



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

JOÃO MIGUEL FIGUEIREDO HENRIQUES PIMENTEL

Doença hepática terminal na infância por colestase intra-hepática familiar progressiva – espetro clínico-laboratorial e histopatológico e pós-transplante hepático

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREAS CIENTÍFICAS DE PEDIATRIA E ANATOMIA PATOLÓGICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DR^a. SUSANA NOBRE

DR. RICARDO MARTINS

ABRIL 2021

Doença hepática terminal na infância por colestase intra-hepática familiar progressiva – espetro clínico-laboratorial e histopatológico e pós-transplante hepático

João Miguel Figueiredo Henriques Pimentel¹

Rui Pedro Caetano Moreira de Oliveira^{2, 3, 4}

Ricardo Jorge Teixeira Martins^{1, 3, 4, 5, 6}

Susana Margarida Nabais Gomes Nobre⁷

1 – Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

2 – Serviço de Anatomia Patológica, CHUC

3 – Instituto de Biofísica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

4 – iCBR CIMAGO, Centro para a Investigação em Genética, Ambiente e Oncologia,
Coimbra

5 – Serviço de Cirurgia, CHUC

6 – Unidade de Transplantação Hepática de Adultos, CHUC

7 – Unidade de Hepatologia e Transplantação Hepática Pediátrica, CHUC

Morada institucional: Hospital Pediátrico de Coimbra, Centro Hospitalar e Universitário de
Coimbra, Avenida Afonso Romão, 3000-602 Coimbra

Endereço de correio eletrónico: susananobre14@gmail.com

Resumo

Colestase intra-hepática familiar progressiva (*progressive familial intrahepatic cholestasis*, PFIC) representa a designação de um grupo de doenças autossómicas recessivas que causam colestase intra-hepática, habitualmente, na infância. Seis tipos estão descritos. Na maioria ocorre rápida progressão para cirrose e doença hepática terminal, sendo a transplantação hepática o único tratamento curativo disponível.

Pretendeu-se caracterizar os doentes com diagnóstico de PFIC, submetidos a transplante hepático em idade pediátrica, em Portugal. Foram analisados dados clínicos, laboratoriais, imagiológicos e histopatológicos, com recurso à consulta dos processos clínicos dos doentes.

Entre 1994 e 2020, foram transplantados nove doentes com PFIC, na Unidade de Hepatologia e Transplantação Hepática Pediátrica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, quatro do sexo feminino e cinco do sexo masculino, com mediana de idade no transplante de três anos e nove meses, dois com PFIC1, quatro PFIC2, um PFIC3, um PFIC4 e um PFIC5.

A doença manifestou-se nos primeiros dois anos em oito doentes, quatro deles no primeiro mês. Ocorreu evolução para cirrose em todos, oito com hipertensão portal. Os doentes com PFIC1 desenvolveram osteoartropatia hipertrófica e manifestações extra-hepáticas – atraso de crescimento e diarreia crónica. Dois doentes (PFIC2 e PFIC4) desenvolveram carcinoma hepatocelular (CHC). Histologicamente, todos os casos demonstraram fibrose e evolução cirrótica, associada a colestase e reação ductular na PFIC1; hepatite de células gigantes, hepatócitos xantomatosos e colestase na PFIC2; reação ductular na PFIC3; transformação xantomatosa e colestase na PFIC4; reação ductular na PFIC5. Os doentes com PFIC1 tinham marcação negativa para CD10 e um deles marcação ténue para pCEA. Dois dos quatro doentes com PFIC2 apresentaram marcação negativa para BSEP. A marcação para MDR3 foi negativa no doente com PFIC3. Três doentes realizaram derivação biliar previamente ao transplante. Após o transplante, a maioria apresentou boa evolução clínica e um (PFIC1) necessitou de um segundo transplante por colangiopatia isquémica do primeiro enxerto. Os doentes com PFIC1 desenvolveram esteatose hepática, mantiveram diarreia crónica e atraso de crescimento, desenvolveram disfunção crónica do enxerto e realizaram derivação biliar externa. No período de estudo (mínimo de dois anos e cinco meses e máximo de vinte anos e nove meses) não se detetou recorrência da PFIC ou de CHC.

Embora uma doença rara, a PFIC deve ser considerada no diagnóstico diferencial de icterícia colestática em idade pediátrica. O possível desenvolvimento de neoplasias deve motivar o seu rastreio sistemático. A transplantação hepática é, por vezes, a única opção terapêutica, embora possa não haver resolução das manifestações extra-hepáticas.

Palavras-chave

Colestase intra-hepática familiar progressiva; transplante hepático; cirrose; colestase; pediatria.

Abstract

Progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) represents the designation of a group of autosomal recessive diseases that usually cause intrahepatic cholestasis in childhood. Six types are described. In most cases there is a rapid progression to cirrhosis and end-stage liver disease, with liver transplantation being the only curative treatment available.

The aim of the study was to characterize PFIC patients who underwent pediatric liver transplantation in Portugal. Clinical, laboratory, imaging and histopathological data were analyzed, using the patients' clinical files.

Between 1994 and 2020, nine patients with PFIC were transplanted, at the Unidade de Hepatologia e Transplantação Hepática Pediátrica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, four females and five males, with a median age at the transplant of three years and nine months, two with PFIC1, four PFIC2, one PFIC3, one PFIC4 and one PFIC5.

The disease manifested itself in the first two years in eight patients, four of them in the first month. There was an evolution to cirrhosis in all, eight with portal hypertension. PFIC1 patients developed hypertrophic osteoarthropathy and extrahepatic manifestations - growth retardation and chronic diarrhea. Two patients (PFIC2 and PFIC4) developed hepatocellular carcinoma (HCC). Histologically, all cases showed fibrosis and cirrhotic evolution, associated with cholestasis and ductular reaction in PFIC1; giant cell hepatitis, xanthomatous hepatocytes and cholestasis in PFIC2; ductular reaction in PFIC3; xanthomatous transformation and cholestasis in PFIC4; ductular reaction in PFIC5. PFIC1 patients were negative for CD10 and one was only mildly positive for pCEA. Two of the four patients with PFIC2 were negative for BSEP. MDR3 was negative in the PFIC3 patient. Three patients underwent biliary diversion prior to transplantation. After transplantation, the majority showed good clinical evolution and one (PFIC1) required a second transplant due to ischemic cholangiopathy of the first graft. Patients with PFIC1 developed hepatic steatosis, maintained chronic diarrhea and growth retardation, developed chronic graft dysfunction and underwent external biliary diversion. During the study period (minimum of two years and five months and maximum of twenty years and nine months), there was no recurrence of PFIC or HCC.

Although a rare disease, PFIC should be considered in the differential diagnosis of cholestatic jaundice in children. The possible development of neoplasms should motivate their systematic screening. Liver transplantation is sometimes the only therapeutic option, although there may be no resolution of extrahepatic manifestations.

Keywords

Progressive familial intrahepatic cholestasis; liver transplant; cirrhosis; cholestasis; pediatrics.

Introdução

Colestase intra-hepática familiar progressiva (*progressive familial intrahepatic cholestasis*, PFIC) refere-se a um grupo heterogêneo de doenças genéticas raras, autossômicas recessivas, que cursam com colestase intra-hepática, com habitual início na infância. A sua exata incidência é desconhecida, mas estima-se que esteja entre 1/50.000 e 1/100.000 nascimentos.¹ É responsável por 10-15% dos casos de colestase na criança e por 10-15% dos transplantes hepáticos pediátricos.^{1,2}

Atualmente, seis tipos estão descritos, associados a mutações em genes específicos: PFIC1 (gene *ATP8B1*), PFIC2 (gene *ABCB11*), PFIC3 (gene *ABCB4*), PFIC4 (gene *TJP2*), PFIC5 (gene *NR1H4*) e PFIC6 (gene *MYO5B*).³ Resultam de defeitos relacionados com o processo de secreção biliar, a nível da membrana canalicular. Estas alterações podem ocorrer por mutações que afetam diretamente a proteína bomba de exportação de sais biliares (BSEP), responsável pela exportação de sais biliares, a regulação da sua expressão ou a sua localização a nível membranar (PFIC2, PFIC5 e PFIC6, respetivamente). Estes defeitos levam à acumulação de sais biliares no parênquima hepático e à sua consequente lesão progressiva.⁴ Podem também resultar da afetação da exportação de fosfatidilcolina, que assume um papel importante na neutralização dos sais biliares, levando à lesão do epitélio biliar e dos canalículos, bem como à promoção da cristalização de colesterol com consequente lesão hepática por obstrução de pequenos ductos biliares (PFIC3).^{2,5} Defeitos das junções de oclusão por mutação de gene de proteína de ancoragem podem ser também causa de PFIC (PFIC4). Considera-se que possam permitir a passagem de componentes biliares para o espaço paracelular com lesão subsequente.⁴ Outro mecanismo associado às PFICs é a afetação de proteína responsável pela translocação de fosfolípidos do folheto externo para o folheto interno da membrana, o que protege o canalículo de danos provocados pelos ácidos biliares (PFIC1). Nestes casos, a alteração pode também levar a disfunção da proteína BSEP e afeção do transporte vesicular.⁶

O diagnóstico requer uma abordagem multidisciplinar, baseando-se em elementos clínicos, bioquímicos, imagiológicos, histológicos e genéticos.^{7,8} A maioria dos doentes apresenta-se com icterícia e prurido nos primeiros meses de vida, exceto na PFIC3, na qual o início da sintomatologia é habitualmente mais tardio. A apresentação neonatal é rara, podendo apenas surgir na adolescência tardia ou mesmo na idade adulta. Neste tipo de PFIC, a icterícia e o prurido são tipicamente menos graves. Neste subtipo, as apresentações mais tardias podem ocorrer com manifestações de hipertensão portal.^{1,2} A PFIC2 é classicamente mais grave e com uma evolução mais rápida que a PFIC1.^{9,10} Os doentes com PFIC têm

tipicamente uma rápida progressão da doença, com instalação de cirrose e doença hepática terminal, geralmente, em idade pediátrica. As PFIC2, PFIC3 e PFIC4 associam-se a um risco aumentado de neoplasias, nomeadamente, carcinoma hepatocelular.^{3,5} Manifestações extra-hepáticas podem ocorrer na PFIC1, nomeadamente, diarreia crónica, surdez neurossensorial, pancreatite, pneumonia, esteatose hepática e atraso de crescimento.^{1,4}

Estes doentes apresentam uma diminuição da esperança média de vida, sintomas debilitantes e conseqüentemente a uma má qualidade de vida.¹⁰ A PFIC cursa com elevação dos valores séricos de bilirrubina conjugada⁹, e com γ -glutamiltanspeptidase (GGT) com valores baixos ou dentro dos parâmetros de normalidade em todos os tipos, à exceção da PFIC3, em que a GGT se encontra geralmente aumentada.^{3,7}

A biópsia hepática constitui um auxílio importante para o diagnóstico.¹ A histologia hepática de doentes com PFIC1 demonstra geralmente colestase canalicular, ausência de inflamação e ocasional ductopenia. A progressão da doença leva ao desenvolvimento de fibrose e eventualmente cirrose micronodular. A PFIC2 é tipicamente caracterizada pela presença de colestase canalicular e hepatocelular, desorganização arquitetural marcada, inflamação, transformação em células gigantes, balonização de hepatócitos e necrose, progredindo eventualmente, e mais precocemente que na PFIC1, para cirrose. Na PFIC3 é habitual encontrar-se colestase hepatocelular, proliferação ductular, infiltrado inflamatório e fibrose portal, com evolução cirrótica.⁹ Histologicamente, a PFIC4 apresenta colestase hepatocelular e transformação de células gigantes. Na PFIC5 pode ser detetada colestase intralobular, reação ductular, balonização de hepatócitos, transformação em células gigantes e fibrose, com progressão para cirrose micronodular. Biópsias hepáticas de doentes com PFIC6 demonstram colestase hepatocelular, fibrose e transformação em células gigantes.⁴ As técnicas de imuno-histoquímica são um importante auxílio ao diagnóstico, ainda que estudos adicionais sejam necessários. Na PFIC1, a expressão dos marcadores GGT, CD10 e antigénio carcinoembrionário policlonal (pCEA) encontra-se habitualmente diminuída nos canalículos.^{6,9} A perda de expressão das proteínas BSEP e proteína de resistência a múltiplas drogas 3 (MDR3) sugerem, respetivamente, PFIC2 e PFIC3.⁹ Na PFIC4, pode detetar-se perda de marcação para as proteínas de junção de oclusão 2 (TJP2) e claudina-1 (CLDN1).¹¹

Ainda assim, o teste genético é o *gold standard* para confirmação diagnóstica.^{2,7}

A tabela 1 resume as características dos vários tipos de PFIC.

Tabela 1. Características dos 6 tipos de PFIC

Tipo de PFIC	PFIC1	PFIC2	PFIC3	PFIC4	PFIC5	PFIC6
Gene	ATP8B1	ABCB11	ABCB4	TJP2	NR1H4	MYO5B
Função/ estrutura	Translocação de fosfatidilserina	Exportação de ácidos biliares	Exportação de fosfatidilcolina	Proteína de junção de oclusão	Regulação da expressão de BSEP (recetor nuclear)	Localização de BSEP na membrana canalicular
Clínica/ histologia	Colestase neonatal / na infância precoce Cirrose Manifestações extra-hepáticas	Colestase neonatal / na infância precoce Hepatite de células gigantes, cirrose CHC	Raro no período neonatal, início mais tardio. Manifestação inicial pode ser HT portal Cirrose, reação ductular CHC	Colestase neonatal / na infância precoce Cirrose, células gigantes CHC	Colestase neonatal / na infância precoce Cirrose, células gigantes	Colestase neonatal / na infância precoce Cirrose, células gigantes
Alterações analíticas (GGT)	GGT baixo	GGT baixo	GGT elevado	GGT baixo	GGT baixo	GGT baixo

Abreviaturas: **BSEP** (bomba de exportação de sais biliares), **CHC** (carcinoma hepatocelular), **FXR** (recetor farnesóide X), **GGT** (γ -glutamiltanspeptidase), **HT** (hipertensão), **MDR3** (proteína de resistência a múltiplas drogas 3), **PFIC** (colestase intra-hepática familiar progressiva)

O tratamento pretende aliviar o prurido e atrasar a progressão da doença. São possíveis abordagens médicas, com recurso a ácido ursodesoxicólico (AUDC) e outros fármacos antipruriginosos como colestiramina e rifampicina, e cirúrgicas, através de derivações biliares ou técnicas de exclusão ileal, utilizadas com sucesso em doentes com PFIC1 e PFIC2. Medidas para otimizar o estado nutricional, correção de deficiências vitamínicas e

tratamento de eventuais complicações da doença hepática avançada são essenciais.^{2,7} A transplantação hepática é, atualmente, o único tratamento definitivo.⁸ A falência das abordagens anteriormente mencionadas, a instalação de doença hepática terminal e a ocorrência de neoplasias constituem indicações para a sua realização. Apesar do sucesso crescente, a transplantação hepática é ainda acompanhada de morbidade e mortalidade significativos, bem como da necessidade de terapêutica imunossupressora de forma permanente.^{7,8} O transplante hepático num doente com PFIC1 pode associar-se a agravamento da sintomatologia extra-hepática e a esteatose hepática de novo.^{2,7} Está documentada a recorrência pós-transplante, em até 8% dos indivíduos com PFIC2, por formação de autoanticorpos contra a proteína BSEP.⁷

A PFIC, ainda que uma patologia rara, constitui uma causa relevante de colestase na criança e de transplante hepático pediátrico. Os casos de PFIC em Portugal estão insuficientemente descritos na literatura e a sua incidência é desconhecida. Pretende-se, com este estudo, caracterizar os doentes com diagnóstico de PFIC submetidos a transplante hepático em idade pediátrica em Portugal, com ênfase no seu perfil clínico, alterações histológicas apresentadas e evolução após o transplante.

Materiais e métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo, dos doentes com o diagnóstico de PFIC submetidos a transplante hepático em idade pediátrica desde o início do programa de transplantação hepática pediátrica em Portugal, até dezembro de 2020. Foi feita a colheita de dados demográficos, clínicos, laboratoriais, imagiológicos e histopatológicos com recurso à consulta dos processos clínicos dos indivíduos incluídos na amostra. Caracterizou-se a apresentação e evolução clínicas, as alterações analíticas, nomeadamente os valores de bilirrubina total, bilirrubina conjugada, fosfatase alcalina, GGT, transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), alterações imagiológicas, achados histológicos em biópsia hepática realizada previamente ao transplante e em estudo da peça cirúrgica após o transplante, os tratamentos efetuados e parâmetros relacionados com o transplante hepático, que incluíram a idade na data do transplante, complicações e a evolução posterior. Nos casos em que não foi realizado previamente, o estudo do fígado explantado foi complementado com análise através de técnicas de imuno-histoquímica com recurso aos seguintes marcadores: CD10 e pCEA na PFIC1, BSEP e GGT na PFIC2, MDR3 e GGT na PFIC3.

O estudo cumpre com os princípios da Declaração de Helsínquia e foi aprovado pela comissão de ética do CHUC – parecer CHUC-198-20.

Resultados

A Unidade de Hepatologia e Transplantação Hepática Pediátrica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) é o centro nacional de transplantação hepática pediátrica. Desde o início do programa de transplantação, em 1994, até dezembro de 2020, foram efetuados 273 transplantes correspondendo a 232 crianças. Destas, 9 crianças (3,9%) tinham o diagnóstico de PFIC.

O estudo inclui nove doentes com diagnóstico de PFIC, submetidos a transplante com menos de dezoito anos: dois com PFIC1, quatro com PFIC2 e um com PFIC3, um com PFIC4 e um com PFIC5. Cinco do sexo masculino e quatro do sexo feminino. As idades de apresentação da doença estão compreendidas entre a primeira semana de vida e os treze anos, com uma mediana de um mês e meio. O transplante hepático foi realizado em idades compreendidas entre os três anos e um mês e os dezasseis anos e onze meses, com uma mediana de três anos e nove meses.

As apresentação e evolução clínicas, os dados laboratoriais e ecográficos, os achados histopatológicos em biópsia e peça de hepatectomia (figuras 1 e 2), os tratamentos efetuados previamente ao transplante, e as variáveis relacionadas com o transplante como a idade, características do enxerto, as complicações e a evolução pós-transplante são apresentados na tabela 2.

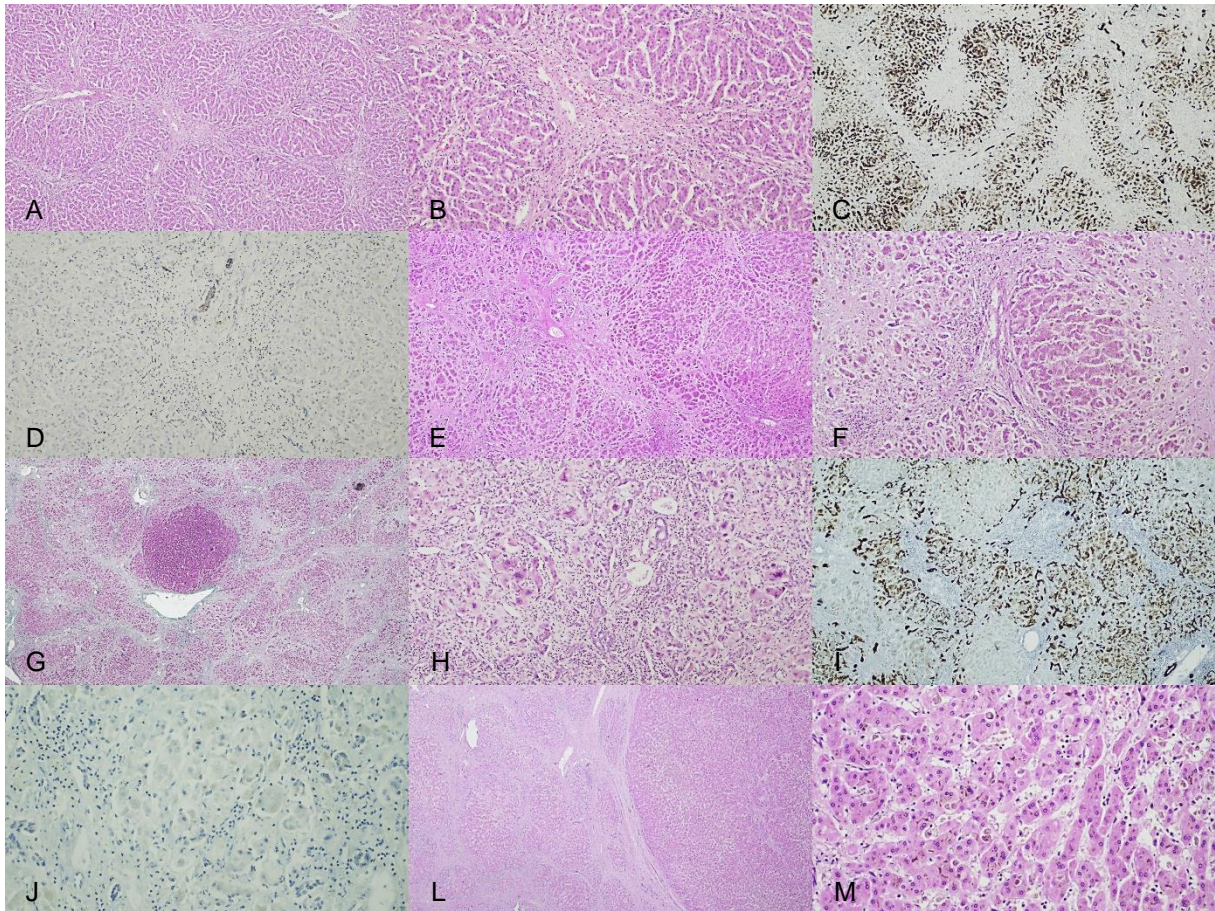


Figura 1. Achados histopatológicos de doentes com PFIC1 e PFIC2. PFIC1: evolução cirrótica – HE (hematoxilina-eosina) (A, 20x, B, 200x), CK7 com marcação nos hepatócitos perisseptais (C, 100x), ausência de marcação para CD10 (D, 200x). PFIC2: hepatite colestática em fase cirrótica – HE (E 100x, F 200x), tricrómio de Masson (G, 20x), presença de células gigantes – HE (H, 200x), CK7 evidenciando marcação nos hepatócitos perisseptais (I, 200x), marcação negativa para proteína BSEP (J, 400x), interface fígado-CHC – HE (L, 20x), CHC de padrão microtrabecular – HE (M, 400x).

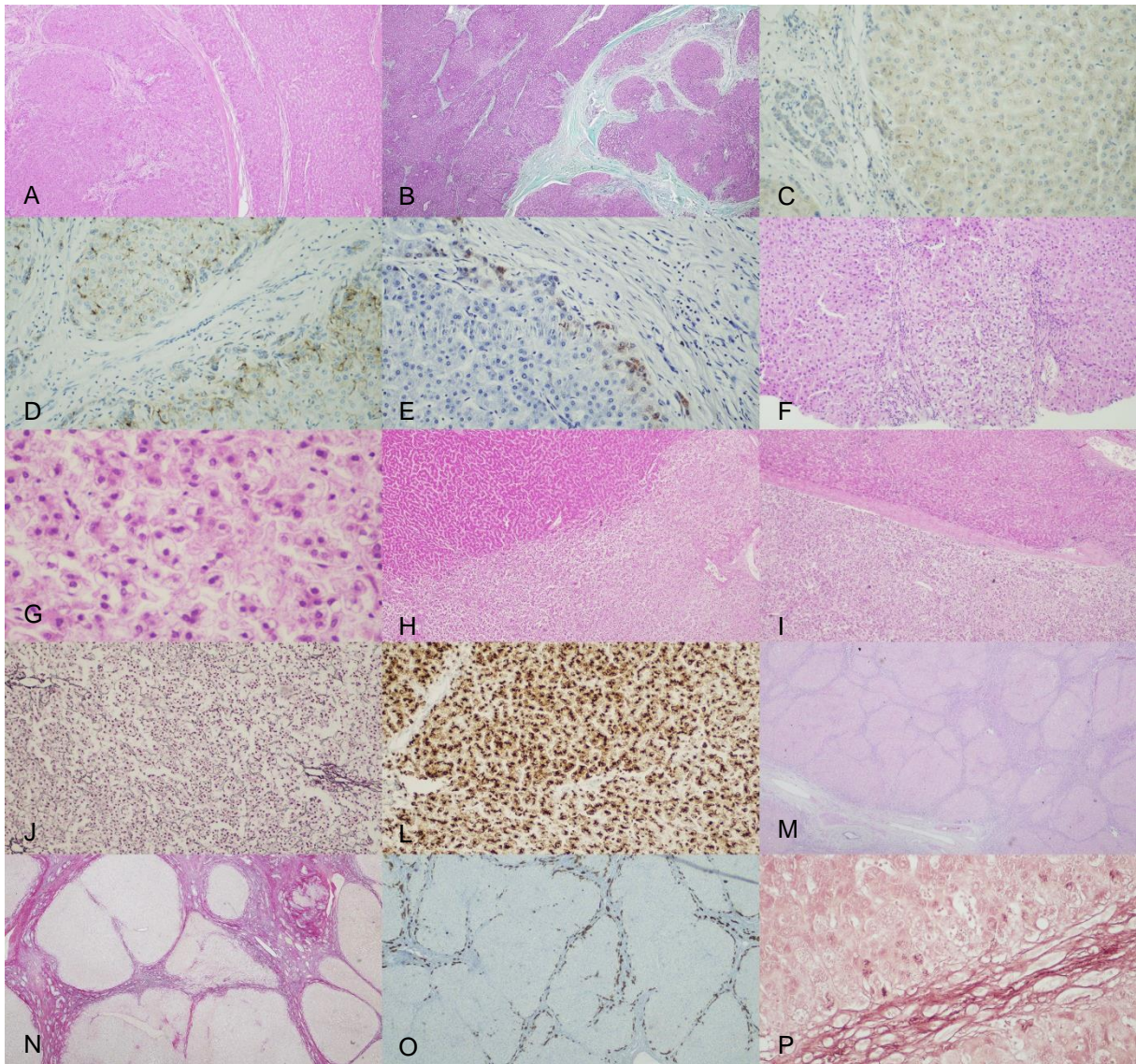


Figura 2. Achados histopatológicos em doentes com PFIC3, PFIC4 e PFIC5. PFIC3: fibrose septal incompleta – HE (hematoxilina-eosina) (A, 20x) e tricrómio de Masson (B, 20x), ausência de marcação para MDR3 (C, 200x), marcação positiva para GGT (D, 400x), depósitos de cobre evidenciados pela rodanina, traduzindo colestase crónica (E, 400x). PFIC4: hepatócitos xantomatosos – HE (F 100x, G 400x), interface fígado-CHC – HE (H 40x, I 40x), perda de rede de reticulina (J, 200x) e sobre-expressão de glipicano 3 (L, 200x) na lesão tumoral. PFIC5: cirrose hepática – H&E (M, 20x), picrossirius (N, 40x), marcação para CK7 revelando reação ductular (O, 20x), presença de depósitos de cobre evidenciados pela orceína (P, 400x), traduzindo colestase crónica

Tabela 2. Dados demográficos, clínicos, analíticos, imagiológicos, histológicos e relacionados com tratamento efetuado dos doentes com PFIC

	PFIC1		PFIC2				PFIC3	PFIC4	PFIC5
	Doente A	Doente B	Doente C	Doente D	Doente E	Doente F	Doente G	Doente H	Doente I
Género	Masculino	Masculino	Feminino	Feminino	Masculino	Masculino	Feminino	Feminino	Masculino
País de Origem	Cabo Verde	Cabo Verde	Portugal	São Tomé e Príncipe	Portugal	Portugal	Portugal	Portugal	Portugal
Consanguinidade	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Diagnóstico molecular	Gene <i>ATP8B1</i>	Gene <i>ATP8B1</i>	Gene <i>ABCB11</i>	Gene <i>ABCB11</i>	Gene <i>ABCB11</i>	Gene <i>ABCB11</i> Homozigotia Polimorfismo V444A (relevância clínica desconhecida)	Gene <i>ABCB4</i> Heterozigotia composta	Gene <i>TJP2</i> Homozigotia	Gene <i>NR1H4</i> Homozigotia
Clínica									
Idade de apresentação	< 1 mês	< 1 mês	< 1 mês	3-4 meses	15 meses	< 1 mês	13 anos	1,5 meses	2 anos
Manifestações clínicas	Colestase Hepatomegalia Prurido Diarreia crónica Atraso de crescimento Coagulopatia Osteoartropatia hipertrófica Cirrose Hipertensão portal	Colestase Hepatomegalia Prurido Diarreia crónica Atraso de crescimento Coagulopatia Osteoartropatia hipertrófica Cirrose Hipertensão portal	Colestase Prurido Hepatoesplenomegalia Osteopenia Atraso de crescimento Hiperesplenismo Coagulopatia Cirrose Hipertensão portal Varizes esofágicas	Colestase Prurido Hepatomegalia Osteopenia Coagulopatia Lama biliar Cirrose	Colestase Prurido Disfunção hepática Coagulopatia Cirrose	Colestase Prurido Epistáxis HDA por gastrite hipertrófica Hipertensão portal Hipertensão pulmonar Estado de consciência flutuante Cirrose CHC	Esplenomegalia Hiperamoniémia Hemorragias gengivais Cirrose Hipertensão portal Hiperesplenismo	Colestase Hiperamoniémia Prurido Atraso de crescimento Cirrose Hipertensão portal CHC	Colestase Hepatoesplenomegalia Coagulopatia Hipertensão portal Cirrose Síndrome hepatopulmonar

Análises laboratoriais prévias ao transplante									
Bilirrubina total (µmol/L)	273,2 (<22)	348,7 (<22)	87 (<22)	323,9 (<22)	116 (<22)	389,1 (<22)	26,5 (<22)	8,1 (<22)	50,9 (<22)
Bilirrubina conjugada (µmol/L)	120,4 (<5)	212,2 (<5)	27 (<5)	172,4 (<5)	100 (<5)	201,9 (<5)	2,4 (<7)	3,9 (<5)	2,8 (<5)
FA (U/L)	223 (150-380)	308 (150-380)	422 (150-380)	378 (105-420)	278 (150-380)	785 (150-380)	102 (70-230)	156 (50-130)	204 (150-380)
GGT (U/L)	29 (12-58)	31 (12-58)	34 (12-58)	41 (12-58)	31 (12-58)	36 (12-58)	39 (12-58)	52 (12-58)	579 (12-58)
TGO (U/L)	136 (5-60)	63 (5-45)	130 (5-60)	315 (5-40)	892 (5-60)	390 (5-60)	135 (15-46)	44 (15-46)	100 (5-60)
TGP (U/L)	92 (10-25)	17 (10-25)	98 (5-40)	124 (10-30)	452 (10-25)	426 (10-25)	126 (5-35)	35 (5-35)	52 (10-25)
Ecografia									
Hepato-megalia	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
Textura	Heterogénea	Heterogénea	Heterogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea	Heterogénea	Heterogénea	Heterogénea
Contornos	Lobulados	Lobulados	Regulares	Regulares	Regulares	-	Lobulados	Lobulados	Lobulados
Nódulos	Não	Não	Múltiplos	Não	Não	Hipoecogénicos Limites mal definidos	Não	Hipoecogénicos	Não
Histopatologia									
Biópsia hepática	Fibrose perilobular Infiltrado inflamatório ligeiro Reação ductular Colestase periportal	Fibrose septal Formações nodulares Infiltrado inflamatório ligeiro Reação ductular Colestase moderada Metaplasia biliar	Fibrose septal Infiltrado inflamatório ligeiro Reação ductular Células gigantes	Fibrose perissinusoidal ocasional Infiltrado inflamatório ligeiro Colestase residual Células com pigmento ceróide	Fibrose septal Infiltrado inflamatório Ductopenia Colestase intensa Células gigantes Transformação xantomatosa Corpos de Mallory	Fibrose septal Cirrose Infiltrado inflamatório moderado Reação ductular Ductopenia ocasional Colestase Transformação xantomatosa	Fibrose portal não cirrótica Infiltrado inflamatório ocasional Reação ductular escassa Rodanina negativa	Fibrose portal Cirrose macronodular Infiltrado inflamatório portal Reação ductular Colestase ligeira Transformação xantomatosa	Fibrose septal Cirrose micronodular Infiltrado inflamatório ligeiro Reação ductular Colestase ligeira Hepatócitos com disposição

		Balonização focal				Hepatócitos multi-nucleados Rosetas		Rodanina positiva CHC bem diferenciado	trabecular Esteatose micro-vacuolar (focal)
Fígado explantado	Cirrose Fibrose septal Infiltrado inflamatório ligeiro Colestase intensa Trombos biliares	Cirrose Fibrose septal Infiltrado inflamatório ligeiro Colestase intensa	Cirrose micronodular Fibrose septal Infiltrado inflamatório mínimo Reação ductular Colestase Céulas gigantes Rodanina positiva	Cirrose Fibrose portal e perissinusoidal Infiltrado inflamatório moderado Colestase intensa Céulas gigantes Necrose acidófila Rodanina positiva	Fibrose septal Infiltrado inflamatório ligeiro Ductopenia Colestase intensa Necrose submucosa Corpos de Mallory e fenômenos regenerativos (focal)	Cirrose micronodular Fibrose septal Infiltrado inflamatório ligeiro Reação ductular Ductopenia Colestase intensa Rodanina positiva Corpos de Mallory Nódulos com displasia de alto grau Nódulos de CHC	Fibrose portal Nodulação regenerativa	Cirrose macronodular Fibrose septal Reação ductular Colestase marcada Transformação xantomatosa Corpos de Mallory Núcleos glicogenados, anisonucleose Rodanina positiva Nódulos com displasia de baixo e alto graus CHC bem diferenciado	Cirrose micronodular Fibrose septal Infiltrado inflamatório ligeiro Reação ductular Rodanina negativa
Imuno-histoquímica	CK7 panlobular pCEA positivo no polo biliar CD10 negativo	CK7 panlobular pCEA tênue no polo biliar CD10 negativo	BSEP negativo GGT positivo	BSEP Positivo GGT positivo	BSEP negativo GGT positivo	BSEP positivo MDR3 tênue	MDR3 negativo GGT positivo	CD10, BSEP, MDR3, GGT positivos	-
Tratamento									
Pré-transplante	AUDC Colestira-	AUDC Colestiramina	AUDC Rifampicina	AUDC Colestiramina	AUDC Derivação	AUDC	AUDC Rifaximina	AUDC Rifampicina	AUDC

	mina Hidroxizina Derivação biliocólica ascendente	Hidroxizina Derivação biliocólica ascendente		Rifampicina Hidroxizina NAC Fenilbutirato Cetirizina Fenobarbital Mometasona Fluticasona	biliocólica		TIPS		
Transplante hepático									
Idade	3 anos e 9 meses	3 anos e 8 meses	6 anos	11 anos e 7 meses	2 anos e 1 mês	2 anos e 4 meses	16 anos e 11 meses	16 anos e 10 meses	3 anos e 1 mês
Tempo desde a apresentação clínica	3 anos e 9 meses	3 anos e 8 meses	6 anos	11 anos e 3 meses	10 meses	2 anos e 3 meses	3-4 anos	16 anos e 8 meses	1 ano
Enxerto	Fígado reduzido (segmento esquerdo) Dador cadáver Isogrupal	Fígado reduzido (segmentos II e III) Dador cadáver Isogrupal	Fígado inteiro Dador cadáver pediátrico Não isogrupal (dador 0, recetor A)	Fígado reduzido (segmentos II, III e parte do IV) Dador cadáver Isogrupal	Fígado reduzido Isogrupal	Fígado reduzido (lobo esquerdo) Dador cadáver Isogrupal Esteatose micro e macrovacuolar	Fígado inteiro Dador cadáver Isogrupal	Fígado inteiro Dador cadáver Isogrupal	Fígado reduzido (segmentos II e III) Dador cadáver Isogrupal
Complicações precoces	Perfuração intestinal	Ascite	Rejeição aguda Derrame pleural Neutropenia transitória Biloma	Hemoperitoneu Ascite Derrame pleural	Colestase Deiscência da sutura Derrame pleural Atelectasia Coleção purulenta subfrênica Perfuração intestinal	Colestase Hiperesplenismo Estenose da artéria hepática Disfunção miocárdica, HTA Derrame pleural	Fluxo de artéria hepática ausente Disfunção aguda de enxerto HTA	Trombose da artéria hepática Derrame pleural	Hemoperitoneu Pneumonia por CMV Bacteriemia

					Trombo- citopenia	Conden- sações pulmonares Biloma subfrênico Coagulopatia			
Compli- cações tardias	Abcessos perihepático e perianal Sépsis Colangite Lesão renal aguda secundária ao tacrólimus	Colangite Pancitopenia (com EBV positivo) Pancreatite aguda	Hipogama- globulinémia Hepatite E IRS Tosse convulsa Bronquie- ctasias Excesso de peso Hipercoles- terolémia	-	-	-	Episódio de disfunção aguda de enxerto	HTA	Sarcoma de Kaposi nodular genera- lizado Síndrome histofago- cítico Meningite vírica Osteopenia Dislipidemia HTA Nódulos pulmonares Tosse crônica
Evolução	Melhoria de prurido e osteo- artropatia Mantém diarreia, dores osteo- articulares, desnutrição, osteopenia, défice de vitamina D Esteatose hepática	Manteve queixas de prurido, diarreia, osteopenia, défice de vitaminas lipossolúveis, atraso de crescimento Esteatose hepática Derivação biliar externa	Boa evolução	Boa evolução	Boa evolução	Boa evolução	Boa evolução	Prurido discreto	Boa evolução

	Derivação biliar externa Disfunção crónica de enxerto	Disfunção crónica de enxerto							
Tempo de follow-up	7 anos e 10 meses	8 anos	12 anos e 8 meses	6 anos e 7 meses	14 anos e 11 meses	20 anos e 9 meses	3 anos e 9 meses	2 anos e 5 meses	7 anos e 6 meses

Abreviaturas: **AUDC** (ácido ursodesoxicólico), **BSEP** (bomba de exportação de sais biliares), **CHC** (carcinoma hepatocelular), **CK7** (citoqueratina 7), **CMV** (citomegalovirus), **FA** (fosfatase alcalina), **GGT** (γ -glutamiltanspeptidase), **HTA** (hipertensão arterial), **IRS** (infecções respiratórias superiores), **MDR3** (proteína de resistência a múltiplas drogas 3), **NAC** (N-acetilcisteína), **pCEA** (antigénio carcinoembrionário policlonal), **PFIC** (colestase intra-hepática familiar progressiva), **TIPS** (*shunt* portossistémico intra-hepático transjugular), **TGO** (transaminase glutâmico-oxaloacética), **TGP** (transaminase glutâmico-pirúvica)

Descreve-se em seguida, alguns aspetos particulares de cada doente, consoante o tipo de PFIC.

Doentes com PFIC1

Os dois casos de PFIC1 incluídos na amostra, doentes A e B, são gémeos monozigóticos, filhos de pais consanguíneos, com apresentação da doença na primeira semana de vida com icterícia e hepatomegalia. Ambos desenvolveram prurido, diarreia crónica, atraso de crescimento e quadro de osteoartropatia hipertrófica (figura 3), e evoluíram para cirrose hepática, hipertensão portal e coagulopatia. Analiticamente, apresentaram hiperbilirrubinémia grave com GGT normal.



Figura 3. Osteoartropatia hipertrófica em doente com PFIC1.

Foram ambos submetidos a derivação biliocólica previamente ao transplante hepático. Após o transplante, apresentaram melhoria do prurido e da osteoartropatia, embora um dos doentes ainda mantenha queixas osteoarticulares (artralgias incapacitantes e esteja medicado com prednisolona). Em ambos ocorreu disfunção crónica do enxerto e desenvolvimento de esteatose hepática de novo. No doente A, destaca-se lesão renal aguda

secundária à terapêutica imunossupressora com tacrolimus. O doente B necessitou de um retransplante hepático, de dador cadáver pediátrico, devido a colangiopatia isquémica do primeiro enxerto, três anos após o primeiro transplante. Ambos mantêm desnutrição, atraso de crescimento, osteopenia e diarreia crónica. Ambos realizaram derivação biliar externa com melhoria da esteatose, mas mantendo disfunção crónica do enxerto.

Doentes com PFIC2

A amostra inclui quatro doentes, C, D, E e F, com diagnóstico de PFIC 2.

A doente C, filha de pais consanguíneos, apresentou colestase de início neonatal. Ocorreu evolução progressiva para cirrose hepática e hipertensão portal. Apresentava hiperbilirrubinémia conjugada com valores de GGT normais. No pós-transplante imediato sofreu um episódio de rejeição aguda mediada por anticorpos (ABO-mediada), no contexto de um transplante hepático não isogrupal, com dador 0 e recetor A. Ocorreu posterior disfunção crónica do enxerto, atribuída a má adesão à terapêutica imunossupressora. Destaca-se a ocorrência, posteriormente ao transplante, de múltiplas infeções respiratórias superiores, nomeadamente sinusites, bem como infeção por *Bordetella pertussis* e bronquiectasias.

A doente D apresentava histórico de tosse não produtiva desde o primeiro mês e desenvolveu pneumonias de repetição pelos seis meses de idade. A apresentação da PFIC ocorreu entre os três e os quatro meses, com aparecimento de prurido intenso e ocorrência posterior de icterícia, colúria e acolia fecal. A evolução ocorreu inicialmente por surtos, tornando-se progressivamente contínua sem intervalos livres. Ocorreu instalação de coagulopatia refratária à vitamina K e cirrose hepática até aos quatro anos. Detetou-se ainda a presença de lama biliar. Analiticamente, apresentava hiperbilirrubinémia conjugada com GGT dentro dos parâmetros de normalidade. Após o transplante, apresentou vários episódios de disfunção de enxerto que se associaram a má adesão à terapêutica imunossupressora.

O doente E, com histórico de hepatite neonatal, apresentou icterícia e prurido aos 15 meses de idade. Manteve inicialmente bom estado geral e nutricional com função de síntese hepática preservada, mas flutuação dos valores de bilirrubina, agravando no contexto de intercorrências infecciosas. No entanto, a colonização do líquido biliar por *Enterobacteriaceae* e múltiplas colangites e sépsis, terão precipitado a disfunção hepática, coagulopatia e cirrose hepática em estágio terminal. Era detetável hiperbilirrubinémia conjugada com GGT

normal. Foi submetido, previamente ao transplante, a derivação biliocólica. Posteriormente ao transplante, destaca-se boa evolução do enxerto.

O doente F apresentou acolia fecal e icterícia às três semanas de vida. Ocorreu boa progressão ponderal nos primeiros dois meses, com deterioração posterior. O agravamento do quadro clínico foi progressivo, com instalação de cirrose hepática terminal aos dois anos de idade. Apresentava bilirrubinemia elevada e GGT normal. Apresentava valores de α -fetoproteína (AFP) elevados (2300 UI/mL). Na ecografia hepática eram detetáveis vários nódulos hepáticos, alguns de limites mal definidos. O estudo genético detetou o polimorfismo V444A em homozigotia no gene *ABCB11*, uma variante de relevância clínica ainda desconhecida. O estudo da peça cirúrgica detetou a presença de quatro nódulos de CHC. No período de pós-transplante precoce (D16) apresentou um episódio de rejeição mediada por células T, com boa resposta à intensificação da imunossupressão. Após o transplante, manteve uma boa função do enxerto, sem recorrência da doença metabólica ou da neoplasia num período de follow-up de vinte anos e nove meses.

Doentes com PFIC3, PFIC4 e PFIC5

A amostra inclui o doente G com diagnóstico de PFIC3, o doente H com PFIC4 e o doente I com PFIC5.

A doente G apresentou-se, aos treze anos, com a deteção incidental de esplenomegalia (19 cm de maior eixo), sem outra sintomatologia associada, que se veio a verificar ser resultante de um quadro de hipertensão portal. Posteriormente desenvolveu crises repetidas de hiperamoniemia com alteração do estado de consciência e ocorreu evolução para cirrose hepática. Apresentava hiperbilirrubinemia com valor de GGT normal. O estudo genético demonstrou mutação em heterozigotia composta do gene *ABCB4* (variantes c.959C>T e c.2682+1G>A). A mãe da doente tinha história de hepatites recorrentes de causa desconhecida e prurido durante a gravidez.

A doente H, com histórico de icterícia neonatal com necessidade de fototerapia, apresentou, com um mês e meio de vida, icterícia e hiperamoniemia. Evoluiu com icterícia flutuante, prurido de intensidade progressiva a partir dos cinco meses e atraso de crescimento a partir dos doze meses de idade. Ocorreu progressão para cirrose hepática e hipertensão portal. Desenvolveu ainda um CHC, traduzido na ecografia por imagem nodular, com confirmação histopatológica na peça de hepatectomia, mas sem elevação de AFP. Apresentava valores de bilirrubina total, bilirrubina conjugada e GGT normais. O estudo genético identificou uma

mutação em homozigotia no gene *TJP2* (variante c.1136T>A). Esta doente tem uma irmã com um quadro clínico semelhante, mas com fenótipo mais grave (colestase mais precoce, coagulopatia, dismorfismos faciais), ainda sem critério para transplante hepático.

O doente I apresentou, aos dois anos, icterícia e hepatoesplenomegalia. Evoluiu com instalação de cirrose hepática, hipertensão portal e coagulopatia refratária à vitamina K. Desenvolveu uma síndrome hepatopulmonar de rápida progressão com hipoxemia e necessidade de oxigenoterapia, motivando a realização de transplante hepático. Os valores de GGT eram elevados. Após o transplante, ocorreu disfunção crónica do enxerto, com posterior boa evolução. Destacam-se o desenvolvimento de sarcoma de Kaposi nodular generalizado e síndrome histofagocítico em relação com infeção a herpes vírus 8, quatro meses depois.

Discussão

As PFICs são doenças com apresentação habitual nos primeiros anos de vida.⁴ O início precoce é notório na amostra deste estudo, com oito dos nove casos com início de sintomatologia nos primeiros dois anos de vida, quatro dos quais durante o primeiro mês, com icterícia e prurido concomitantemente ou com o segundo surgindo em fases iniciais da doença. A doente com PFIC3 foi a exceção, com início mais tardio (treze anos), tendo sido o primeiro sinal a esplenomegalia, tradutora de um quadro de hipertensão portal, apresentação comum neste tipo de PFIC. Nestes doentes, nomeadamente quando a apresentação é mais tardia, está descrita a ocorrência inicial de manifestações de hipertensão portal, sendo o prurido e a icterícia inaparentes ou menos graves.^{1,4}

De notar a existência de consanguinidade nos pais de três doentes e a afeção de irmãos pela mesma doença (PFIC1 e PFIC4), expectável atendendo à etiologia genética destas patologias.

A evolução para cirrose hepática é frequente na PFIC.³ A ocorrência de manifestações de disfunção hepática e a evolução cirrótica foram comuns a todos os doentes. Evolução para hipertensão portal ocorreu em sete casos. Os doentes com PFIC1 apresentaram manifestações extra-hepáticas – diarreia crónica e atraso de crescimento –, típicas deste tipo.^{1,4} Desenvolveram ambos um quadro raro de osteoartropatia hipertrófica, uma condição que pode surgir associada a doença hepática.¹² Um doente com PFIC2 e outro com PFIC4, desenvolveram CHC em idade jovem, particularmente o doente com PFIC2 (aos dois anos). A ocorrência desta neoplasia está descrita nas PFIC2, PFIC3 e PFIC4.³ Numa proporção significativa dos casos o diagnóstico é acidental e foram descritos casos que, detetados tardiamente, resultaram na morte do doente.^{13,14} Trata-se de uma complicação infrequente, mas, pela sua gravidade, deve ser sempre considerada e ativamente rastreada. Um diagnóstico precoce é crucial e, como tal, programas de vigilância com início em idade precoce, com recurso a ecografia hepática e níveis séricos de AFP, devem ser implementados.²

A hiperbilirrubinémia é comum aos vários tipos de PFIC.⁹ Oito dos casos apresentavam valores elevados de bilirrubina. A doente com PFIC4 apresentava, nos dados disponíveis, valores normais. Os valores de GGT encontravam-se dentro dos parâmetros de normalidade em todos os casos, exceto o doente com PFIC5, aspeto que não está em consonância com a literatura. Os valores normais de GGT do caso de PFIC3 não estão, também, em acordo com a literatura que relata valores aumentados de GGT apenas neste tipo.^{3,7}

Os achados ecográficos são inespecíficos, demonstrando, nos casos considerados, hepatomegalia de textura e contornos variáveis (com exceção da doente com PFIC3). Esta modalidade de imagem tem importância nesta patologia pela sua utilidade no diagnóstico diferencial inicial,^{5,9} podendo traduzir aspetos de hepatopatia crónica e hipertensão portal. A ecografia é também essencial na deteção de nódulos sugestivos de malignidade, através de avaliações seriadas, nos tipos associados a neoplasia – PFIC2, PFIC3 e PFIC4.²

A análise histológica de biópsia hepática é um aliado importante ao diagnóstico de PFIC,¹ além de permitir a exclusão de outras causas de colestase na infância. As alterações encontradas são, em linhas gerais, condizentes com as descritas na literatura: colestase, inflamação escassa, reação ductular, fibrose e evolução cirrótica na PFIC1⁹; hepatite de células gigantes, transformação xantomatosa dos hepatócitos, colestase, fibrose e evolução cirrótica na PFIC2⁹; fibrose, evolução cirrótica e reação ductular na PFIC3⁹ (colestase não era aparente); fibrose, evolução cirrótica, transformação xantomatosa e colestase na PFIC4⁴ (não se detetaram células gigantes); e fibrose, evolução cirrótica e reação ductular na PFIC5⁴ (não era notória a presença de células gigantes). A demonstração, por técnicas de imuno-histoquímica da expressão diminuída de pCEA e CD10, BSEP e MDR3 pode constituir um auxílio precioso para o diagnóstico de PFIC1, PFIC2 e PFIC3, respetivamente.^{6,9} Os casos de PFIC1 deste estudo apresentaram marcação negativa para CD10 e um deles marcação ténue para pCEA. O doente com PFIC3 tinha marcação negativa para a proteína MDR3. Dois dos casos de PFIC2 apresentaram marcação positiva para BSEP, o que pode dever-se a marcação de uma proteína não funcional,² pelo que a sua interpretação não deve ser feita de forma isolada. Sabendo-se que pode ocorrer recorrência da doença no pós-transplante⁷, esta também constitui uma ferramenta útil no estudo da disfunção do enxerto após o transplante.

A transplantação hepática é o único tratamento potencialmente curativo.⁸ No entanto, não é desprovido de riscos.^{7,8} Os casos descritos não são exceção, relatando-se a ocorrência de várias complicações como perfuração intestinal, abscessos e coleções abdominais, hemoperitoneu, complicações vasculares (estenose de artéria hepática e de veia porta) e episódios de rejeição mediada por células T. Para além disso, a realização de transplante implica a utilização de fármacos imunossupressores permanentemente⁸ e, consequentemente, riscos associados de infeções como descrito nos casos relatados, nomeadamente, de infeções do trato respiratório, infeções víricas (citomegalovírus, vírus herpes 8), infeção por *Pneumocystis jirovecii*, bronquiectasias e bacteriémia, de neoplasias como o sarcoma de Kaposi nodular generalizado e ainda outras complicações associadas aos fármacos utilizados como a lesão renal aguda. De notar a presença, em cinco doentes,

de algum grau de disfunção do enxerto, em dois dos casos em provável relação com má adesão terapêutica, três deles com boa evolução posterior, bem como a necessidade, num dos casos, de retransplante hepático por falência do primeiro enxerto por colangiopatia isquêmica.

Foi notória a melhoria clínica na maioria dos doentes, de especial relevância tendo em conta o impacto negativo desta doença na qualidade de vida, e a morbimortalidade associada.¹⁰ No entanto, em ambos os casos de PFIC1, ocorreu resolução do prurido, mas os sintomas extra-hepáticos mantiveram-se, particularmente a diarreia crônica, o atraso de crescimento e as manifestações articulares num dos doentes. O gene *ATP8B1* é expresso em locais extra-hepáticos, como o intestino, rim e pâncreas, o que pode justificar as manifestações extra-hepáticas desta doença e a ausência de resolução, ou mesmo o agravamento após o transplante hepático, bem como a ocorrência de esteatose hepática do enxerto.^{7,15} Os dois doentes com PFIC1 desenvolveram esteatose significativa do enxerto. Ocorreu melhoria da esteatose, em ambos, após realização de derivação biliar externa, uma opção terapêutica nestes casos.¹⁵ Estes procedimentos cirúrgicos podem também ser utilizados em doentes com PFIC1 ou PFIC2 refratário ao tratamento médico, antes de existir indicação para a transplantação.^{2,7} A complexidade destes casos envolve decisões multidisciplinares e as indicações e o *timing* para a realização de derivação biliar e transplante hepático são discutíveis.

Não ocorreu, no período em estudo (tempo de seguimento mínimo de dois anos e cinco meses e máximo de vinte anos e nove meses), recorrência da doença em nenhum dos doentes, nomeadamente nos doentes com PFIC2, na qual está documentada em até 8% dos casos.⁷ Não ocorreu também recidiva dos CHC detetados.

Conclusão

As PFICs, ainda que entidades raras, devem ser consideradas na abordagem ao doente pediátrico com icterícia colestática. O diagnóstico requer integração de dados clínicos, analíticos, imagiológicos, histológicos e genéticos, exigindo um esforço multidisciplinar.

A biópsia hepática é um auxílio importante para o diagnóstico. Técnicas de imuno-histoquímica deverão ser empregues sempre que possível, ainda que, dado a possibilidade de marcação de proteínas não funcionais, nomeadamente na PFIC2, estas não devam ser interpretadas isoladamente. Sendo que pode ocorrer, na PFIC2, recorrência da doença após o transplante, a utilização destas técnicas é também útil no estudo de disfunção de enxerto após o transplante.

O possível desenvolvimento de neoplasias malignas, nomeadamente CHC, nos doentes com PFIC2, PFIC3 e PFIC4 deve motivar uma vigilância analítica e imagiológica seriada dos mesmos.

Vários tratamentos podem ser oferecidos, no entanto a transplantação hepática constitui o único com potencial curativo, sendo ultimamente necessário nos casos de doença hepática terminal, neoplasia ou na ausência de resposta às restantes opções terapêuticas. Ainda que associado a uma melhoria clínica acentuada numa grande proporção de casos, e podendo constituir a única opção para estes doentes, o transplante hepático pode não resolver as manifestações extra-hepáticas ou até agravá-las (PFIC1), pode haver recorrência da doença (PFIC2) ou esteatose hepática (PFIC1), além de que não é um procedimento desprovido de complicações a curto ou longo-prazo, e, requerendo imunossupressão vitalícia, tem inerentemente riscos de infeção e neoplasias secundárias.

Agradecimentos

Agradeço à orientadora, Dr^a. Susana Nobre, ao orientador, Dr. Ricardo Martins e ao Dr. Rui Caetano de Oliveira por toda a ajuda, aos diretores de serviço, Dr^a. Maria Augusta Cipriano e Dr.^a Isabel Gonçalves por terem possibilitado o desenvolvimento deste trabalho nas respetivas unidades, à família e amigos por todo o apoio e aos nove doentes, que aceitaram participar neste estudo.

Referências bibliográficas

1. Davit-Spraul A, Gonzales E, Baussan C, Jacquemin E. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009 Jan 8;4:1.
2. Srivastava A. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Clin Exp Hepatol*. 2014 Mar;4(1):25-36.
3. Reichert MC, Hall RA, Krawczyk M, Lammert F. Genetic determinants of cholangiopathies: Molecular and systems genetics. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018 Apr;1864(4 Pt B):1484-1490.
4. Henkel SA, Squires JH, Ayers M, Ganoza A, Mckiernan P, Squires JE. Expanding etiology of progressive familial intrahepatic cholestasis. *World J Hepatol*. 2019 May 27;11(5):450-463.
5. Jacquemin E. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2012 Sep;36 Suppl 1:S26-35.
6. Bull LN, Thompson RJ. Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis. *Clin Liver Dis*. 2018 Nov;22(4):657-669.
7. Gunaydin M, Bozkurter Cil AT. Progressive familial intrahepatic cholestasis: diagnosis, management, and treatment. *Hepat Med*. 2018 Sep 10;10:95-104.
8. Mehl A, Bohorquez H, Serrano MS, Galliano G, Reichman TW. Liver transplantation and the management of progressive familial intrahepatic cholestasis in children. *World J Transplant*. 2016 Jun 24;6(2):278-90.
9. Gaur K, Sakhuja P. Progressive familial intrahepatic cholestasis: A comprehensive review of a challenging liver disease. *Indian J Pathol Microbiol*. 2017 Jan-Mar;60(1):2-7.
10. Baker A, Kerkar N, Todorova L, Kamath BM, Houwen RHJ. Systematic review of progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2019 Feb;43(1):20-36.
11. Sambrotta M, Strautnieks S, Papouli E, Rushton P, Clark BE, Parry DA, et al. Mutations in TJP2 cause progressive cholestatic liver disease. *Nat Genet*. 2014 Apr;46(4):326-8.
12. Pitt P, Mowat A, Williams R, Hamilton E. Hepatic hypertrophic osteoarthropathy and liver transplantation. *Ann Rheum Dis*. 1994 May;53(5):338-40.
13. Knisely AS, Strautnieks SS, Meier Y, Stieger B, Byrne JA, Portmann BC, et al. Hepatocellular carcinoma in ten children under five years of age with bile salt export pump deficiency. *Hepatology*. 2006 Aug;44(2):478-86.
14. Alsalloom A. Hepatocellular Carcinoma in a Boy with Progressive familial Intrahepatic Cholestasis Type II: Challenging Identification: Case report. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2013 Jun;7(2):252-5.

15. Miyagawa-Hayashino A, Egawa H, Yorifuji T, Hasegawa M, Haga H, Tsuruyama T, et al. Allograft steatohepatitis in progressive familial intrahepatic cholestasis type 1 after living donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009 Jun;15(6):610-8.