1) e o FIC1²⁰.

Uma pequena fracção de bilirrubina conjugada é excretada directamente do hepatócito para o plasma, através da proteína transportadora MRP3 (ABCC3 ou CMOAT2) ATP-dependente, localizada na membrana basolateral do hepatócito (figura2)^{21,22}. Subsequentemente, e de acordo com Evita van de Steeg *et al.*²¹ a bilirrubina conjugada é recaptada pelo hepatócito, a jusante, através das proteínas OATP1A/1B, criando deste modo um circuito entre o hepatócito e o sinusóide. Os hepatócitos humanos expressam apenas duas proteínas OATP1A/1B na membrana

sinusoidal, a proteína OATP1B1 e a OATP1B3²¹ as quais são responsáveis pela captação dos glicuronídeos de bilirrubina e de vários fármacos (figura 2). A regulação destas proteínas é determinada geneticamente^{20,23}.

A radixina (proteína do citoesqueleto) é essencial à fixação da MRP2 à membrana canalicular, estando descritos estudos em ratos, onde a sua carência está associada a hiperbilirrubinémia conjugada por deficiente secreção da mesma para a bÍlis²⁴. A secreção canalicular é potenciada pelo gradiente eléctrico produzido pelo potencial negativo intracelular, gerado pela Na⁺/K⁺ ATPase na membrana basolateral do hepatócito. Este processo é sensível à hipóxia, choque e hipovolémia⁷.

Após a sua excreção na bÍlis, a BC circula no tracto biliar e é armazenada na vesícula biliar (entre as refeições), juntamente com a bÍlis, onde é hidrolisada (<2%) em BNC. Durante as refeições o conteúdo da vesícula biliar é libertado para o duodeno. Portanto, a obstrução ou inflamação do sistema biliar pode levar a regurgitação de conjugados de bilirrubina, normalmente não absorvíveis, juntamente com outros componentes da bÍlis, para a circulação⁷.

A bilirrubina conjugada desce através do tracto gastro-intestinal, sem ser absorvida pela mucosa intestinal, sendo hidrolisada em BNC pelas β -glicuronidases bacterianas, no íleo distal e no cólon (figura 1)¹³. A BNC é reduzida pelas bactérias anaeróbias intestinais, formando um grupo de tetrapirróis incolores hidrossolúveis – urobilinogénio^{1,7}. Cerca de 80-90% destes são excretados nas fezes, quer na forma inalterada, quer oxidados em derivados alaranjados denominados *urobilinas*. Os restantes 10-20% são absorvidos passivamente e posteriormente excretados através do fígado^{1,7,13}. Uma pequena fracção (geralmente <3mg/dl) alcança a circulação sistémica, sendo filtrada através dos glomérulos renais, e é eliminada na urina^{1,7} (figura 1). Contrariamente à bilirrubina conjugada, a bilirrubina não conjugada não é filtrada a

nível renal, uma vez que se encontra ligada à albumina, não existindo nenhum mecanismo de secreção tubular para a sua excreção renal¹.

É importante referir que existe um equilíbrio entre a síntese de BNC e a excreção fecal de pigmentos biliares⁷.

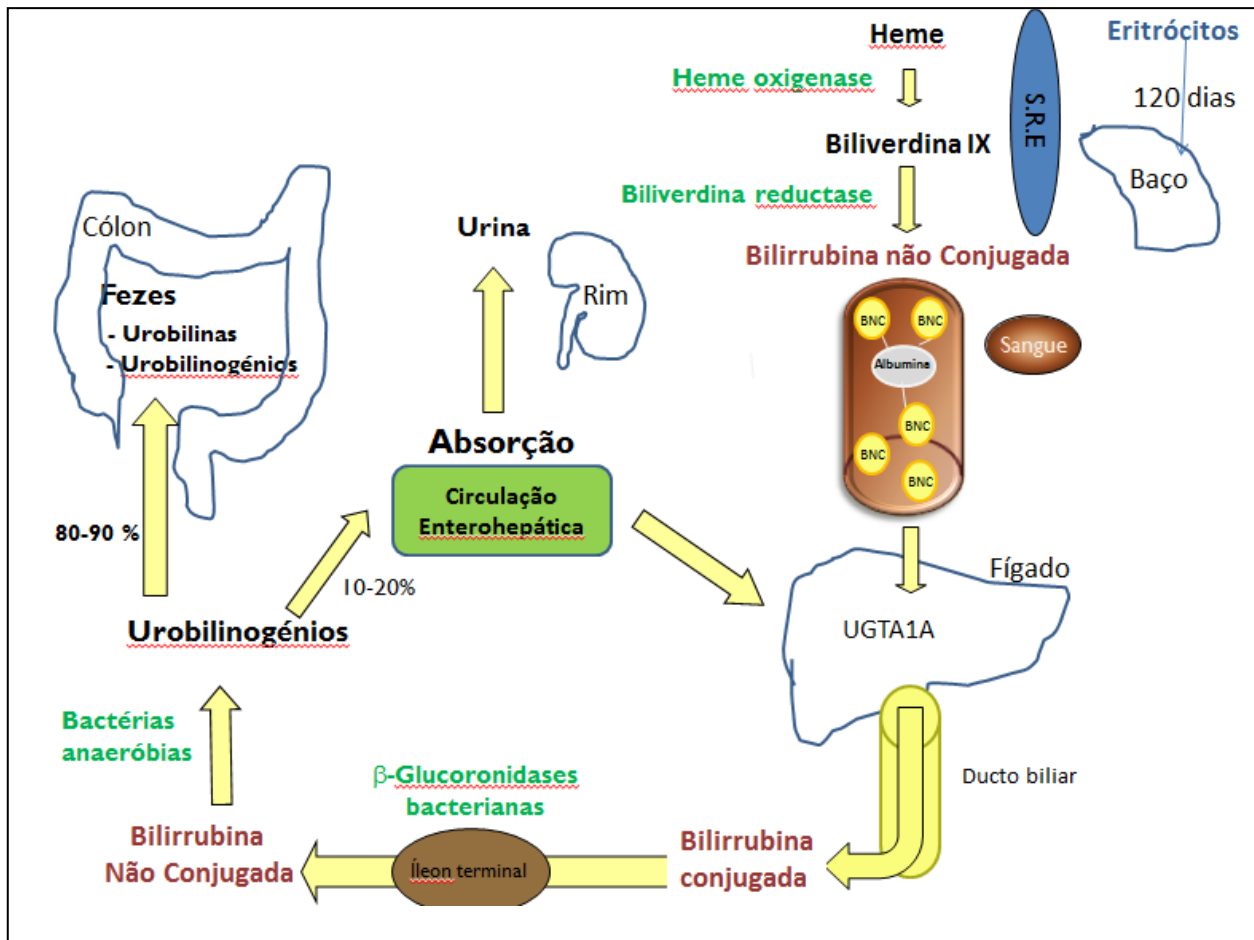


Figura 1. Metabolismo Geral da Bilirrubina

S.R.E. – sistema retículo-endotelial; BNC – bilirrubina não conjugada

A bilirrubina é formada no sistema retículo-endotelial (SRE), sendo transportada no sangue, acoplada à albumina, até ao fígado. Neste órgão é conjugada pela UGT1A1 e excretada para os canalículos biliares, tornando-se num dos constituintes da bÍlis. A bÍlis é armazenada na vesícula biliar e excretada no duodeno aquando das refeições, para exercer o seu papel na digestão lipídica. Durante o seu trajecto no tubo digestivo, a bilirrubina é reduzida pelas β-glucuronidases bacterianas, originando os urobilinogénios, que são posteriormente oxidados em urobilina. A urobilina é excretada maioritariamente nas fezes, mas uma pequena parte é reabsorvida sendo posteriormente filtrada pelos glomérulos renais e eliminada na urina.

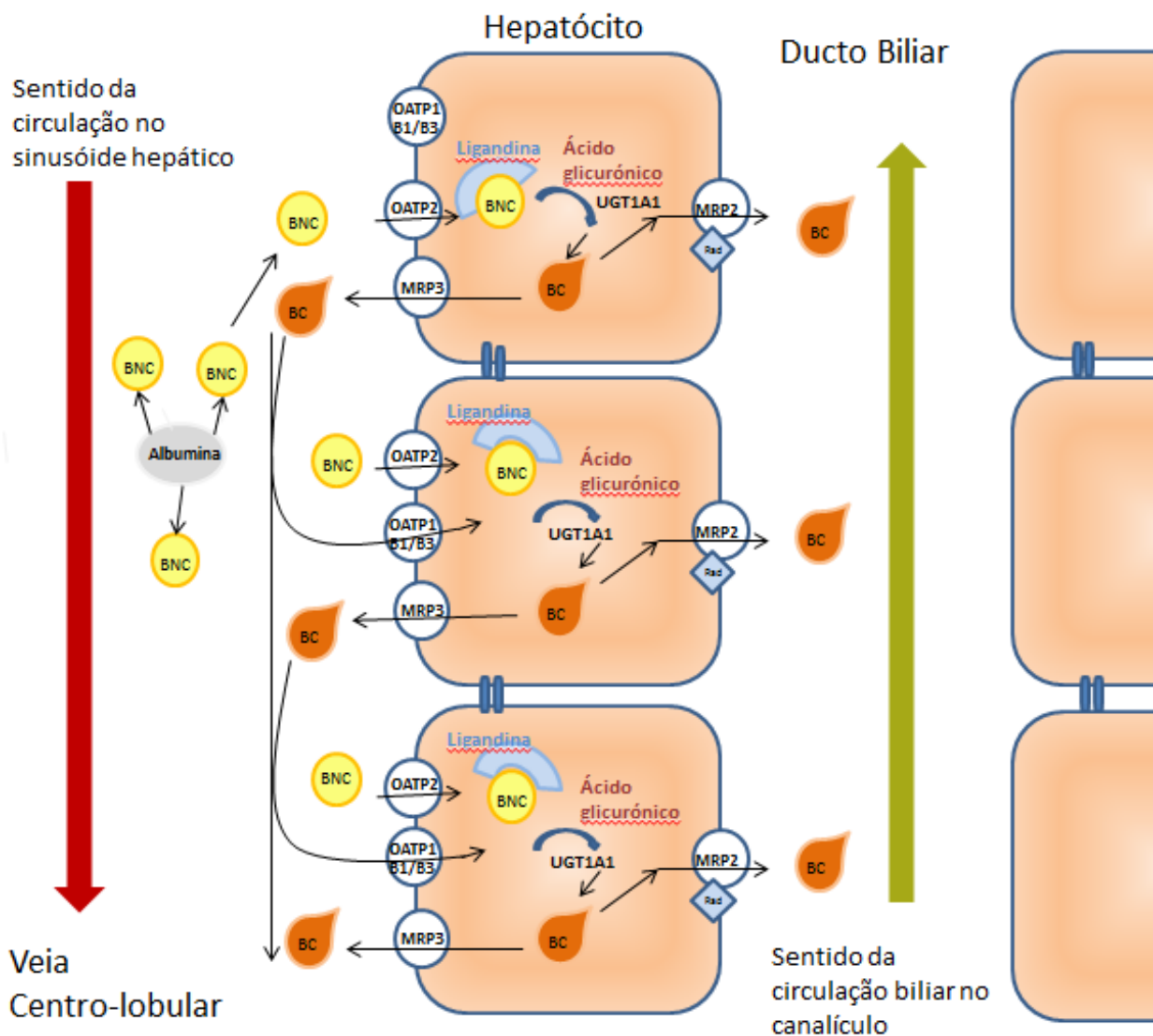


Figura 2. Circulação intra-hepática da bilirrubina.

O sangue flui dos ramos da veia porta em direcção à veia centro-lobular (ramo inicial da veia hepática) através dos sinusóides. Deste modo, a circulação sanguínea flui da periferia para o centro do lóbulo, transportando oxigénio, nutrientes e toxinas para os hepatócitos. A bÍlis flui na direcção oposta (do centro para a periferia) através dos canalículos biliares.

A bilirrubina não conjugada (BNC) entra nos hepatócitos através de transportadores OATPs (OATP2 ou OATPB1B e/ou OATP1B3) e é conjugada com ácido glicurónico, através da enzima UGT1A1, formando a bilirrubina conjugada (BC). A bilirrubina conjugada é secretada para a bÍlis, através da proteína MRP2. Uma pequena fracção da bilirrubina conjugada, intracelular, é secretada para o sangue pela proteína MRP3. Após a sua excreção no sangue, a bilirrubina conjugada é recaptada pelos hepatócitos a jusante através dos transportadores OATP1B1/3. Este circuito, da bilirrubina conjugada, previne a saturação dos mecanismos de excreção biliar dos hepatócitos a montante.

Adaptado de Evita van de Steeg *et. al*²¹.

2.1 VIAS ALTERNATIVAS NA ELIMINAÇÃO DA BILIRRUBINA

A via major da eliminação da bilirrubina é através da sua conjugação hepática e secreção biliar. Contudo, segundo estudos realizados em ratos, quando existe deficiência na enzima UGT1A1, a bilirrubina não conjugada pode ser catabolizada pelo citocromo microsomal hepático P448-monoxil-genase dependente (“hepatic microsomal cytochrome P448-dependent monoxyl-genases”). As enzimas envolvidas nesse processo são a CYP1A1 e a CYP1A2²². Para além disso, a bilirrubina pode ainda ser oxidada através da enzima “non-inducible mitochondrial bilirubin oxidase”.

Na hiperbilirrubinémia não conjugada grave, um dos principais mecanismos de excreção da BNC consiste na sua difusão directa através da mucosa intestinal, seguida de redução para urobilinogénios pela microflora intestinal⁷.

2.2 REGULAÇÃO GÉNICA DA CONJUGAÇÃO DA BILIRRUBINA E SUAS IMPLICAÇÕES

As enzimas UGTs são uma superfamília de enzimas, onde estão incluídas duas famílias, a UGT1 e UGT2, que catalisam a conjugação de várias substâncias entre as quais a bilirrubina, esteróides, ácidos biliares, fármacos e outros xenobióticos¹⁸.

A família UGT2 é responsável pela destoxificação de esteróides, fármacos (como a morfina e anti-inflamatórios não esteróides) e ácidos biliares, enquanto a UGT1 é constituída por várias isoformas, sendo responsável pela glicuronidação de vários compostos, entre os quais esteróides sexuais, vários fármacos (como a amitriptilina, cetoconazol, inibidores da protease, cetoprofeno e irinotecan) e xenobióticos ambientais (como aminas heterocíclicas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e compostos

fenólicos). Apenas a isoforma A1 (UGT1A1) é responsável pela conjugação da bilirrubina^{1,18}.

O gene UGT1A1 controla a conjugação da bilirrubina através da determinação da estrutura da enzima UGT1A1. O gene UGT1 localiza-se no cromossoma 2 (2q37)^{7,13} e é constituído por treze exões (regiões codificadoras) específicos de substrato, quatro exões comuns (2 a 5) e regiões não codificadoras (intrões). Portanto codifica nove isoformas funcionais. A isoforma 1A1 é codificada pelo exão 1A1 e pelos quatro exões comuns. A sua síntese é iniciada por uma região promotora não codificadora, constituída por uma sequência TATAA, a qual em condições fisiológicas é composta por seis repetições timidina-adenina: A (TA)₆ TAA, que regula a expressão génica¹⁸.

O Gene UGT1A1 é altamente polimórfico, tanto na região promotora como nos domínios de codificação^{6,22}. Mutações nos diferentes componentes genéticos afectam de forma variável a actividade de conjugação da bilirrubina. Se o exão de codificação estiver mutado, a enzima é estruturalmente modificada e, assim, funcionalmente ineficaz, como acontece nas Síndromas de Crigler-Najjar. Se as mutações afectarem a região promotora de não codificação (TATAA), a enzima é estrutural e funcionalmente normal, mas a sua expressão está diminuída e conseqüentemente a sua actividade, como acontece na Síndrome de Gilbert^{6,18,22}.

Têm sido descritas variantes genéticas de vários UGT1As em humanos, como exemplos, UGT1A1 (o UGT1A1*28 em mutação TATA na síndrome de Gilbert), UGT1A3, UGT1A6 e UGT1A7^{25,26}. Qualquer uma destas variantes polimórficas pode resultar na bio-transformação insuficiente de vários medicamentos, diminuindo a sua eficácia terapêutica e aumentando a susceptibilidade a toxicidade farmacológica^{27,28}. Por exemplo, os efeitos tóxicos graves do inibidor de topoisomerase I, irinotecan, são comuns em indivíduos com síndrome de Gilbert, devido à deficiente conjugação deste

fármaco por défice de UGT1A1. Por este motivo, alguns autores recomendam que os doentes que efectuem tratamento com irinotecan devem ser genotipados para o UGT1A1*28, e as doses deste fármaco ajustadas⁷.

3. MENSURAÇÃO DA BILIRRUBINA NO ORGANISMO

Na literatura estão descritas várias técnicas que podem ser utilizadas para estimar os níveis de bilirrubina no organismo. Elas incluem a técnica enzimática, a fluorimétrica, a quimioluminescência e a cromatografia líquida de alta performance - HPLC (high performance liquid chromatography) ²⁹. A técnica mais utilizada é a análise fotométrica, baseada na reacção original de Van den Bergh³⁰, o qual descreveu pela primeira vez os termos bilirrubina indirecta e directa que reflectem as concentrações de bilirrubina não conjugada e conjugada, respectivamente. Esta reacção baseia-se na análise espectrofotométrica de dois azopigmentos dipirrilmetenos, obtidos pela exposição da bilirrubina ao ácido sulfanílico diazotado^{1,29}. A fracção directa, na ausência de um catalisador, como o álcool, reage com o ácido sulfanílico diazotado, sendo esta fracção aquela que permite uma determinação aproximada da bilirrubina conjugada no soro. A bilirrubina sérica total é aquela que reage trinta minutos após a adição de álcool. O valor da fracção indirecta, correspondente à concentração sérica de bilirrubina não conjugada, é obtido através da diferença entre o valor da bilirrubina total e a fracção directa^{1,29}.

O valor normal da bilirrubina total sérica é geralmente inferior a 1 mg/dl, onde 30% correspondem à fracção directa, ou seja, até 0,3 mg/dl do valor de bilirrubina total¹.

Outro método de aferição da bilirrubina é através da sua medição transcutânea, designado por Bilirrubinometria transcutânea (TcB). Este método é utilizado para estimar a concentração de bilirrubina sérica total através da medição do espectro da radiação reflectida, a vários comprimentos de onda (450 e 550nm), pela pele do recém-nascido^{31,32}.

A medição da bilirrubina por este método apresenta várias limitações. Os valores da medição são influenciados pela fototerapia e exposição prévia à luz solar³³. Para além disso, os valores da medição são transformados em valores de concentração de bilirrubina através de algoritmos, os quais utilizam vários parâmetros, nomeadamente a concentração da hemoglobina (que diminui aproximadamente 10% na primeira semana de vida), a espessura da pele e a sua concentração em melanina. Estes dois últimos também influenciam a própria medição transcutânea^{34,35}. A TcB não deve ser utilizada em recém-nascidos com nevus, equimoses ou pele coberta com pêlos³³. A avaliação da hiperbilirrubinémia é efectuada com base num nomograma, como o desenvolvido por Bhutani *et al.*³⁶. Os nomogramas têm em consideração as diferenças étnicas existentes na população e demonstraram uma estreita correlação entre a concentração de bilirrubina sérica total e os valores obtidos por TcB^{37,38}. Contudo, a TcB não pode ser utilizada para prever o desenvolvimento de hiperbilirrubinémia grave, por não conseguir determinar com precisão a concentração de Brb sérica total quando esta atinge valores de 15 mg/dl ou superiores^{34,39,40}. O mesmo acontece quando os valores de bilirrubina excedem o percentil 75 do nomograma, devendo o valor de bilirrubina ser confirmado analiticamente^{33,34}. Ainda assim, vários estudos demonstraram que após a introdução da medição da bilirrubina através da TcB houve uma redução da readmissão hospitalar³⁴. Outros estudos sugerem que a medição rotineira com TcB pode conduzir a uma diminuição das colheitas sanguíneas para confirmação da concentração sérica de Brb total^{33,41,42}.

A medição da bilirrubina por este método aliada à idade gestacional e ao tempo de vida (em horas) tem sido empregue como rastreio antes da alta da maternidade, com o objectivo de identificar recém-nascidos em risco de desenvolver

hiperbilirrubinemia^{34,36}. Contudo, a medição analítica da concentração sérica da bilirrubina é o “gold standard” para avaliar a hiperbilirrubinemia^{33,43,44}.

4. EFEITOS NOCIVOS E PROTECTORES DA BILIRRUBINA

4.1 EFEITOS NOCIVOS

4.1.1 NEUROTOXICIDADE

A BNC circula no sangue acoplada à albumina e devido à sua lipossolubilidade difunde-se livremente através das membranas⁷.

Quando existe hiperbilirrubinemia não conjugada grave (Brb total >25mg/dl)¹, ocorre a saturação da ligação à albumina, havendo um aumento da fração livre de bilirrubina (Bf). Esta pode atravessar a barreira hematoencefálica e depositar-se no SNC, nomeadamente nos gânglios da base, hipocampo e cerebelo^{13,45,46}. Como consequência, poderão ocorrer lesões neurológicas, conhecidas como disfunção neurológica induzida pela bilirrubina (BIND - bilirubin-induced neurologic dysfunction)⁴⁶. O termo encefalopatia aguda da bilirrubina (EAB) é empregue para descrever as manifestações agudas da BIND. O *kernicterus* é o termo utilizado para descrever as sequelas crónicas e permanentes da BIND⁴⁵⁻⁴⁸, sendo a complicação mais temível da hiperbilirrubinemia grave. Apresenta uma taxa de morbilidade de 70% e de mortalidade de 10%⁴⁹. A sua verdadeira incidência é desconhecida por não ser uma patologia de declaração obrigatória⁴⁹. A abordagem adequada do recém-nascido, que se apresenta com hiperbilirrubinemia grave, é imperativa, de modo a prevenir as lesões neurológicas. No entanto, mesmo com a instituição de um tratamento adequado os recém-nascidos podem desenvolver *kernicterus*⁴⁸.

As lesões neurológicas podem ter uma apresentação clínica muito variada. A forma aguda manifesta-se com letargia, hipotonia, irritabilidade e sucção diminuída e se não for tratada o recém-nascido pode apresentar hipertonia (com *retrocollis* e

opistótonus), apneia, convulsões e morte⁴⁸. Os recém-nascidos que sobrevivem e apresentam *kernicterus* apresentam um largo espectro de alterações desde anormalidades motoras e sensoriais (auditivas e oculares) a alterações cognitivas irreversíveis^{13,16,48,50}.

Na tentativa de esclarecer os mecanismos da encefalopatia, foi criado um modelo que considera 3 factores importantes:

- 1) Concentração plasmática da fracção livre de bilirrubina não conjugada
- 2) Concentração intracelular de bilirrubina não conjugada
- 3) Mecanismos moleculares que limitam a acumulação intracelular de bilirrubina não conjugada⁵⁰.

Estudos *in vitro* enfatizam que a difusão da BNC para o interior das células é determinada pela fracção livre de bilirrubina plasmática e pelos mecanismos de secreção na membrana celular^{49,50}. No entanto, a concentração de fracção livre *per se* não é preditiva da ocorrência ou da gravidade da lesão cerebral. Estes estudos revelaram que existe uma relação directa, entre a exposição directa à alta concentração de Bf e a disfunção neuronal. Segundo os mesmos, a neurotoxicidade é exacerbada e ocorre em concentrações inferiores de Bf, quando a excreção da BNC pela proteína MRP1 está inibida ou geneticamente ausente^{49,50}.

4.1.2 FORMAÇÃO DE CÁLCULOS DE BILIRRUBINATO

Os cálculos biliares, de acordo com a sua composição, podem ser divididos em:

- 1) Cálculos de colesterol
- 2) Cálculos pigmentares pretos
- 3) Cálculos pigmentares castanhos

Para que a formação de cálculos biliares possa ocorrer é necessário que:

- 1) Haja supersaturação da bÍlis com sais de cálcio ou colesterol.
- 2) O(s) composto(s) supersaturado(s) precipite(m) para formar um pequeno núcleo para o cálculo.
- 3) Os núcleos permaneçam na vesícula biliar ou árvore biliar o tempo suficiente para que o cálculo se torne macroscópico, sendo a retenção de bÍlis promovida pela estase, hipomotilidade contráctil da vesícula e obstrução das vias biliares ^{7,51}.

Tanto os cálculos pigmentares pretos como os castanhos são compostos por bilirrubinato de cálcio estando a sua formação associada a factores que levam ao aumento da concentração de bilirrubina, nomeadamente:

- 1) Aumento do pH biliar.
- 2) Aumento da secreção biliar de bilirrubina.
- 3) Secreção biliar normal de bilirrubina, com aumento da hidrólise dos conjugados secretados, a qual pode ser devida a:
 - i. aumento do conteúdo biliar de β -glicuronidases, geralmente de origem bacteriana.
 - ii. proporção superior ao normal (> 15-20%) de monoglicuronídeos de bilirrubina na bÍlis, secundária à diminuição da actividade hepática da UGT1A1 (síndrome Gilbert)⁷.

4.2 EFEITOS PROTECTORES

4.2.1 PODER ANTI-OXIDANTE

Os efeitos antioxidantes da bilirrubina foram descritos pela primeira vez em 1954 por Bernard *et al.*^{16,50}, tendo este demonstrado que pequenas quantidades de bilirrubina impediam a auto-oxidação de vitamina A e ácidos gordos insaturados. Aparentemente, a oxidação da bilirrubina é um dos principais mecanismos através do qual, a bilirrubina exerce o seu efeito protector contra os efeitos lesivos do stresse oxidativo⁵⁰.

Os efeitos antioxidantes dos pigmentos biliare, *in vitro*, incluem:

- 1) Eliminação de radicais “peroxyl”
- 2) Inibição da peroxidação da membrana lipídica
- 3) Sequestro de espécies reactivas de nitrogénio (RNS)¹⁷

Nos últimos anos têm sido realizados inúmeros estudos *in vitro* e *in vivo* em diversos sistemas biológicos, os quais destacam o valor potencialmente benéfico dos pigmentos biliare, nomeadamente na prevenção ou tratamento de doenças cardiovasculares, pulmonares e cancro¹⁶. Muitos estudos têm demonstrado que concentrações micromolares fisiológicas de bilirrubina, protegem as células do stresse oxidativo¹⁶. Baranano *et al.*⁵² relatou que concentrações de bilirrubina inferiores a 10nmol/l foram consideradas eficazes na protecção de células neuronais *in vitro*, contra o stresse oxidativo de uma concentração 10000 vezes superior de peróxido de hidrogénio. Este facto foi explicado pela conversão contínua de biliverdina em bilirrubina, através da enzima biliverdina reductase^{7,12,50}. Contudo, estudos recentes sobre química oxidativa da bilirrubina contrapõem esta teoria, defendendo que, tal mecanismo para ser eficiente exigiria uma conversão estequiométrica quase quantitativa

de bilirrubina para biliverdina como primeiro passo, o que não está de acordo com estudos que demonstram que a bilirrubina quando reage com espécies reactivas de oxigénio é degradada em fragmentos incolores¹².

Em adultos, com valores de bilirrubina total normais, a bilirrubina constitui aproximadamente 10% da capacidade antioxidante total^{49,53}. Os níveis de bilirrubina não conjugada estão directamente correlacionados com a capacidade antioxidante total sérica. Esta relação está documentada num estudo que demonstrou que a capacidade antioxidante total estava aumentada no soro de indivíduos com Síndrome de Gilbert e no soro normal enriquecido com bilirrubina *in vitro*⁵⁰. Em recém-nascidos de termo e prematuros, a remoção de bilirrubina por exsanguíneo-transfusão diminuiu a capacidade antioxidante⁵⁰. Contudo, a informação existente é contraditória, pois outros estudos revelaram uma capacidade oxidativa mais baixa em recém-nascidos com hiperbilirrubinémia, comparativamente com adultos que apresentaram valores normais⁵⁰.

No que concerne ao tratamento de doenças, estudos demonstraram que a bilirrubina não conjugada em baixas concentrações:

- 1) Protegeu o miocárdio de lesões isquémicas;
- 2) Reduziu a geração de radicais livres durante a hipóxia em miócitos cardíacos;
- 3) Impediu lesões, mediadas pelo stresse oxidativo, em células endoteliais;
- 4) Inibiu a actividade quimiotáctica dos monócitos induzida pelo stresse oxidativo;
- 5) Suprimiu a formação de trombos vasculares^{16,50}.

O efeito da bilirrubina não conjugada seja ele tóxico ou protector, dependerá não só da concentração sanguínea e/ou concentração da fracção livre nos tecidos, mas também da natureza da célula/tecido alvo, do tipo de agressão e do estado oxidante-reductor da célula¹⁶.

Uma vez que os estudos existentes não são concordantes, e principalmente nos recém-nascidos, a hiperbilirrubinémia não deve ser encarada como um poderoso antioxidante, que tem a capacidade de proteger as células, mas como um tóxico. A neurotoxicidade provocada nos recém-nascidos continua a ser potencialmente mortal.

5. CLASSIFICAÇÃO DAS HIPERBILIRRUBINÉMIAS CONGÊNITAS FAMILIARES NÃO HEMOLÍTICAS

A hiperbilirrubinemia, de uma forma geral, pode ser classificada de acordo com a fração que está elevada, dividindo-se em hiperbilirrubinemia não conjugada ou em hiperbilirrubinemia mista predominantemente conjugada. Os principais mecanismos etiológicos compreendem, alterações do metabolismo da bilirrubina, na sua origem/produção, no seu transporte na circulação, na captação, conjugação e excreção/secreção hepáticas e na sua eliminação. A hiperbilirrubinemia tem múltiplas causas, entre as quais as formas congênitas familiares, cuja principal alteração consiste na elevação isolada da bilirrubina⁵⁴. Contudo, existem outras condições clínicas que cursam também com esta alteração sendo abordadas mais à frente.

5.1 HIPERBILIRRUBINÉMIA NÃO CONJUGADA

5.1.1 SÍNDROMA DE GILBERT

É uma síndrome comum com hereditariedade autossômica recessiva com expressividade variável. Caracteriza-se laboratorialmente por hiperbilirrubinemia isolada com aumento da fracção não conjugada (indirecta), devido à redução da actividade da UGT1A1 em aproximadamente 30% do normal, com função hepática normal^{5,13,55}.

A hiperbilirrubinemia não conjugada é ligeira. Por definição, os níveis de bilirrubina total são inferiores a **6mg/dl**, embora a maioria dos doentes apresente valores inferiores a 3mg/dl. Pelo menos 25% dos doentes apresentam flutuações diárias e sazonais dos valores de bilirrubina, sendo que, durante um acompanhamento prolongado, estes doentes apresentam valores temporariamente normais^{1,56}.

O espectro clínico da hiperbilirrubinemia desta síndrome pode ser semelhante ao da síndrome de Crigler-Najjar tipo II, com concentrações de bilirrubina entre 5-8mg/dl, dificultando o seu diagnóstico.

Epidemiologia: Apresenta uma prevalência entre 5-10% na população caucasiana ocidental e é mais frequente nos homens, sendo a relação homem:mulher de 2:1 a 7:1⁵⁷. Esta síndrome não se restringe a nenhum grupo étnico, podendo ocorrer em qualquer pessoa^{1,5,55}. Um em cada 3 portadores da doença desconhece que a tem⁵⁵.

Etiologia: Os doentes afectados apresentam um defeito no gene que codifica a enzima UGT1A1. Existem dois tipos de mutações de UGT1A1. Um polimorfismo dinucleótido na região promotora mais frequentemente A(TA)₇TAA em vez da A(TA)₆TAA, sendo os caucasianos com SG na sua maioria homocigotos para esta

mutação^{56,58}. O alelo do gene responsável por este polimorfismo é designado por UGT1A1*28. A segunda é uma mutação na região codificante do gene UGT1A1, como a mutação G71R e Y486D. Este tipo de mutação é rara em caucasianos, mas é comum em Asiáticos^{59,60}. A existência destas mutações leva a uma redução, em 60-70%, da conjugação da bilirrubina⁵⁵.

Clínica: Esta doença manifesta-se geralmente em adultos jovens que apresentam hiperbilirrubinémia leve, predominantemente não conjugada. Raramente é diagnosticada antes da puberdade, quando as alterações da concentração das hormonas sexuais afectam o metabolismo da bilirrubina, levando a aumento das concentrações plasmáticas de bilirrubina. O aumento das concentrações séricas de bilirrubina não conjugada pode levar a episódios intermitentes de icterícia não pruriginosa, a qual pode ser desencadeada pelo jejum, infecções, desidratação, cirurgia, exercício físico e insónias^{55,61}.

Durante os episódios de icterícia podem ocorrer sintomas, como o cansaço, causados pelo factor precipitante e não como consequência directa da doença⁵⁵. Ao exame físico devem ser excluídas alterações como a hepatoesplenomegália e estigmas de doença hepática⁵⁵.

Diagnóstico: É de exclusão, sendo necessário obter um hemograma com contagem de reticulócitos, para excluir hemólise, bioquímica da função hepática com bilirrubina total e directa e sumária de urina (onde não deverá existir colúria, uma vez que a bilirrubina não conjugada não é hidrossolúvel). Devem ser efectuadas no mínimo três determinações dos níveis de bilirrubina, com um mês de intervalo entre cada uma, antes de se confirmar a hiperbilirrubinémia isolada, uma vez que há variação nas concentrações de bilirrubina¹³.

O diagnóstico pode ser confirmado quando o doente apresenta:

- Ausência de sintomas e/ou sinais sugestivos de doença hepatobiliar;
- Provas de função hepática normais (transaminases e albumina);
- Hiperbilirrubinemia não conjugada (a bilirrubina conjugada está dentro dos parâmetros normais e/ou corresponde a menos de 20%-30% do total de bilirrubina) ^{1,55}

Nos casos em que existem dúvidas no diagnóstico e os doentes estão particularmente ansiosos, o estudo genético poderá ser realizado, mas na maioria das vezes não é necessário⁵⁵.

Os estudos imagiológicos do fígado e vias biliares são desnecessários.

Os pigmentos biliares demonstram um aumento característico dos monoglicuronídeos da bilirrubina⁶².

Existem múltiplos testes que podem ser realizados para confirmar o diagnóstico desta síndrome, mas, raramente são utilizados e o seu uso não se justifica na prática clínica:

- . Teste provocativo de 48h de jejum;
- . Administração endovenosa de ácido nicotínico;
- . Teste do Fenobarbital – a sua administração normaliza tanto a concentração sérica como a depuração de bilirrubina;
- . Cromatografia em camada fina;
- . PCR (Polimerase Chain Reaction);
- . Biópsia Hepática - cujo resultado histológico será normal, à excepção de um aumento moderado do pigmento de lipofuscina nalguns doentes^{55,57,63}.
- . Vários testes como a “clearance” do verde de indocianina e “clearance” da sulfobromoftaleína (BSP) podem ser empregues no diagnóstico⁶⁰.

Uma vez que a UGT1A1 está envolvida na glucuronidação de várias substâncias tóxicas, os indivíduos com síndrome de Gilbert são mais susceptíveis à sua toxicidade. Alguns fármacos inibem a actividade da enzima UGT1A1, como o genfibrozil e inibidores da protease como o atazanavir e indinavir e podem despoletar episódios de icterícia⁶⁴. Foram descritas alterações no metabolismo do paracetamol nestes doentes, contudo não existem relatos de toxicidade em doses terapêuticas. A eliminação da maioria dos xenobióticos metabolizados por glicuronoconjugação parece ser normal, com a excepção dos seguintes fármacos: irinotecan, metanol, benzoato de estradiol, paracetamol, tolbutamida e rifampicina^{1,5,13}.

Os doentes devem ser genotipados para o UGT1A1*28, e as doses destes fármacos, quando prescritas, devem ser ajustadas^{7,60}.

Tratamento e Prognóstico: A síndrome de Gilbert é uma forma benigna que não requer tratamento nem conduz a lesão hepática. Estes doentes têm uma esperança média de vida igual à da população em geral e não têm indicação para fazer restrições alimentares, nem restrição da sua actividade física. Devem evitar factores de risco conhecidos que precipitem a ocorrência de icterícia, como o jejum e a desidratação¹³. A susceptibilidade à toxidade farmacológica que estes doentes apresentam, torna essencial a identificação dos portadores desta síndrome. Nos recém-nascidos esta síndrome está associada a maior severidade e duração da icterícia neonatal.

5.1.2 SÍNDROMA DE CRIGLER-NAJJAR

Esta síndrome foi descrita pela primeira vez por Crigler e Najjar⁶⁵ em 1952, em indivíduos que apresentavam icterícia congênita familiar não hemolítica e *kernicterus*. É uma síndrome com herança autossômica recessiva que ocorre devido a deficiência na enzima UGT1A1 e conseqüentemente na conjugação da bilirrubina, com acumulação de bilirrubina não conjugada^{13,66}. Estudos posteriores permitiram dividir esta síndrome em dois tipos, tipo I e tipo II, com base na resposta ao fenobarbital.

5.1.2.1 Síndrome de Crigler-Najjar tipo I

Epidemiologia: Esta síndrome é um distúrbio raro com uma prevalência de 0,6-1 por milhão, com transmissão autossômica recessiva. É a forma mais grave de hiperbilirrubinemia não conjugada^{67,68}. Esta forma está associada a icterícia grave com comprometimento neurológico, devido a encefalopatia da bilirrubina que pode resultar em sequelas neurológicas permanentes (*kernicterus*)⁶⁹.

Etiopatogenia: Foram identificadas mais de trinta lesões genéticas diferentes de UGT1A1 responsáveis por CN-I,¹³ consistindo em deleções, mutações ou inserções num dos exões comuns (2 a 5), que constituem o gene UGT1A1¹⁸.

Diagnóstico: os doentes apresentam hiperbilirrubinemia marcada, superior a **25 mg/dl** podendo atingir valores de 45mg/dl, que se manifesta no período neonatal e persiste por toda a vida^{1,68,69}.

As provas de função hepática são normais e a histologia hepática habitualmente é normal, excepto a presença ocasional de tampões biliares dentro dos canalículos¹.

No tipo I, não existe qualquer expressão constitutiva identificável de UGT1A1 no tecido hepático, estando os glicuronídeos de bilirrubina praticamente ausentes na bÍlis⁶⁹.

A actividade da UGT1A1 e a concentração sérica de bilirrubina não respondem à administração de fenobarbital ou outros indutores enzimáticos. A BNC acumula-se no plasma e é eliminada muito lentamente, através da passagem directa para a bÍlis e intestino delgado, sendo estas vias responsáveis pelas pequenas quantidades de urobilinogénios presentes nas fezes e pela inexistência de bilirrubinúria¹.

O diagnóstico definitivo é feito através de análises genéticas⁶⁸.

Tratamento e Prognóstico: Estes doentes morriam durante a infância devido à falta de tratamento eficaz⁶⁹. O prognóstico melhorou com a introdução da fototerapia, sendo a mesma realizada na infância. Contudo, a qualidade de vida destes doentes está profundamente comprometida, necessitando de realização de fototerapia até 12 h por dia⁶⁹. A eficácia da fototerapia diminui com o envelhecimento (provavelmente devido à desfavorável relação entre a superfície corporal/peso e ao aumento da espessura da pele e da sua pigmentação)^{69,70}. A plasmaferese é o método mais eficiente para reduzir rapidamente a concentração de bilirrubina^{69,71}. A remoção da albumina através deste método resulta numa diminuição equimolar da concentração sérica de bilirrubina, porque a bilirrubina não conjugada está fortemente ligada à albumina.

Quando a fototerapia deixa de ser eficiente, o transplante ortotópico de células hepáticas pode ser realizado⁷⁰. Embora esta terapêutica seja promissora, estudos indicam que pelo menos 15% dos doentes necessitam de um novo transplante, em cerca de um ano, devido a rejeição do enxerto e fibrose progressiva do mesmo⁷⁰.

Ainda assim, o transplante hepático é a melhor atitude terapêutica na prevenção da lesão cerebral e morte⁶⁶.

5.1.2.2 Síndrome de Crigler-Najjar tipo II

Epidemiologia: é um distúrbio raro com transmissão autossômica recessiva⁶⁶.

Etiopatogenia: o tipo II é causado por uma deficiência severa e incompleta, das regiões de codificação do gene UGTA1A e conseqüentemente na enzima UGTA1A⁶⁶.

Clínica: A icterícia é identificada na primeira infância e mantém-se por toda a vida. Por vezes o diagnóstico é efectuado na adolescência e fase adulta, complicando o diagnóstico diferencial com a SG⁶⁹.

Diagnóstico: caracteriza-se por hiperbilirrubinemia não conjugada, intensa e permanente, que surge no período neonatal e persiste por toda a vida⁶⁹. Os níveis de bilirrubina total são habitualmente **inferiores a 20mg/dl**, variando os níveis entre 10-20mg/dl^{68,69}.

As provas de função hepática são normais, bem como a histologia hepática.

Os níveis de UGT1A1 no fígado são normalmente baixos (0a 10% do normal)⁶⁰ existindo conjugados de bilirrubina na bÍlis, na sua maioria monoglicuronídeos^{1,66}.

Esta síndrome apresenta resposta aos indutores enzimáticos como o fenobarbital, com uma diminuição superior a 25% das concentrações séricas da bilirrubina^{66,67,69}. No entanto, as concentrações de bilirrubina não atingem níveis normais permanecendo tipicamente entre **3-5mg/dl**^{1,66,69}.

Tratamento e Prognóstico: A terapia com fenobarbital é amplamente recomendada, em doses de 1-2mg/kg/dia¹³, sendo as doses ajustadas segundo a resposta apresentada. Uma única dose ao deitar, é suficiente como terapêutica de manutenção para manter concentrações de bilirrubina plasmática clinicamente apropriadas⁶⁹. Apesar da incidência de *kernicterus* ser baixa, estão descritos casos em adolescentes e adultos, a

maioria das vezes na vigência de intercorrências, como por exemplo o jejum ou outro factor⁶⁹.

O diagnóstico definitivo da Síndrome de Crigler-Najjar é efectuado através a análise da bÍlis pelo método HPLC⁷².

Durante algum tempo pensava-se que o fenobarbital exercia a sua acção directamente na enzima UGT1A. Hoje, sabe-se que o fenobarbital actua no “phenobarbital responsive enhancer module” (PBREM), o qual induz a produção de UGT1A pelo estimulação do gene UGT1A¹⁸.

Actualmente estão a ser desenvolvidos estudos no sentido de encontrar novas estratégias terapêuticas. A terapêutica génica tem sido amplamente estudada, incluindo métodos não virais, como a utilização mediada por receptores de plasmídeos e oligonucleótidos quiméricos para correcção génica, e métodos mediados por vectores virais, como adenovírus e retrovírus^{66,69}. Contudo, estas estratégias ainda estão em fases precoces da sua possível aplicação clínica.

5.2 HIPERBILIRRUBINÉMIA CONJUGADA

5.2.1 SÍNDROMA DE DUBIN-JOHNSON

É um distúrbio benigno, relativamente raro com herança autossómica recessiva caracterizado por hiperbilirrubinémia conjugada crónica^{73,74}.

Estão descritas inúmeras mutações no gene ABCC2 (localizado no cromossoma 10q24), que provocam ausência da proteína canalicular MRP2 sendo responsáveis pela doença^{74,75}.

Epidemiologia: Ocorre em todas as raças e nacionalidades e em ambos os sexos⁶⁰. É uma síndrome rara, excepto em judeus sefarditas nos quais a incidência é de cerca de 1:3000^{60,76}.

Etiopatogenia: Estes doentes apresentam um defeito na excreção de conjugados aniónicos, nomeadamente a bilirrubina conjugada, agentes de contraste colecistográficos orais bem como a sulfobromoftaleína (BSP). Contudo, conseguem excretar ácidos biliares, o que reflecte um defeito do transportador canalicular MRP2^{74,77}. Os glicuronídeos de bilirrubina são excretados directamente para o plasma, através do transportador MRP3 (ABCC3)²¹.

Clínica: A maioria dos doentes são assintomáticos, contudo, alguns pode apresentar dor abdominal discreta no hipocôndrio direito, astenia, náuseas ou vómitos^{60,74}.

O exame físico é frequentemente normal, podendo no entanto, alguns doentes apresentar icterícia leve e hepatoesplenomegália.

Diagnóstico: Esta síndrome é diagnosticada mais frequentemente na adolescência e nos adultos jovens^{74,75}. Contudo, existem casos descritos de diagnóstico efectuado no período neonatal⁷⁶⁻⁸³.

Laboratorialmente, os doentes apresentam hiperbilirrubinemia predominantemente conjugada com concentrações totais de bilirrubina entre **2-5mg/dl**, podendo alcançar níveis de 20-25mg/dl, e provas de função hepática normais¹.

As concentrações de bilirrubina apresentam flutuações e podem aumentar devido a infecções, uso de contraceptivos orais, gravidez, alterações hormonais^{60,74}.

Macroscopicamente o fígado apresenta aspecto escuro, devido à deposição de um pigmento escuro nos lisossomas dos hepatócitos, avaliado por microscopia electrónica^{60,75,76}.

Estes doentes apresentam uma excreção urinária total de coproporfirina normal, porém, mais de 80% desta são representados pelo isómero I, quando normalmente cerca de 75% da coproporfirina na urina são representados pelo isómero III^{60,77,78}.

Os doentes com SDJ exibem uma “clearance” de BSP normal aos 45 minutos, e um aumento característico na sua concentração plasmática, 90 minutos após a sua injeção (pico bifásico)⁶⁰. Isto ocorre devido ao refluxo de BSP conjugada para a circulação a partir do hepatócito¹. Assim, na colecistografia há um atraso ou ausência de visualização das vias biliares e vesícula biliar⁸⁴.

Tratamento e Prognóstico: Esta síndrome não necessita de tratamento^{60,75}. Estes doentes têm uma esperança de vida igual à da população geral⁷⁵. Alguns autores sugerem que nas formas severas neonatais pode ser administrado fenobarbital ou ácido ursodesoxicólico^{80,85}.

4.2.2 SÍNDROMA DE ROTOR

É um distúrbio autossômico recessivo benigno semelhante à síndrome de Dubin-Johnson⁸⁴.

Etiopatogenia: A causa desta síndrome durante muito tempo foi desconhecida. Recentemente, Evita van de Steeg *et al*,²¹ descreveu o mecanismo molecular e genético subjacente a esta síndrome, através da análise de oito famílias com Síndrome de Rotor. Apesar deste avanço, os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a esta síndrome, ainda não estão totalmente esclarecidos.

Constatou-se que esta síndrome está ligada a mutações simultâneas nos genes SLCO1B1 e SLCO1B3, localizados no cromossoma 12, que causam deficiências completas de ambos os transportadores aniônicos orgânicos, o OATP1B1 e o OATP1B3, os quais, como já referido, medeiam a recaptação e “clearance” hepática da bilirrubina conjugada e vários tóxicos²¹. Doentes com mutações no gene SLCO1B1 apresentaram alterações dos níveis plasmáticos de vários fármacos, como as estatinas, o metotrexato e o irinotecan²¹. Deste modo, os doentes com síndrome de Rotor podem apresentar toxicidade elevada para alguns fármacos.

Clinica: Estes doentes são frequentemente assintomáticos ou podem apresentar icterícia, mas não apresentam prurido. Por este motivo (alterações fenotípicas ligeiras), não é possível excluir a hipótese de outros transportadores desempenharem as funções das proteínas OATPB1/3²¹.

Diagnóstico: Estes doentes apresentam hiperbilirrubinemia predominantemente conjugada. A excreção urinária total de coproporfirina está aumentada, sendo cerca de 65% coproporfirina I⁶⁰. Ao contrário da SDJ, na determinação da “clearance” de BSP existe um aumento da retenção desta aos 45 minutos, e não existe nenhum pico após os

90 minutos^{13,60}. A vesícula biliar e a árvore biliar não são visualizadas na colescistografia.

Não há deposição de pigmentos pelo que o fígado apresenta aspecto normal⁶⁰.

Tratamento e Prognóstico: Estes doentes não requerem tratamento⁶⁰.

6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS HIPERBILIRRUBINÉMIAS ISOLADAS

As hiperbilirrubinémias congênitas familiares não hemolíticas podem manifestar-se clinicamente tanto na criança como no adulto. Como referido anteriormente, a manifestação clínica mais frequente destas síndromas é a icterícia.

A icterícia é muito frequente nos recém-nascidos e, segundo Maisels e Kring⁸⁶, é a principal causa para a readmissão hospitalar nas primeiras 2 semanas de vida (incidência de 4,2 casos por cada 1000 altas hospitalares).

De acordo com a *American Academy of Pediatrics* (AAP)³³, a icterícia é observada, na primeira semana de vida, em 60% dos recém-nascidos de termo e em 80% dos recém-nascidos prematuros⁸⁷. Além disso, os casos de *kernicterus* têm vindo a aumentar desde a década de 90 tendo a *Joint Commission on Accreditation of Health Care Organizations* lançado um alerta, em 2001, notificando os hospitais e prestadores de cuidados de saúde sobre o potencial desenvolvimento de *kernicterus* em recém-nascidos aparentemente saudáveis⁸⁸. Este aumento tem sido atribuído à alta hospitalar precoce, nas primeiras 48 horas de vida, ou seja, antes do pico natural de bilirrubina no recém-nascido, bem como a critérios de tratamento pouco rígidos⁸⁹⁻⁹¹. Consequentemente, a icterícia não é detectada com a frequência desejada. Por todos os motivos enunciados anteriormente, o subcomité dedicado à hiperbilirrubinémia da AAP⁹² publicou, no ano de 2004, recomendações de avaliação e abordagem ao recém-nascido com icterícia neonatal e mais recentemente, em 2008, essas recomendações foram actualizadas pela AAP e pela *European Society of Pediatric Research* (ESPR)⁹³.

A hiperbilirrubinémia não conjugada isolada pode subdividir-se em causas fisiológicas e causas patológicas. As causas fisiológicas incluem a icterícia fisiológica neonatal e a icterícia do leite materno, enquanto as causas patológicas incluem as síndromas de Gilbert e de Crigler-Najjar, previamente abordadas. Para além destas situações, a hiperbilirrubinémia isolada pode ocorrer como consequência da administração de vários fármacos, os quais podem causar elevação da fracção directa ou indirecta consoante o mecanismo subjacente (tabela 1).

Para que o diagnóstico diferencial das diferentes etiologias seja profícuo e bem sucedido, serão abordadas as causas fisiológicas da hiperbilirrubinémia isolada e a hiperbilirrubinémia induzida por fármacos. Após a abordagem destas etiologias será discutida a avaliação do doente que se apresenta com hiperbilirrubinémia isolada.

Tabela 1. Causas de Hiperbilirrubinémia Isolada

HIPERBILIRRUBINÉMIA NÃO CONJUGADA

Causas fisiológicas

- Icterícia Fisiológica Neonatal
- Icterícia do Leite Materno

Causas Patológicas

- Síndrome de Gilbert
- Síndrome de Crigler-Najjar tipo I e tipo II
- Fármacos

HIPERBILIRRUBINÉMIA CONJUGADA

- Síndrome de Dubin-Johnson
- Síndrome de Rotor
- Fármacos

6.1 ICTERÍCIA FISIOLÓGICA NEONATAL

Esta condição ocorre entre o segundo e quinto dia após o nascimento. Caracteriza-se por uma elevação da bilirrubina não conjugada, atingindo picos de aproximadamente 6mg/dl durante esses dias, sendo os níveis máximos tipicamente inferiores a **10mg/dl**, e diminuindo durante os dez dias seguintes para valores normais. No entanto, podem apresentar valores mais elevados, com risco de desenvolvimento de *kernicterus*⁹⁴.

Epidemiologia: Ocorre em mais de metade dos recém-nascidos independentemente da alimentação⁹⁵.

Etiopatogenia: Existem várias razões para o desenvolvimento de icterícia no recém-nascido. A bilirrubina produzida pelo feto é depurada pela placenta e eliminada pelo fígado materno¹. Após o nascimento, os recém-nascidos de termo têm um volume sanguíneo aumentado e a produção de bilirrubina é duas a três vezes maior do que no adulto³⁴. Isto acontece, porque os recém-nascidos têm mais eritrócitos (hematócrito entre 50 a 60%), apresentando elevação da concentração de hemoglobina, e a sua semi-vida está diminuída (aproximadamente 85 dias). Assim, o aumento do "turnover" dos eritrócitos aumenta a produção de bilirrubina, o que associado à captação, conjugação e excreção deficitárias origina retenção da bilirrubina não conjugada na circulação e nos tecidos do corpo⁹⁶.

O fígado neonatal apresenta um desenvolvimento incompleto, estando a captação hepática limitada por diminuição da concentração da proteína ligandina e os níveis de UGT1A1 baixos, comparativamente aos adultos, o que resulta numa diminuição da conjugação⁹⁷. Por outro lado, a parede intestinal neonatal é mais permeável, pelo que a BNC é absorvida em maior quantidade, no tracto gastro-intestinal, (que apresenta

concentrações mais elevadas de β -glicuronidases, comparativamente ao adulto, favorecendo o processo de desconjugação da bilirrubina) resultando num aumento da circulação entero-hepática de BNC. Portanto, o aumento da BNC na circulação entero-hepática simultâneo ao aumento da síntese de bilirrubina excede a capacidade de depuração hepática com conseqüente acumulação de BNC, originando icterícia⁹⁶.

Os níveis de bilirrubina normalizam progressivamente de acordo com a maturação dos mecanismos de eliminação da bilirrubina. Às 2 semanas de vida já apresentam os valores normais do adulto^{1,98,99}.

Clínica: No prematuro, a icterícia é mais comum e mais severa, sendo as suas causas as mesmas do recém-nascido de termo. Contudo, a maturação dos sistemas enzimáticos nos prematuros parece ser mais lenta, durante a primeira semana de vida, contribuindo para uma maior prevalência, gravidade e duração da icterícia.

O desenvolvimento de *kernicterus* ocorre para concentrações mais baixas de bilirrubina, não estando definido o valor a partir do qual a lesão do Sistema Nervoso Central (SNC) ocorre¹⁰⁰. Contudo, valores de bilirrubina total entre 10 a 14 mg/dl causam encefalopatia em prematuros^{98,101}.

Diagnóstico: baseia-se na clínica e determinação dos valores de bilirrubina total e conjugada que tipicamente não excedem os 10mg/dl. A icterícia surge em recém-nascidos saudáveis entre o terceiro e quinto dias de vida e tende a desaparecer às duas semanas de vida⁸⁸.

Tratamento: consiste na realização de fototerapia, quando existe risco de desenvolver *kernicterus* (bilirrubina total > 25mg/dl) e exsanguíneo-transfusão⁹⁹.

6.2 ICTERÍCIA DO LEITE MATERNO

A icterícia do leite materno é considerada como sendo um prolongamento da icterícia neonatal^{13,95}.

Epidemiologia: A incidência em recém-nascidos com amamentação exclusiva nas duas a três primeiras semanas de vida é de 36%^{95,96,102}. Cerca de 10% dos recém-nascidos amamentados apresentam icterícia persistente após o primeiro mês de vida¹⁰³. A icterícia pode persistir por várias semanas e a hiperbilirrubinémia durante três meses ou mais. Na maioria dos recém-nascidos a icterícia resolve no início do segundo mês⁹⁶.

Clínica: Tipicamente, os recém-nascidos apresentam icterícia, que surge entre a primeira e segunda semana de vida e pode persistir durante 12 semanas, sem outras alterações. Apresentam um bom ganho ponderal, dejeções normais em quantidade e frequência, sem alterações urinárias, sem outros sinais ou sintomas de patologia subjacente e com exame físico normal⁹⁵.

Fisiopatologia: A relação entre icterícia e amamentação foi descrita pela primeira vez nos anos 60 e, desde então, foram formuladas várias teorias sobre a sua possível causa. Foram realizados vários estudos comparativos entre os recém-nascidos que eram alimentados com leite materno, e recém-nascidos cuja alimentação era o leite de fórmula. Os recém-nascidos amamentados perdiam mais peso durante a primeira semana de vida do que aqueles alimentados com leite de fórmula. Assim, foi colocada a hipótese que uma diminuição no aporte calórico e consequente perda de peso pudesse estar relacionada com o aparecimento de icterícia. Actualmente considera-se a icterícia do leite materno uma entidade distinta da icterícia causada pela diminuição do aporte calórico (correspondente à icterícia do jejum no adulto)^{98,104}.

Outras teorias sugeriram que um componente esteróide presente no leite materno, o “pregnane-3 α ,20 β -diol” ou os ácidos gordos livres existentes no leite materno, poderiam inibir a enzima UGT1A1 mas, estudos ulteriores não confirmaram estas hipóteses¹⁰⁵.

Recentemente foi identificada uma mutação idêntica à encontrada na Síndrome de Gilbert, o que sugere que esta condição tem um componente genético e cuja sintomatologia é desencadeada por factores ambientais, neste caso os constituintes do leite materno¹³. Existem outros estudos que correlacionam os níveis elevados de bilirrubina não conjugada, com a existência de valores elevados de factor de crescimento epidérmico (EGF – *Epidermal Growth Factor*), tanto no soro materno, como no soro do lactente amamentado. Teoricamente, este factor aumenta a absorção de bilirrubina a nível intestinal durante o período neonatal, tendo como consequência a hiperbilirrubinémia não conjugada. Outra das explicações, para o aparecimento da icterícia após a primeira semana de vida, consiste na hipótese de que o factor existente no leite materno (que induz o aumento da absorção intestinal) só estará presente após a transição de colostro para leite materno maduro¹⁰².

Contudo, o factor etiológico existente no leite materno continua por esclarecer sendo necessárias mais investigações nesta área.

Diagnóstico: Assenta na clínica apresentada pelo recém-nascido, na evolução da icterícia, nos valores de bilirrubina total e exames complementares de diagnóstico, que visam excluir outras causas mais graves. Assim, é essencial a certificação de que a alimentação do recém-nascido é a amamentação exclusiva. O recém-nascido apresenta icterícia persistente após a primeira semana de vida com valores de bilirrubina total tipicamente inferiores a **10mg/dl**, mas que podem continuar a elevar-se (não excedendo os 25mg/dl¹⁰²), com risco potencial de desenvolvimento de *kernicterus*⁹⁵. Segundo

Maruo *et al.*,¹⁰² os recém-nascidos que apresentam elevados níveis de bilirrubina, também têm um factor genético associado, que diminui a conjugação hepática, contribuindo para a hiperbilirrubinémia.

Tratamento: Se os níveis de bilirrubina se mantiverem abaixo dos valores recomendados para realização de fototerapia, e os lactentes estiveram clinicamente bem, não necessitam de qualquer tratamento. Apesar da interrupção da amamentação normalizar a bilirrubinémia, (a abstenção da amamentação é diagnóstica e terapêutica) ela não está indicada, mesmo por curtos períodos de tempo, uma vez que pode prejudicar a retoma da amamentação, por dificuldade na sucção do lactente, o que é prejudicial para o recém-nascido bem como para os seus pais^{96,102}. A amamentação poderá ser realizada, mas associada a leite de fórmula, o qual diminui a absorção intestinal de bilirrubina¹⁰². Apenas está indicada a interrupção da amamentação, quando a hiperbilirrubinémia atinge valores superiores a 20-25mg/dl, com necessidade de fototerapia⁹⁵.

6.3 HIPERBILIRRUBINÉMIA INDUZIDA POR FÁRMACOS

Vários fármacos podem interferir com as diferentes fases do metabolismo da bilirrubina, causando hiperbilirrubinémia isolada.

A enzima UGT1A1 está envolvida no processo de destoxificação de uma variedade de compostos exógenos⁶. Como já referido, a redução da sua actividade conduz a diminuição da eliminação do fármaco com conseqüente acumulação no organismo e toxicidade. O pregnanediol, novobicina, cloranfenicol e gentamicina, são exemplos de fármacos que inibem a enzima UGT1A1 podendo provocar hiperbilirrubinémia não conjugada⁵. Estão descritos casos de inibição da captação de

bilirrubina, por vários fármacos, nomeadamente o ácido flavaspídico, novobiocina, rifampicina, agentes de contraste colecistográfico, entre outros. As sulfonamidas impedem a ligação da BNC à albumina, impedindo desta forma o seu transporte no sangue, por outro lado o probenecide, fármaco utilizado no tratamento da hiperuricémia, prejudica o transporte intracelular da bilirrubina para os microsomas. O ácido fusídico inibe a proteína canalicular MRP2, impedindo a excreção de bilirrubina¹³.

6.4 AVALIAÇÃO DO DOENTE COM HIPERBILIRRUBINÉMIA ISOLADA

A avaliação do risco de desenvolvimento de hiperbilirrubinémia deve iniciar-se antes do nascimento, através da pesquisa de factores de risco (Tabela 2).

Tabela 2. Factores de Risco de Desenvolvimento de Hiperbilirrubinémia Grave em Recém-nascidos com Idade Gestacional ≥ 35 semanas

Factores Risco Major

- Idade gestacional de 35-36 semanas
- Amamentação exclusiva, particularmente se houver perda de peso excessiva
- Incompatibilidade AB0 com teste de antiglobulina directa positivo; outras causas de doença hemolítica (ex. deficiência em G6PD)
- Icterícia observada nas primeiras 24 horas
- Hematoma encefálico ou Equimoses
- Etnia Asiática
- Irmão que teve necessidade de realização de fototerapia
- Alta da maternidade com valores de bilirrubina total sérica ou bilirrubina total medida por TcB na zona de alto risco do nomograma.

Adaptado de American Academy of Pediatrics. Management of hyperbilirrubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. Pediatrics 2004; 114:297-316.

A incompatibilidade AB0 e Rh (causas mais frequentes de hiperbilirrubinémia grave neonatal, embora cursem com outras alterações analíticas) devem ser pesquisados através da tipagem do grupo sanguíneo da mãe e realização do teste de Coombs indirecto. A incompatibilidade AB0 ocorre em recém-nascidos cujo grupo sanguíneo é A ou B e o da sua mãe é 0. Esta associação ocorre em aproximadamente 15% das gestações¹⁰⁶ mas, nem todos os recém-nascidos desenvolvem hiperbilirrubinémia, destes 5% são sintomáticos⁹⁸.

Caso exista possibilidade de ocorrência de Isoimunização Rh, deverá ser administrada imunoglobulina anti-D durante a gestação.

A história clínica, em particular a história familiar, deve conter informação sobre a etnia, história familiar de doenças hemolíticas, irmãos com icterícia e que tenham tido necessidade de fototerapia. De acordo com Khoury MJ *et al.*¹⁰⁷, há um risco 12,5 vezes maior de icterícia grave em recém-nascidos que tenham um ou mais irmãos afectados com hiperbilirrubinémia neonatal grave, quando comparado com recém-nascidos que têm irmãos anteriores sem hiperbilirrubinémia neonatal grave. A existência de hematoma encefálico e/ou equimoses podem originar hiperbilirrubinémia não conjugada, devido à acumulação de eritrócitos no espaço extra-vascular e consequentemente maior degradação de hemoglobina¹ (tabela 5). A sua presença pode ser suspeitada pela história obstétrica, devido a traumatismo durante o parto, recurso a fórceps ou ventosa⁸⁸. Os pais devem ser inquiridos sobre a alimentação do recém-nascido (tipo de alimentação e perda de apetite ou diminuição da sucção), vômitos, cor da urina, cor das fezes e alterações comportamentais (letargia, choro inconsolável) (tabela 3).

Tabela 3. Sinais de Alerta de Desenvolvimento de Hiperbilirrubinémia

- | | |
|---|-----------------|
| 1. História familiar de doenças hemolíticas | 5. Urina escura |
| 2. Letargia | 6. Fezes claras |
| 3. Choro inconsolável | 7. Vômitos |
| 4. Pouco apetite | 8. Febre |

Adaptado de Colletti JE et al (2007) An emergency medicine approach to neonatal hyperbilirubinemia. Emerg Med Clin North Am. 25:1117-1135

Após o nascimento, a pesquisa de icterícia deve ser efectuada nas primeiras 12 horas de vida. O exame físico deve ser realizado num local com boa luminosidade para uma determinação correcta da coloração da pele e escleras. Além da avaliação da icterícia, devem se pesquisados outros sinais indicativos de icterícia patológica, nomeadamente petéquias, palidez das mucosas, sinais de desidratação, peso e sinais hemorrágicos (hematoma encefálico, equimoses, hepatoesplenomegalia)⁸⁸.

A icterícia patológica é caracterizada pelo início nas primeiras 24 horas de vida, pela elevação rápida da bilirrubina sérica total (superior a 5mg/dl/dia ou 0,2 mg/dl/hora), icterícia que se prolonga após as duas semanas de vida num recém-nascido de termo e uma elevação da concentração da bilirrubina conjugada superior a 2mg/dl ou superior a 20% do total de bilirrubina sérica⁸⁸ (tabela 4).

Tabela 4. Características da Icterícia Patológica

- Início nas primeiras 24 horas de vida
- Elevação da bilirrubinina sérica total >5mg/dl/ dia ou 0,2mg/dl/hora
- Icterícia que se prolonga após as 2 semanas de vida no recém-nascido de termo.
- Elevação da concentração de bilirrubina conjugada >2mg/dl ou >20% da bilirrubina sérica total

Quando o recém-nascido apresenta icterícia nas primeiras 24 horas de vida, a bilirrubinémia deve ser mensurada. Se a hiperbilirrubinémia é causada por um aumento da fracção não conjugada, devem ser excluídas primariamente a existência de doenças hemolíticas, tais como a incompatibilidade ABO e Rh, deficiências enzimáticas do metabolismo da glicose do eritrócito, (como a deficiência na enzima piruvato-cinase ou

glicose-6-fosfatodesidrogenase (G6PD), que diminuem a semi-vida do eritrócito) defeitos da membrana do eritrócito (eliptocitose, esferocitose) e existência de

eritropoiese ineficaz (tabela 5).

A hemólise prolongada pode resultar na precipitação dos sais de bilirrubina, com consequente formação de cálculos biliares de bilirrubinato de cálcio. Para a sua exclusão é necessário recorrer a alguns exames complementares de diagnóstico, nomeadamente: realização de hemograma com avaliação da concentração de hemoglobina, do valor corpuscular médio e contagem de reticulócitos; realização de bioquímica com provas de função hepática e avaliação dos níveis de LDH; medição dos

níveis de haptoglobina e realização do teste de Coombs directo⁸⁸.

Após a exclusão de causa hemolítica, deverá pensar-se noutras causas, nomeadamente causas familiares. O diagnóstico das diferentes formas de hiperbilirrubinémia isolada é realizado por exclusão, uma vez que as provas de função

Tabela 5. Causas de Hiperbilirrubinémia

Não Conjugada Neonatal

Não Patológicas:

- Icterícia fisiológica neonatal
- Icterícia do Leite Materno
- Prematuridade

Patológicas:

- Maior Produção de bilirrubina:
 - Hemólise
 - Incompatibilidade ABO
 - Isoimunização Rh
 - Deficiências enzimáticas
 - Deficiência de G6PD
 - Deficiência de Piruvato-desidrogenase
 - Defeitos de Membrana do eritrócito
 - Esferocitose
 - Eliptocitose
 - Eritropoiese ineficaz
 - Acumulação extra-vascular de eritrócitos
 - Hematoma encefálico
- Menor depuração hepática de bilirrubina:
 - Síndrome de Gilbert
- Conjugação deteriorada
 - Síndrome de Crigler-Najjar tipo I e Tipo II

hepática são normais. O início da instalação da icterícia e o tempo da sua duração são factores importantes para identificação da sua etiologia.

Quando a icterícia é muito marcada e prolongada, com concentrações de bilirrubina que atingem os 20 mg/dl, e não existem sinais de lesão neurológica, deve ser suspeitada a existência de SCN-II (Tabela 5). Em casos mais graves, em que a concentração sérica de bilirrubina pode ser superior a 25 mg/dl e muitas vezes acompanhada por sinais de lesões neurológicas, o diagnóstico de SCN-I deve ser considerado. Dado o elevado risco de neurotoxicidade, em ambas as patologias, a hiperbilirrubinémia deve ser tratada urgentemente. Nestes doentes as estratégias terapêuticas passam pela realização de fototerapia para melhorar a icterícia, entre outras. Para diferenciar as duas síndromas utiliza-se o teste com fenobarbital, uma vez que a SCN-I não responde ao fenobarbital, por ausência da enzima UGTA1A, apresentando pior prognóstico comparativamente à SCN-II, necessitando estes doentes mais precocemente de transplante hepático (tabela5).

Nos lactentes que surjam com icterícia entre o segundo e quinto dia de vida, é necessário esclarecer se o seu regime dietético é a amamentação exclusiva. Se na segunda semana de vida houver melhoria clínica, significa que há mecanismos de captação, conjugação e excreção imaturos, e portanto, tratar-se-á de icterícia fisiológica do recém-nascido. Pelo contrário, se a hiperbilirrubinémia se mantém, após as duas semanas, ou prolonga-se por mais tempo, poderá tratar-se da icterícia do leite materno (tabela 5) ¹⁰⁸.

A determinação dos níveis de bilirrubina deve ser realizada pelo menos três vezes, com um mês de intervalo, antes de confirmar hiperbilirrubinémia isolada, pois as concentrações de bilirrubina apresentam muitas vezes flutuações¹³. Durante este período, os fármacos potencialmente capazes de interferir com o metabolismo da

bilirrubina deverão ser suspensos. Se a hiperbilirrubinémia for confirmada, os factores mais importantes a considerar para chegar a um diagnóstico correcto, são os níveis de bilirrubina, a idade do indivíduo e o tempo de duração da hiperbilirrubinémia⁸⁸.

Quando a hiperbilirrubinémia é leve (geralmente inferior a 5 mg/dl) e é detectada em adolescentes ou adultos jovens, é provável que o doente possa ter SG, principalmente se houver exacerbação dos níveis de bilirrubina com factores precipitantes, como infecção intercorrente ou o jejum. Contudo, o diagnóstico diferencial com a SCN-II, no adulto, pode ser difícil. Embora os valores de bilirrubina apresentem flutuações em ambas as síndromas, na SG os doentes podem apresentar valores normais de bilirrubina, enquanto os doentes com SCN-II apresentam sempre valores acima do limiar normal. O mesmo pode ser confirmado através do teste com fenobarbital. O diagnóstico destas síndromas tem por base a clínica, contudo, estão disponíveis testes genéticos que permitem confirmar o seu diagnóstico.

As hiperbilirrubinémias isoladas, com predomínio da fracção conjugada, são raras. O diagnóstico diferencial entre Síndrome de Dubin-Johnson (SDJ) e Síndrome de Rotor (SR) baseia-se em vários critérios. A biópsia hepática revela ausência de pigmentação dos hepatócitos na SR, contrariamente à SDJ. Na SDJ a excreção urinária total de coproporfirina é normal mas com anormal rácio de isómeros, enquanto na SR, apesar do rácio de isómeros também ser anormal, a excreção urinária total de coproporfirina está elevada. A “clearance” da BSP está diminuída na SR, contrariamente ao que acontece na SDJ. Para evitar a realização da biópsia hepática, a excreção e o rácio de coproporfirina eliminada na urina, podem ser utilizados como biomarcadores da actividade da proteína MRP2⁸². O diagnóstico destas síndromas pode ser confirmado por testes genéticos. Uma vez que os níveis séricos de bilirrubina total são muitas vezes superiores a 5 mg/dl, com uma icterícia manifesta, os doentes devem

ser informados sobre a benignidade da sua condição clínica e sobre a ausência da necessidade de tratamento.

TABELA 6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS HIPERBILIRRUBINÉMIAS ISOLADAS

	S. Gilbert	Icterícia fisiológica Neonatal	Icterícia Leite Materno	Crigler-Najjar Tipo I	Crigler-Najjar Tipo II	Síndrome de Dubin-Johnson	Síndrome de Rotor
Herança	AR	_____	_____	AR	AR	AR	AR
Mutação/Base genética	Defeito na UGT1A1; cromossoma 2q37	_____	Desconhecida	Defeito na região de codificação do gene UGT1A1; cromossoma 2q37	Defeito na região de codificação do gene UGT1A1; cromossoma 2q37	Defeito na proteína MRP2 (gene ABC2); cromossoma 10q24	Defeito nas proteínas OATP1B1/3 (gene SLCO1B1/3); cromossoma 12
Mecanismo causal (molecular)	Defeito na captação da bilirrubina bem como na sua conjugação	Altas taxas de produção de bilirrubina, com depuração e excreção diminuídas, e níveis de UGT1A1 baixos, devido a imaturidade do desenvolvimento do fígado e tracto digestivo	Desconhecido	Não ocorre conjugação da bilirrubina, por inexistência da enzima UGT1A1	Expressão constitutiva da enzima UGT1A1 está diminuída	Defeito na excreção de aníões orgânicos que não são ácidos biliares, por defeito no transportador MRP2	Deficiências completas de ambos os transportadores aniônicos orgânicos, o OATP1B1 e o OATP1B3, os quais, como já referido, medeiam a recaptação e clearance hepática da bilirrubina conjugada e vários tóxicos
Clínica/Padrão de apresentação	Icterícia surge na idade adulta, com exacerbações durante intercorrências	Icterícia surge no 2º a 3º dia de vida e melhora 10 dias depois	Icterícia que se prolonga após a 1ª semana de vida	Icterícia surge no período neonatal e persiste durante toda a vida	Icterícia diagnosticada na infância e idade adulta	Icterícia diagnosticada na adolescência e idade adulta	Icterícia diagnosticada logo após o nascimento ou na 1ª infância.
Hiperbilirrubinemia	Não conjugada	Não conjugada	Não conjugada	Não conjugada	Não conjugada	Mista predominantemente Conjugada	Mista Predominantemente conjugada
Valores de Bilirrubina Total	< 6mg/dl (possível valores mais elevados)	<10mg/dl (pode atingir valores mais elevados e causar kernicterus)	<10mg/dl (pode atingir valores mais elevados e causar kernicterus)	>25-45mg/dl	<20mg/dl	5-6mg/dl	5-6mg/dl
Bilirrubina Indirecta	< 20% do total	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Fracção da Bilirrubina	>fracção de monoglicuronídeos	_____	_____	Ausência de conjugados tanto mono como diglicuronídeos	>fracção de monoconjugados (média de 57%) na bile	_____	_____

	S. Gilbert	Icterícia fisiológica Neonatal	Icterícia Leite Materno	Crigler-Najjar Tipo I	Crigler-Najjar Tipo II	Síndrome de Dubin-Johnson	Síndrome de Rotor
Função Hepática	Normal	Diminuída	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Histologia Hepática	Normal ou aumento moderado do pigmento de lipofuscina	Normal	Normal	Normal	Normal	Deposição de pigmentos escuros nos lisossomas hepatocitários. Macroscopicamente fígado de aspecto escuro.	Normal
Actividade da UGT1A1	Diminuída	Diminuída	_____	Ausente	Muito reduzida (0 a 10% do valor normal)	Sem alteração	Sem alteração
Alterações Urinárias e/ou das fezes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Cor das fezes normais mas excreção fecal de urobilinogénio diminuído.	Ausentes	Excreção urinária total de coproporfirina normal, 80% coproporfirina I	Excreção urinária total de coproporfirina aumentada, 65% coproporfirina I
Transporte hepatobiliar	_____	_____	_____	_____	_____	Clearance de BSP bifásica: normal aos 45min e pico aos 90min	Clearance de BSP: retenção aumentada aos 45min sem pico aos 90min
Teste com Fenobarbital	Normaliza a concentração de bilirrubina	_____	_____	Resposta nula	Redução nas concentrações séricas da bilirrubina em >25% Mas não retornam aos níveis normais, permanecem entre 3 a 5mg/dl	_____	_____
Factores Precipitantes de Icterícia	Jejum, fármacos, doenças intercorrentes, exercício físico, desidratação.	Prematuridade	_____	_____	_____	Contraceptivos orais, gravidez, doenças intercorrentes, alterações hormonais	Contraceptivos orais, fármacos
Estratégias Terapêuticas	Não requiere tratamento	Fototerapia (quando recomendado)	Fototerapia (quando recomendado)	Fototerapia	Fototerapia (quando recomendado)	Não requiere tratamento	Não requiere tratamento
Prognóstico	Benigno	Benigno	Benigno	Risco elevado de kernicterus	Benigno, mas com risco de kernicterus	Benigno	Benigno

7. TRATAMENTO DAS HIPERBILIRRUBINÉMIAS ISOLADAS

7.1 FOTOTERAPIA

A fototerapia é o tratamento de eleição da hiperbilirrubinemia não conjugada. O seu objectivo é diminuir a concentração de bilirrubina não conjugada ou impedir o seu aumento. Clinicamente é utilizada de acordo com as recomendações da AAP publicadas em 2004. As recomendações têm em consideração os níveis de bilirrubina total, a idade gestacional, a idade do recém-nascido, a presença ou ausência de factores de risco³³.

A sua aplicação tem por base o conhecimento de que, a bilirrubina absorve radiação para comprimentos de onda de aproximadamente 460nm (espectro de luz azul)^{98,99}. A Fototerapia induz reacções fotoquímicas que convertem a BNC em compostos hidrossolúveis, designados por lumirrubina, que são excretados na bÍlis ou na urina sem necessidade de conjugação³¹. A eficácia da fototerapia depende de vários factores, entre os quais: a dose utilizada; a luz utilizada (do comprimento de onda); a distância entre a luz e o recém-nascido; a área corporal exposta; a causa e severidade da hiperbilirrubinemia³¹.

A AAP³³ recomenda o uso de lâmpadas azuis fluorescentes ou lâmpadas LED.

Embora seja geralmente eficaz, a fototerapia apresenta algumas desvantagens. No entanto, são raros os casos descritos de toxicidade. Os recém-nascidos com hiperbilirrubinemia predominantemente conjugada que são sujeitos a fototerapia, podem desenvolver a Síndrome do BÉbé Bronze. Estes recém-nascidos apresentam uma coloração escura cinzenta-bronzeada da pele, da urina e do soro^{109,110}. No entanto, esta síndrome, clinicamente, tem pouco significado⁶. Quando utilizada a curto prazo, a fototerapia nem sempre diminui as concentrações plasmáticas de BNC para níveis não

tóxicos. O seu uso a longo-prazo, como o necessário em doentes com SCN-I, torna-se menos eficaz com a idade e tem impacto na vida social dos doentes⁴³.

7.2 EXSANGUÍNEO-TRANSFUSÃO

A exsanguíneo-transfusão foi o primeiro tratamento a ser realizado em recém-nascidos com hiperbilirrubinémia elevada. Com o advento da fototerapia, a necessidade da sua realização diminuiu significativamente.

A exsanguíneo-transfusão é realizada em recém-nascidos que apresentam icterícia nas primeiras 24 horas de vida, nos quais o risco de neurotoxicidade é muito elevado⁹⁸. Através da exsanguíneo-transfusão é possível remover a bilirrubina e os anticorpos que causam a hemólise. Em recém-nascidos que apresentem doença hemolítica por Isoimunização é recomendada a administração de gamaglobulina (imunoglobulina anti-D) endovenosa, independentemente da realização da fototerapia, na tentativa de evitar a realização da exsanguíneo-transfusão. A administração de albumina, uma a quatro horas antes do procedimento, pode aumentar a quantidade de bilirrubina removida⁹⁸.

Apesar do procedimento continuar a ser realizado, embora com menos frequência, principalmente quando o tratamento com fototerapia não é eficaz, apresenta uma morbidade considerável, especialmente em recém-nascidos prematuros, e nalguns casos leva mesmo à morte⁹⁸.

7.3 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

Ao longo dos anos tem sido realizada investigação com intuito de utilizar terapêutica farmacológica no tratamento das hiperbilirrubinémias.

Fenobarbital: é um fármaco anti-epiléptico, utilizado no tratamento da hiperbilirrubinémia não conjugada. Actualmente é reconhecido que este fármaco não actua directamente na enzima UGTA1A, mas através da modulação do receptor PBREM, o qual estimula o gene UGTA1A a induzir a produção da enzima UGTA1A. Assim, através da indução enzimática, é possível aumentar a conjugação e excreção da bilirrubina, diminuindo a BNC na circulação e conseqüentemente os seus potenciais efeitos negativos. O fenobarbital, como referido anteriormente, é empregue no diagnóstico diferencial das Síndromas de Crigler-Jajjar tipo I e tipo II. Contudo, não é utilizado no tratamento da SCN-I devido à inexistência da enzima. A sua acção só se torna evidente após a sua administração⁴³.

Ácido ursodesoxicólico (AUDC): é um ácido biliar (3 α , 7 β -di-hydroxy-5 β -cholic acid), presente normalmente na bÍlis humana, em baixa concentração (cerca de 3% do total dos ácidos biliares). A sua principal aplicação clínica é no tratamento da hiperbilirrubinémia conjugada¹¹¹. Têm sido descritos vários mecanismos de acção, nomeadamente a protecção dos colangiócitos contra os efeitos tóxicos de ácidos biliares, a estimulação da secreção biliar, estimulação de destoxificação de ácidos biliares hidrofóbicos e inibição da apoptose hepatocitária¹¹⁰. Contudo, não se sabe qual destes mecanismos é responsável pelo efeito terapêutico do AUDC. (para uma revisão ver 110]

7.4 TRANSPLANTAÇÃO HEPÁTICA E TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE CÉLULAS HEPÁTICAS

O transplante hepático, actualmente, é a única opção terapêutica que permite a sobrevivência dos doentes com SCN-I até à idade adulta. Recorre-se ao transplante hepático quando existe hiperbilirrubinémia grave refractária aos restantes tratamentos⁸⁸.

O transplante ortotópico de células hepáticas é uma alternativa promissora ao transplante hepático, tendo como objectivo reduzir a concentração de bilirrubina sérica para níveis fisiológicos, diminuir a utilização da fototerapia e melhorar a qualidade e esperança de média de vida⁷⁰.

Estudos extensivos em animais demonstraram que as células hepáticas transplantadas, no fígado ou em locais ectópicos do receptor, na ausência de rejeição imunológica, conseguem sobreviver (sendo funcionalmente activas) e participar no processo regenerativo hepático¹¹². Como a arquitectura do fígado do receptor permanece intacta, após o enxerto de hepatócitos, no transplante de células hepáticas o stress metabólico é menor comparativamente ao transplante do órgão inteiro, e as consequências da perda do enxerto são muito menos graves.

Segundo Dhawan *et al*⁷⁰ o transplante de hepatócitos num doente com síndrome de Crigler-Najjar tipo I com dezoito meses de idade e outro com três anos de idade diminuiu os níveis séricos de bilirrubina em cerca de 50% e 30%, dos níveis pré-transplante respectivamente, durante um período de seguimento de 7 meses.

Embora este método pareça ser eficaz e seguro na melhoria da qualidade de vida dos doentes, durante um período médio de tempo, a técnica necessita de ser desenvolvida para poder ser utilizada a longo prazo ou até mesmo ser curativa⁷⁰. É necessário a realização de estudos direccionados para a qualidade de preparação das

células, bem como no desenvolvimento de protocolos que diminuam a resposta imunológica, diminuindo a rejeição do enxerto.

Tabela 7. Opções Terapêuticas Disponíveis

- Fototerapia
- Exsanguíneo-tranfusão
- Tratamento farmacológico
 - Fenobarbital
 - Ácido ursodesoxicólico
- Transplante ortotópico de células hepáticas
- Transplantação Hepática

7.5 TERAPÊUTICAS EMERGENTES

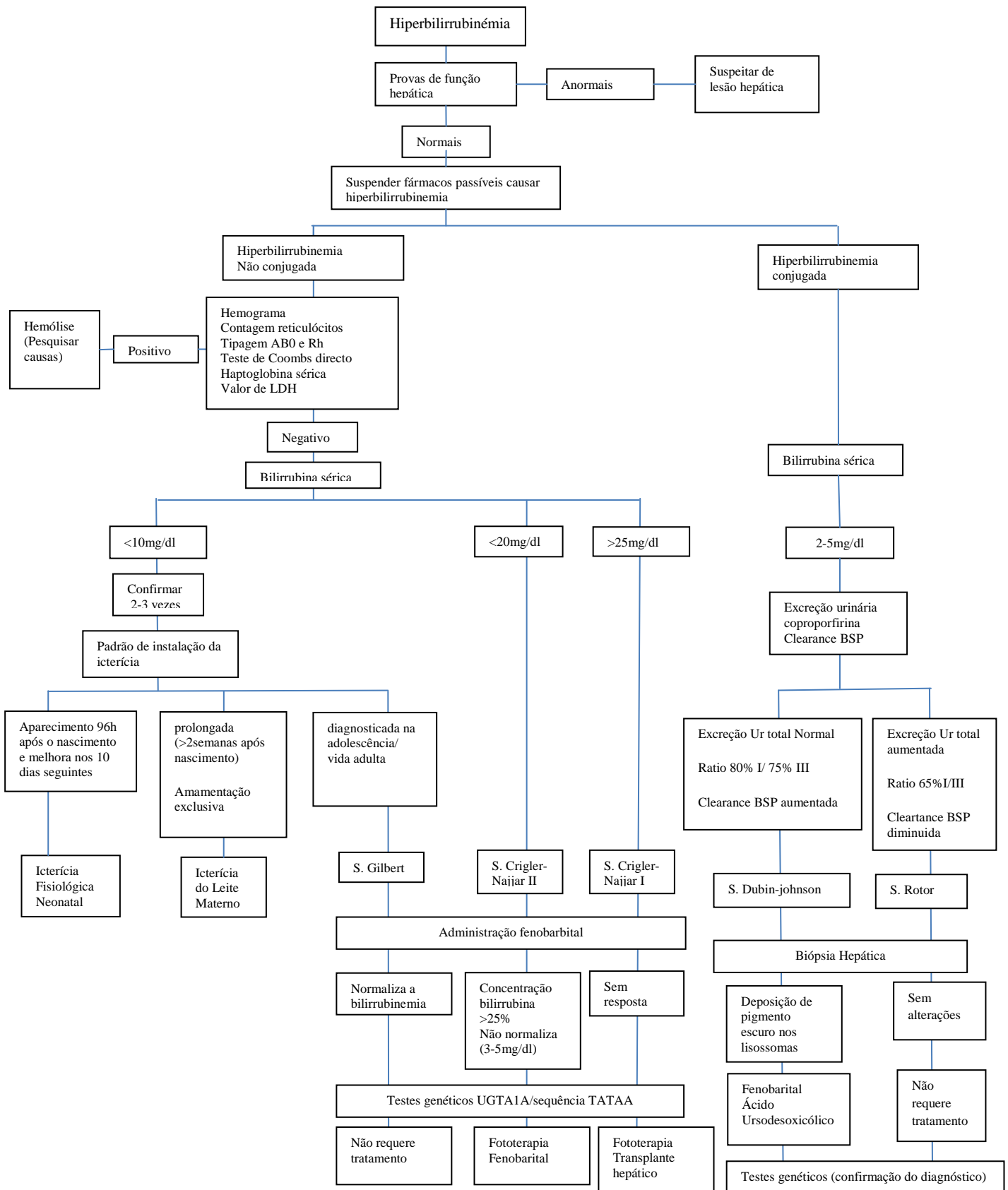
Apesar dos métodos de tratamento acima referidos serem utilizados no tratamento da hiperbilirrubinemia, apresentam várias desvantagens e, alguns deles apenas estão disponíveis em centros diferenciados. Por este motivo, têm sido estudadas várias alternativas terapêuticas.

No que concerne a novas abordagens farmacológicas, têm sido estudados fármacos que actuam em diversas fases do metabolismo da bilirrubina. Portanto, fármacos que actuem na diminuição da produção de bilirrubina, no aumento da “clearance” hepática de bilirrubina não conjugada e na interrupção do ciclo entero-hepático da bilirrubina⁹⁹. As novas alternativas farmacológicas deverão ser menos invasivas, simples e tão eficazes e seguras como as actualmente existentes, tendo como comparação a fototerapia. No entanto, muitos dos tratamentos experimentais não

preenchem estes critérios, sendo necessária mais investigação para determinar a sua aplicabilidade clínica num futuro mais ou menos próximo. Outros fármacos, como as metaloporfirinas, parecem ser promissores, mas aguardam aprovação pela FDA (United States Food and Drug Administration) ⁹⁹.

Como já referido, a terapêutica génica tem sido amplamente estudada incluindo métodos não virais, como a utilização mediada por receptores de plasmídeos e oligonucleótidos quiméricos para correcção genética, e métodos mediados por vectores virais, como adenovírus e retrovírus⁶⁶. Contudo, estas estratégias ainda estão em fases precoces da sua possível aplicação clínica. [para uma revisão ver 66]

8. ALGORITMO DE ABORDAGEM DO DOENTE COM HIPERBILIRRUBINÉMIA ISOLADA



9. BIBLIOGRAFIA

1. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DY, Jameson JL et al. Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th ed , New York: McGraw-Hill; 2008
2. Maruani A., Labarhe F., Dupré T., Le Bidre E., Georgesco G., Lorette G. Hypercarotenaemia in na infant. *Ann Dermatol Venereol* 2010;137:32-35.
3. Kaplan M, Hammerman C. Understanding and preventing severe neonatal hyperbilirubinemia: is bilirubin neurotoxicity really a concern in the developed world? *Clin Perinatol.* 2004; 31:555-575
4. Watchko JF. Hyperbilirubinemia and bilirubin toxicity in the late preterm infant. *Clin Perinatol.* 2006; 33:839-352
5. Bosma PJ. Inherited disorders of bilirubin metabolism *J Hepatol.* 2003; 38:107-117.
6. Watchko JF, Lin Z. Exploring the genetic architecture of neonatal hyperbilirubinemia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010; 15:169-175
7. Vitek L., Ostrow JD Bilirubin Chemistry and Metabolism; Harmful and Protective Aspects. *Current Pharmaceutical Design* 2009; 15: 2869-2883.
8. Schacter BA Heme catabolism by heme oxygenase: physiology, regulation, and mechanism of action. *Semin Hematol* 1988; 25:349-369.
9. Maines MD. Biliverdin reductase: PKC interaction at the cross-talk of MAPK and PI3K signaling pathways. *Antioxid Redox Signal.* 2007; 9:2187-2195.
10. Abraham NG, Kappas A Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase. *Pharmacol Rev.* 2008; 60:79-127.
11. Goessling W, Zucker SD. Role of apolipoprotein D in the transport of bilirubin in plasma. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279:G356-365.
12. Mcdonagh AF. Controversies in bilirubin biochemistry and their clinical relevance. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010; 15:141-147
13. Fabris L, Cadamuro M, Okolicsanyi L. The patient presenting with isolated hyperbilirubinemia. *Digestive and Liver Disease* 2009; 41:375-381.
14. Cui Y, Konig J, Leier I, Buchholz U, Keppler D. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6 *J Biol Chem* 2001; 276: 9626-9630.
15. Wang P, Kim RB, Chowdhury JR, Wolkoff AW. The human organic anion transport protein SLC21A6 is not sufficient for bilirubin transport. *J Biol Chem;* 2003; 278:20695-20699.
16. Basiglio CL, Arriaga SM, Pelusa F, Almará AM, Kapitulnik J, Mottino AD. Complement activation and disease: protective effects of hyperbilirubinaemia. *Clin Sci (Lond).* 2010; 118:99-113.

17. Muraca M, Rubaltelli FF, Blanckaert N, Fevery J. Unconjugated and conjugated bilirubin pigments during perinatal development. II. Studies on serum of healthy newborns and of neonates with erythroblastosis fetalis. *Biol Neonate* 1990; 57: 1-9
18. Kaplan M, Hammerman C, Maisels MJ. Bilirubin genetics for the nongeneticist: hereditary defects of neonatal bilirubin conjugation. *Pediatrics*. 2003; 111:886-893.
19. Sugatani J, Mizushima K, Osabe M, Yamakawa K, Kakizaki S, Takagi H, et al. Transcriptional regulation of human UGT1A1 gene expression through distal and proximal promoter motifs: implication of defects in the UGT1A1 gene promoter. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2008; 377: 597-605
20. Tomer G, Shneider BL. Disorders of bile formation and biliary transport. *Gastroenterol Clin North Am*. 2003; 32: 839-855
21. Van de Steeg E, Stránecký V, Hartmannová H, Nosková L, Hřebíček M, Wagenaar E, et al. Complete OATP1B1 and OATP1B3 deficiency causes human Rotor syndrome by interrupting conjugated bilirubin reuptake into the liver. *J Clin Invest*. 2012; 122:519-528.
22. Ghersi-Egea JF, Gazzin S, Strazielle N Blood-brain interfaces and bilirubin-induced neurological diseases. *Curr Pharm Des*. 2009; 15:2893-2907.
23. Paulusma CC, Kool M, Bosma PJ, Scheffer GL, ter Borg F, Scheper RJ, et al. A mutation in the human canalicular multispecific organic anion transporter gene causes the Dubin-Johnson syndrome. *Hepatology* 1997; 25: 1539-1542.
24. Kikuchi S, Hata M, Fukumoto K, Yamane Y, Matsui T, Tamura A, et al. Radixin deficiency causes conjugated hyperbilirubinemia with loss of Mrp2 from bile canalicular membranes. *Nat Genet* 2002; 31: 320-325.
25. Lampe JW, Bigler J, Horner NK, Potter JD. UDP glucuronosyltransferase (UGT1A1*28 and UGT1A6*2) polymorphisms in Caucasians and Asians: relationships to serum bilirubin concentrations. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 341-349.
26. Kohle C, Mohrle B, Munzel PA, Schwab M, Wernet D, Badary OA, et al. Frequent co-occurrence of the TATA box mutation associated with Gilbert's syndrome (UGT1A1*28) with other polymorphisms of the UDP-glucuronosyltransferase-1 locus (UGT1A6*2 and UGT1A7*3) in Caucasians and Egyptians. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 1521-1527.
27. Burchell B, Soars M, Monaghan G, Cassidy A, Smith D, Ethell B. Drug-mediated toxicity caused by genetic deficiency of UDP-glucuronosyltransferases. *Toxicol Lett* 2000; 112-113:333-340
28. Kim TW, Innocenti F. Insights, challenges, and future directions in irinogenetics. *Ther Drug Monit* 2007; 29:265-70.
29. Nagaraja P, Avinash K, Shivakumar A, Dinesh R, Shrestha AK. Simple and sensitive method for the quantification of total bilirubin in human serum using 3-

methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride as a chromogenic probe. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2010 ; 77:782-786.

30. Van Den Berg HA, Grotepass W. An improved method for the determination of bilirubin in blood. *Br Med J* 1934; 1:1157-1159.
31. Maisels MJ, McDonagh AF Phototherapy for neonatal jaundice. *N Engl J Med.* 2008; 358:920-928.
32. Mercanti I, Michel F, Thomachot L, Loundou DA, Nicaise C, Vialet R, et al. Transcutaneous bilirubin measurement in preterm infants. *Archives de Pédiatrie.* 2007; 14:875-880.
33. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics* 2004; 114:297.
34. El-Beshbishi SN, Sahttuck KE, Mohammad, AA, Petersen JR Hyberbilirubinemia and transcutaneous bilirubinometry. *Clinical Chemistry* 2009; 55:7 1280-1287.
35. Wainer S, Rabi Y, Parmar SM, et al. Impact of skin tone on the performance of a transcutaneous jaundice meter. *Acta Paediatr* 2009; 98:1909.
36. Bhutani VK, Johnson L, Sivieri EM. Predictive ability of a predischarge hour-specific serum bilirubin for subsequent significant hyperbilirubinemia in healthy term and near-term newborns. *Pediatrics.* 1999; 103:6-14
37. Bhutani VK, Gourley GR, Adler S, et al. Noninvasive measurement of total serum bilirubin in a multiracial predischarge newborn population to assess the risk of severe hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 2000;106:E17.
38. De Luca D, Jackson GL, Tridente A, et al. Transcutaneous bilirubin nomograms: a systematic review of population differences and analysis of bilirubin kinetics. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163:1054.
39. Grohmann K, Roser M, Rolinski B, et al. Bilirubin measurement for neonates: comparison of 9 frequently used methods. *Pediatrics* 2006; 117:1174.
40. Engle WD, Jackson GL, Stehel EK, et al. Evaluation of a transcutaneous jaundice meter following hospital discharge in term and near-term neonates. *J Perinatol* 2005; 25:486.
41. Maisels MJ, Kring E. Transcutaneous bilirubinometry decreases the need for serum bilirubin measurements and saves money. *Pediatrics* 1997; 99:599.
42. Mishra S, Chawla D, Agarwal R, et al. Transcutaneous bilirubinometry reduces the need for blood sampling in neonates with visible jaundice. *Acta Paediatr* 2009; 98:1916.
43. De Luca D, Carnielli VP, Paolillo P. Neonatal hyperbilirubinemia and early discharge from the maternity ward. *Eur J Pediatr.* 2009; 168:1025-30.

44. Fay DL, Schellhase KG, Suresh GK Bilirubin screening for normal newborns: a critique of the hour-specific bilirubin nomogram. *Pediatrics*. 2009; 124:1203-1205.
45. Ahlfors CE, Wennberg RP, Ostrow JD, Tribelli C. *Clinical Chemistry* 2009; 55:7 1288-1299
46. Shapiro SM Definition of the clinical spectrum of kernicterus and bilirubin-induced neurologic dysfunction (BIND). *J Perinatol*. 2005; 25:54-59.
47. Shapiro SM. Chronic bilirubin encephalopathy: diagnosis and outcome. *Semin Fetal Neonatal Med*. Jun; 2010; 15(3):157-163.
48. Maisels MJ. Neonatal hyperbilirubinemia and kernicterus - not gone but sometimes forgotten. *Early Hum Dev* 2009; 85: 727-32.
49. Trikalinos TA, Chung M, Lau J, Ip S. Systematic review of screening for bilirubin encephalopathy in neonates. *Pediatrics* 2009;124: 1162-71.
50. Tell G, Gustincich S. Redox state, oxidative stress, and molecular mechanisms of protective and toxic effects of bilirubin on cells. *Curr Pharm Des*. 2009; 15:2908-2914.
51. Freitas D. *Doenças do Aparelho Digestivo*. Coimbra: Astrazeneca; 2002
52. Baranano DE, Rao M, Ferris CD, Snyder SH. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. *Proc Natl Acad Sci* 2002 99:16093-16098.
53. Belanger S, Lavoie JC, Chessex P. Influence of bilirubin on the antioxidant capacity of plasma in newborn infants. *Biol Neonate* 1997; 71: 233-238.
54. Cichoz-Lach H, Celiński K, Słomka M Congenital nonhemolytic hyperbilirubinemias. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska Med*. 2004; 59:449-452.
55. Claridge LC, Armstrong MJ, Booth C, Gill PS. Gilbert's syndrome. *BMJ*. 2011; 342:d2293.
56. Laforgia N, Faienza MF, Rinaldi A, D'Amato G, Rinaldi G, Iolascon A. Neonatal hyperbilirubinemia and Gilbert's syndrome. *J Perinat Med*. 2002; 30:166-169.
57. Radu P, Atsmon J. Gilbert's syndrome – clinical and pharmacological implication. *Isr Med Assoc J* 2001; 3:593-598
58. Laforgia N, Faienza MF, Rinaldi A, D'Amato G, Rinaldi G, Iolascon A. Neonatal hyperbilirubinemia and Gilbert's syndrome. *J Perinat Med*. 2002; 30:166-169.
59. Kamisako T. What is Gilbert's syndrome? Lesson from genetic polymorphisms of UGT1A1 in Gilbert's syndrome from Asia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 19:955-957.
60. Strassburg CP. Hyperbilirubinemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson, and Rotor syndrome). *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010; 24:555-571.

61. Ishiara T, Kaito M, Takeuchi K, Gabazza EC, Tanaka Y, Higuchi K, Ikoma J, Watanabe S, Sato H, Adachi Y. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16: 678-682
62. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, Lindhout D, Tytgat GN, Jansen PL, Oude Elferink RP, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med.* 1995; 333:1171-1175.
63. Carriel MJ, Castañares PA. Indirect hyperbilirubinemia of genetic origin: case report of Crigler-Najjar syndrome type II. *Arch Argent Pediatr* 2010;108:e100-e104
64. Lankisch TO, Moebius U, Wehmeier M, Behrens G, Manns MP, Schmidt RE, et al. Gilbert's disease and atazanavir: from phenotype to UDP-glucuronosyltransferase haplotype. *Hepatology* 2006; 44: 1324-32.
65. Crigler JF Jr, Najjar VA. Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus. *Pediatrics* 1952; 10:169-180
66. Miranda PS, Bosma PJ. Towards liver-directed gene therapy for Crigler-Najjar syndrome. *Curr Gene Ther.* 2009; 9:72-82.
67. Huang CS, Tan N, Yang SS, Sung YC, Huang MJ. Crigler-Najjar syndrome type 2. *J Formos Med Assoc.* 2006; 105:950-3.
68. Lodoso TB, Palomo AE, Camarena GC, Fernández MC, Hierro LL, De la Vega BA, et al. Crigler-Najjar syndrome: diagnosis and treatment. *An Pediatr (Barc).* 2006; 65:73-78.
69. Torres M, Bruguera M Crigler-Najjar syndrome. *Gastroenterol Hepatol.* 2005; 28:637-40.
70. Lysy PA, Najimi M, Stephenne X, Bourgois A, Smets F, Sokal EM Liver cell transplantation for Crigler-Najjar syndrome type I: update and perspectives. *World J Gastroenterol.* 2008; 14:3464-3470.
71. Ahmed P, Pratt A, Land VJ, et al. Multiple plasma exchanges successfully maintain a young adult patient with Crigler-Najjar syndrome type I. *J Clin Apher* 1989; 5:17.
72. Petit F, Gajdos V, Capel L, Parisot F, Myara A, Francoual J, Labrune P. Crigler-Najjar type II syndrome may result from several types and combinations of mutations in the UGT1A1 gene. *Clin Genet.* 2006; 69:525-527.
73. Keitel V, Nies AT, Brom M, Hummel-Eisenbeiss J, Spring H, Keppler D. A common Dubin-Johnson syndrome mutation impairs protein maturation and transport activity of MRP2 (ABCC2). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003; 284:G165-74.
74. Lee JH, Chen HL, Chen HL, Ni YH, Hsu HY, Chang MH Neonatal Dubin-Johnson syndrome: long-term follow-up and MRP2 mutations study. *Pediatr Res.* 2006; 59:584-9.

75. Nisa AU, Ahmad Z. Dubin-Johnson syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2008;18:188-9.
76. Kondo T, Yagi R, Kuchiba K. Letter: Dubin-Johnson syndrome in a neonate. *N Engl J Med.* 1970; 292:1028-1029.
77. Rosenthal P. Neonatal Dubin-Johnson syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1994;19:255.
78. Tsai WH, Teng RJ, Chu JS, Chang MH, Ho MM. Neonatal Dubin-Johnson syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1994;18:253-254.
79. Haimi-Cohen Y, Merlob P, Marcus-Eidlits T, Amir J. Dubin-Johnson syndrome as a cause of neonatal jaundice: the importance of coproporphyrins investigation. *Clin Pediatr (Phila)* 1998; 37:511-513.
80. Regev RH, Stolar O, Raz A, Dolfin T. Treatment of severe cholestasis in neonatal Dubin-Johnson syndrome with ursodeoxycholic acid. *J Perinat Med.* 2002; 30:185-187.
81. Shani M, Seligsohn U, Gilon E, et al. Dubin-Johnson syndrome in Israel. I. Clinical, laboratory, and genetic aspects of 101 cases. *Q J Med* 1970; 39:549.
82. Benz-de BI, Respaud R, Vourc'h P, Halimi JM, Caille A, Hulot JS. Et al Urinary elimination of coproporphyrins is dependent on ABCC2 polymorphisms and represents a potential biomarker of MRP2 activity in humans. *J Biomed Biotechnol.* 2011:498757.
83. Cebecauerova D, Jirasek T, Budisova L, Mandys V, Volf V, Novotna Z, et al. Dual hereditary jaundice: simultaneous occurrence of mutations causing Gilbert's and Dubin-Johnson syndrome. *Gastroenterology.* 2005; 129:315-320.
84. Hřebíček M, Jirásek T, Hartmannová H, Nosková L, Stránecký V, Ivánek R. et al Rotor-type hyperbilirubinaemia has no defect in the canalicular bilirubin export pump. *Liver Int.* 2007; 27:485-91.
85. Kimura A, Ushijima K, Kage M, Mahara R, Tohma M, Inokuchi T, et al. Neonatal Dubin-Johnson syndrome with severe cholestasis: effective phenobarbital therapy. *Acta Paediatr Scand.* 1991 80:381-385.
86. Maisels MJ, Kring E. Length of stay, jaundice, and hospital readmission *Pediatrics.* 1998; 101:995-998.
87. Smitherman H, Stark AR, Bhutani VK. Early recognition of neonatal hyperbilirubinemia and its emergent management. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006; 11:214-224.
88. Colletti JE, Kothari S, Jackson DM, Kilgore KP, Barringer K. An emergency medicine approach to neonatal hyperbilirubinemia. *Emerg Med Clin North Am.* 2007; 25:1117-1135

89. Johnson L, Bhutani VK, Brown AK. System-based approach to management of neonatal jaundice and prevention of kernicterus. *J Pediatr.* 2002; 140:396–403.
90. Shapiro SM. Bilirubin toxicity in the developing nervous system. *Pediatr Neurol* 2003; 29:410–421
91. Tiker F, Gulcan H, Kilicdag H, et al. Extreme hyperbilirubinemia in newborn infants. *Clin Pediatr (Phila)* 2006; 45:257–261
92. American Academy of Pediatrics Clinical Practice Guideline: Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics* 2004; 114: 297-316.
93. Bhutani VK, Maisels MJ, Stark ARE, Buonocore G, Expert Committee for Severe Neonatal Hyperbilirubinemia; European Society for Pediatric Research; American Academy of Pediatrics. Management of jaundice and prevention of severe neonatal hyperbilirubinemia in infants ≥ 35 weeks gestation. *Neonatology* 2008; 94:63-67
94. Porter ML, Dennis BL. Hyperbilirubinemia in the term newborn. *Am Fam Physician* 2002; 65:599-606
95. Preer GL, Philipp BL. Understanding and managing breast milk jaundice. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2011; 96:F461-466.
96. Gartner LM, Herschel M. Jaundice and breastfeeding. *Pediatr Clin North Am.* 2001; 48:389-399.
97. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal Hyperbilirubinemia. *N Engl J Med* 2001; 344:581-590
98. Lauer BJ, Spector ND. Hyperbilirubinemia in the newborn. *Pediatr Rev.* 2011; 32: 341-349.
99. Maisels MJ. Neonatal jaundice *Pediatr Rev.* 2006; 27:443-54
100. Watchko JF, Maisels MJ Enduring controversies in the management of hyperbilirubinemia in preterm neonates. *Sem Fetal Neonatal Med* 2010;15:136-140
101. Watchko JF. Identification of neonates at risk for hazardous hyperbilirubinemia: emerging clinical insights. *Pediatr Clin North Am.* 2009; 56:671-87.
102. Gartner LM. Breastfeeding and jaundice. *J Perinatol.* 2001; 21 Suppl 1:S25-29;
103. Rennie J, Burman-Roy S, Murphy MS; Neonatal jaundice: summary of NICE guidance. *Guideline Development Group BMJ.* 2010; 19;340:c2409.
104. Hansen TW. Bilirubin production, breast-feeding and neonatal jaundice. *Acta Paediatr.* 2001; 90:716-7.
105. Gourley GR. Breast-feeding, neonatal jaundice and kernicterus. *Semin Neonatol.* 2002; 7:135-141.
106. Watchko JF. Identification of neonates at risk for hazardous hyperbilirubinemia: emerging clinical insights. *Pediatr Clin North Am.* 2009; 56:671-87.

107. Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence risk of neonatal hyperbilirubinemia in siblings. *Am J Dis Child* 1988; 142:1065–1069.
108. Cohen RS, Wong RJ, Stevenson DK. Understanding neonatal jaundice: a perspective on causation. *Pediatr Neonatol*. 2010; 51:143-148.
109. .Kopelman AE, Brown RS, Odell GB The “bronze” babysyndrome: a complication of phototherapy. *J Pediatr* 1972; 81:466-47.
110. Rubatelli FF, Jori G, Reddi E Bronze baby syndrome: anew porphyrin-related disorder. *Pediatr Res* 1983; 17:327-330
111. Paumgartner G, BeursU, Mechanisms of action and therapeutic efficacy of ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8:67-81
112. Gupta S, Aragona E, Vemuru RP, et al. Permanent engraftment and function of hepatocytes delivered to the liver: implications for gene therapy and liver repopulation. *Hepatology* 1991; 14:144.