

A

•

2000

BIBLIOTECA CENTRAL

BIBLIOTECA CENTRAL

À minha esposa Rita

e às filhas Rebeca, Sabrina e Karina

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Bernardo Beiguelman, pelas valiosas sugestões na elaboração do texto e pelo auxílio na realização das análises estatística e familiar.

À Doutora Mirian Aparecida Silva Trevisan, pela colaboração no estudo das biópsias hepáticas ao microscópio eletrônico.

Aos Doutores João Antonio Vozza, Maurício da Costa Bueno, Michele Tondo, Antonio Carlos Rocha e Adriana Sevá Pereira, pela colaboração na realização dos exames laboratoriais.

Ao Sr. Hilton Silveira Pinto e Professor Antonio Celso Novaes de Magalhães, pela colaboração na análise estatística.

Ao Professor Dr. Silvio dos Santos Carvalhal, - amigo e mestre, pela orientação científica e profissional.

À srta. Clarinda Frau, pelo cuidadoso trabalho da tilográfico.

Ao Professor Dr. Luis Sérgio Leonardi, pela revisão final do texto.

ÍNDICE

	Página
I - INTRODUÇÃO	01
II - LITERATURA	05
II-1- A síndrome de Gilbert e sua sinonímia.	05
II-2- Outras formas de icterícia não conjugada, não hemolítica	09
II-3- Quadro clínico e exames complementares	12
II-4- Hereditariedade da síndrome de Gilbert	13
II-5- Fisiopatologia da síndrome de Gilbert.	15
II-6- Teste de indução enzimática.....	18
II-7- Teste de restrição calórica	20
III - CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	29
III-1- Prova de restrição calórica	40
III-2- Análise familiar.....	40
III-3- Influência do glucagon nos níveis de bilirrubinemia	43
III-4- Influência do glucagon nos níveis de glicemia	43
III-5- Teste de indução enzimática	44
III-6- Estudo das biópsias hepáticas ao microscópio eletrônico.....	44

IV	-	RESULTADOS	46
		IV-1- Prova de restrição calórica	46
		IV-2- Análise familiar	58
		IV-3- Influência do glucagon nos níveis de bi	
		lirrubinemia	61
		IV-4- Influência do glucagon nos níveis de -	
		glicemia	63
		IV-5- Teste de indução enzimática	69
		IV-6- Estudo das biópsias hepáticas ao micros	
		cópio eletrônico.....	71
V	-	DISCUSSÃO	77
VI	-	CONCLUSÕES	94
VII	-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
		APÊNDICE	108

I - INTRODUÇÃO

A síndrome de Gilbert pode ser definida, de um modo sumário, como uma hiperbilirrubinemia não conjugada, não hemolítica, familiar, manifestada por pacientes que não apresentam alterações clínicas evidentes ao exame físico, a não ser discreta icterícia conjuntival, nem alterações no exame histológico do fígado e nas provas de função hepática. A hiperbilirrubinemia parece ser ocasionada por defeitos de captação e de conjugação da bilirrubina, sendo, o último, decorrente da deficiência parcial da atividade da enzima glicuronil-transferase hepática.

A recorrência familiar dessa síndrome, bem como a sua prevalência na população são de difícil determinação, visto que a hiperbilirrubinemia é, geralmente, intermitente.

A síndrome de Gilbert é, às vezes, confundida com hepatite a virus, especialmente quando os

pacientes apresentam alguma infecção, ocasião em que pode haver agravamento da icterícia e aparecimento de manifestações clínicas, tais como febre, indisposição, náuseas ou dores abdominais. Outras vezes, quando não são realizados exames adequados de função hepática e biópsia de fígado, ela pode ser confundida com hepatite crônica, já que, nessa condição, a hiperbilirrubinemia pode persistir durante meses ou anos.

A possibilidade de se estabelecer o diagnóstico diferencial com outras causas de icterícia crônica mediante a prova de restrição calórica, descrita por FELSHER et al. em 1970, estimulou vários pesquisadores a estudar as alterações do metabolismo da bilirrubina relacionadas a uma dieta carente. Entretanto, as opiniões dos autores que estudaram essa prova são, ainda, contraditórias.

Alguns, como OWENS & SHERLOCK - (1973), afirmam que é possível estabelecer o diagnóstico definitivo de síndrome de Gilbert apenas com os dados clínicos e laboratoriais, associados aos resultados da prova de restrição calórica, não havendo necessidade de submeter o paciente à biópsia hepática. Outros, como DAVIDSON et al. (1975), concluem que essa prova não tem utilidade no diagnóstico de síndrome de Gilbert, visto que os resultados por eles obtidos não discriminam os pacientes com essa afecção, dos indivíduos normais. Além disso, apontam dificuldades técnicas na realização da prova, pois, segundo eles, tal prova requer internação em Hospital durante, um mínimo de 48 horas, com supervisão e controle da dieta hipocalórica.

FELSHER et al. (1970) assinalaram que, com a utilização da prova de restrição calórica, é possível estabelecer o diagnóstico de síndrome de Gilbert, mesmo quando, em condições habituais, isto é, com dieta normal, os indivíduos não apresentam hiperbilirrubinemia.

Essa observação parece ser de grande utilidade para o estudo do mecanismo de transmissão hereditária dessa síndrome, bem como pela possibilidade de diagnosticar a síndrome de Gilbert em parentes assintomáticos.

O presente trabalho tem como objetivo precípuo por à prova o valor diagnóstico do teste de restrição calórica e o esclarecimento do mecanismo de transmissão hereditária dessa síndrome.

Outro objetivo foi o de contribuir para o melhor conhecimento da fisiopatologia da hiperbilirrubinemia associada a essa síndrome, especialmente a que ocorre após curtos períodos de restrição calórica.

Por outro lado, uma das hipóteses aventadas para explicar o mecanismo da alteração dos níveis de bilirrubina plasmática, conseqüente à restrição calórica, está relacionada ao estímulo da enzima hemo-oxigenase hepática pelo glucagon, o qual tem sua concentração aumentada em resposta a curtos períodos de jejum (BAK KEN et al., 1972). Desse modo, a hemo-oxigenase hepática, provocando aumento do catabolismo do heme, poderia ser responsável pela elevação da bilirrubina não conjugada no sangue.

Em condições de jejum ou de restri

ção calórica, o ácido glicurônico, necessário para a conjugação da bilirrubina, deve ser fornecido, em última instância, pelo glicogênio hepático. Desse modo, uma alteração no metabolismo dos hidratos de carbono, envolvendo a via do ácido glicurônico, poderia contribuir para diminuir a velocidade da reação de conjugação da bilirrubina, já comprometida pela deficiência de glicuronil-transferase, tendo como consequência o agravamento da hiperbilirrubinemia.

Com a finalidade de investigar essas hipóteses, foi estudado o efeito do hormônio glucagon no metabolismo da bilirrubina e na glicogenólise hepática.

Finalmente, tendo em vista as discrepâncias na literatura médica relacionadas às alterações ultraestruturais do fígado dos pacientes com síndrome de Gilbert, o autor estudou a microscopia eletrônica, as biópsias hepáticas realizadas em alguns dos pacientes apresentados neste trabalho.

II - LITERATURA

II.1. A síndrome de Gilbert e sua sinonímia

Em 1900, GILBERT et al. descreveram uma série de afecções biliares com recorrência familiar que, a seu ver, constituíam um grupo nosológico, o qual poderia ser denominado de icterícia acolúrica simples. Em publicação posterior, GILBERT & LEREBOULET (1901) afirmaram que os elementos essenciais dessa síndrome eram a colemia e o caráter familiar e substituíram a antiga denominação por colemia simples familiar. Sob tal designação enquadraram um grupo aparentemente heterogêneo de pacientes e descreveram dois grupos de sintomatologias, que poderiam ser interpretados como primárias e secundárias. Na sintomatologia primária, o único sinal constante seria o aumento do pigmento biliar no soro enquanto que a secundária incluiria formas dispépticas, pruriginosas, neurastênicas, etc.

Em 1907, GILBERT et al. revendo ex

tensa casuística sobre colemia simples familiar e outras formas de colemia por eles próprios estudadas anteriormente, classificaram os pacientes com colemia congênita em três tipos, que correspondiam a três graus de um mesmo estado. O primeiro, colemia fisiológica, era caracterizado por ausência de icterícia cutâneo-mucosa e por quantidades muito pequenas de bilirrubina no soro. O segundo, colemia simples familiar, era caracterizado por aumento discreto da bilirrubina no soro e pela ausência de bilirrubinúria e de hêpato-esplenomegalia. Os pacientes apresentavam mínimas alterações na cor da pele e tinham queixas inespecíficas, descritas pelos autores como "temperamento bilioso". O terceiro tipo, denominado icterícia crônica simples, caracterizava-se por hiperbilirrubinemia mais intensa, icterícia cutâneo-mucosa nítida e, com frequência, hêpato-esplenomegalia. Nesses últimos dois graus eram incluídos pacientes com afecções hêpato-biliares variadas, cuja patogenia era discutida superficialmente, sendo aventadas hipóteses desde angiolite infecciosa ascendente até icterícia por hemólise.

No início deste século, portanto, não havia opinião unânime entre os pesquisadores com relação à caracterização e individualização das colemias familiares - descritas por GILBERT e colaboradores e das icterícias hemolíticas. Os autores se dividiam, geralmente, em dois grupos com opiniões opostas. De um lado havia os unicistas, que consideravam a icterícia hemolítica e a colemia familiar como duas modalidades de uma síndrome única. De outro lado estavam os dualistas, que consideravam essas duas afecções como entidades mórbidas distintas. Entre os unicistas figuravam GILBERT e seus discípulos, alguns dos quais com grande pres

tígio na época. Entre os dualistas, pontificava CHAUFFARD, o qual, em 1907 afirmava ter observado casos indiscutíveis de colemia familiar em pacientes sem qualquer evidência de hemólise. De menor representação era o grupo de autores liderados por HIGMANS VAN DEN BERGH, que consideravam essas duas afecções como uma variante de uma única doença, apesar de não excluírem a hipótese de elas constituírem dois estados essencialmente diferentes (TECON, 1938).

Foi MEULENGRACHT, em 1919, o primeiro a caracterizar melhor a afecção que hoje leva o nome de síndrome de Gilbert, ao descrever alguns pacientes com icterícia discreta, crônica e intermitente. Esse autor, entretanto, ao notar a ocorrência dessa condição em adultos jovens resolveu denominá-la de icterícia intermitente juvenil ou subicterícia crônica intermitente juvenil. Aqui, aliás, é interessante assinalar que os 35 pacientes de MEULENGRACHT foram reexaminados após vários anos de evolução (MEULENGRACHT, 1947). Essa reavaliação levou MEULENGRACHT a estabelecer que o prognóstico da afecção em discussão - era bom, com a icterícia desaparecendo, geralmente, em torno dos 40 anos de idade. Apenas alguns dos pacientes estudados por esse autor tinham história familiar, mas os membros das famílias não foram convenientemente examinados, - com verificação dos níveis de bilirrubinemia.

Em 1935, ROZENDAAL et al. revendo as observações clínicas de 214 pacientes com hiperbilirrubinemia indireta por eles estudados, encontraram alguns casos similares aos descritos por GILBERT e colaboradores (1907) e denominaram essa afecção de disfunção hepática constitucional. Apesar da inclusão de casos mal caracterizados en-

tre os pacientes descritos por ROZENDAAL e colaboradores, essa denominação foi preferida por alguns autores em publicações mais recentes (FOULK et al., 1959; BERK et al., 1970; FROMKE & MILLER, 1972; BERK et al., 1972).

TECON (1938) publicou estudos realizados em 5 pacientes, pertencentes a duas famílias, com hiperbilirrubinemia discreta, de reação indireta, sem evidências de hemólise, denominando esta afecção de bilirrubinemia constitucional não hemolítica.

DAMESHEK & SINGER (1941) descreveram duas famílias com hiperbilirrubinemia do tipo indireto, sem sinais de hemólise. As provas de função hepática não evidenciaram lesão parenquimatosa do fígado, com exceção do teste de excreção da bilirrubina, o qual mostrou distúrbio na permeabilidade das células hepáticas. Com base no estudo dessas famílias aventaram a hipótese de que a moléstia fosse transmitida de modo dominante simples e denominaram-na de icterícia familiar não hemolítica.

KRARUP & ROHOLM, em 1941, foram os primeiros a descrever os resultados de biópsias hepáticas em 5 pacientes com icterícia intermitente juvenil, verificando que o fígado era histologicamente normal em 3 casos, apresentando discreta infiltração gordurosa nos outros dois.

ALWALL (1946) estudou 15 pacientes com icterícia por elevação da bilirrubina indireta, sem sinais de hemólise ou de distúrbios funcionais do fígado. Demonstrou presença de hiperbilirrubinemia em vários dos familiares consanguíneos estudados e propôs que essa doença fosse denominada bilirrubinemia não hemolítica hereditária. Confir

mou os trabalhos de KRARUP & ROHOLM descrevendo histologia hepática normal e contribuiu para melhor esclarecimento em relação ao quadro clínico e critérios diagnósticos.

Essa síndrome foi também denominada hiperbilirrubinemia não conjugada idiopática (POWELL et al., 1967) e hiperbilirrubinemia não conjugada crônica, não hemolítica (ARIAS et al., 1969).

SCHMID (1972) assinalou que qualquer desses termos seria melhor que síndrome de Gilbert, preferindo, por sua vez, denominar tal tipo de icterícia de hiperbilirrubinemia não conjugada crônica de pequeno grau.

FELSHER & CARPIO (1975) comentaram que, embora essa síndrome possa ser causada por mais de um fator, um bom acervo de trabalhos sugere que, em adição à discreta hiperbilirrubinemia não conjugada, a anormalidade bioquímica mais constante é a redução da enzima bilirrubina-uridina-difosfato-glicuronil transferase hepática (UDPG-T ou, simplesmente, glicuronil-transferase). Sugeriram que o melhor termo para descrever essa síndrome seria disfunção parcial de glicuronil-transferase.

A designação síndrome de Gilbert ficou, entretanto, consagrada pelo uso, sendo essa a denominação mais comum em nosso meio, não só em trabalhos de investigação, como, também, em discussão de casos clínicos (PONTES et al., 1973).

II.2. Outras formas de icterícia não conjugada, não hemolítica.

SCHMID (1972) assinalou que, além da icterícia que ocorre no período neonatal, um amplo espectro

de condições parece estar associado com hiperbilirrubinemia não conjugada, sem evidências de hemólise. Esse espectro teria em um dos extremos a síndrome de Gilbert, com icterícia discreta e, no outro, uma síndrome rara, frequentemente fatal, descrita por CRIGLER & NAJJAR em 1952. Entre esses dois extremos, já foram identificados ocasionais pacientes - com hiperbilirrubinemia não conjugada de grau intermediário, descritos inicialmente por ARIAS em 1962. (ARIAS et al., - 1969).

É difícil separar essas formas de hiperbilirrubinemia em síndromes claramente definidas ou entidades genéticas e fisiopatológicas distintas, tendo em vista a falta de total esclarecimento do mecanismo da captação da bilirrubina, a limitação dos métodos de dosagem da glicuronil transferase e a pobre correlação entre a deficiência de conjugação e o grau de hiperbilirrubinemia.

SHERLOCK (1975) também admite que há muitos casos intermediários entre essas síndromes de hiperbilirrubinemia familiar não hemolítica, o que tem dificultado, inclusive, a definição do mecanismo de transmissão hereditária.

Os trabalhos de ARIAS (1962 e 1969) demonstraram que os pacientes com hiperbilirrubinemia crônica não conjugada e não hemolítica, com deficiência de glicuronil transferase hepática, podem ser classificados em dois grupos, que parecem ser fenotipicamente homogêneos, mas genotipicamente heterogêneos.

Assim, os pacientes do grupo I têm hiperbilirrubinemia mais intensa, geralmente superior a 20 mg/100 ml e, com frequência, desenvolvem kernicterus. A hiperbilirrubinemia não responde à administração de fenobarbi

tal e há ausência de bilirrubina na bile que é excretada para o duodeno. Esse grupo corresponde à síndrome descrita - por CRIGLER & NAJJAR em 1952, com deficiência total de glicuronil transferase hepática, sendo herdada de modo autossômico recessivo.

Os pacientes do Grupo II têm hiperbilirrubinemia menos intensa e não desenvolvem kernicterus. O defeito parece ser transmitido hereditariamente de modo autossômico dominante e a icterícia responde dramaticamente à administração de fenobarbital.

Os pacientes desse grupo, conhecido atualmente como síndrome de Crigler-Najjar tipo II, parecem ter patogênese similar aos pacientes com síndrome de Gilbert, ambos com deficiência parcial de glicuronil-transferase e diferindo apenas na intensidade da icterícia (GOLLAN et al., 1975).

FROMKE & MILLER (1972) e HUNTER et al. (1973) diferenciam essas duas síndromes apenas pelos níveis de bilirrubinemia. Segundo eles, na síndrome de Gilbert os níveis de bilirrubina plasmática são menores que 5 mg/100 ml e na síndrome de Crigler-Najjar tipo II esses níveis estão entre 5 e 20 mg/100 ml.

Hiperbilirrubinemia não conjugada e não hemolítica foi também descrita como manifestação tardia de hepatite a virus (HULT, 1950; ARIAS, 1962; KALK & WILD-HIRT, 1955). Alguns desses casos podem representar simplesmente hepatite a virus que, coincidentemente, ocorreu em indivíduos com síndrome de Gilbert (POWELL et al., 1967; - SCHMID, 1972).

Outras causas de hiperbilirrubinemia não conjugada na ausência de hemólise incluem a síndrome des

crita por ISRAELS et al. (1959) e a hiperbilirrubinemia que pode ocorrer após derivação porto-cava (SILVA et al., 1960). Icterícia desse tipo pode aparecer, também, após administração de drogas, tais como a rifamicina (ACOCELLA, et al., 1965), a novobocina (COX et al., 1959) e após administração de corantes usados para colecistografia (BOLT et al., 1961).

II.3. Quadro clínico e exames complementares

Na síndrome de Gilbert a icterícia geralmente se manifesta na puberdade ou na idade adulta. A icterícia é, às vezes, tão discreta que os pacientes podem desconhecer sua moléstia até que a hiperbilirrubinemia seja descoberta em exame laboratorial (FOULK et al., 1959). As queixas dos pacientes, tais como fadiga, astenia e distúrbios digestivos descritos desde os trabalhos iniciais, provavelmente não são dependentes da hiperbilirrubinemia, mas representem sintomas relacionados à ansiedade que geralmente aparece quando o paciente toma conhecimento de que está icterico (SCHMID, 1972).

A bilirrubinemia frequentemente apresenta considerável flutuação diária. Entre os 58 pacientes descritos por FOULK et al. (1959), cuja evolução foi acompanhada por tempo prolongado, 13 tinham bilirrubinemia menor ou igual a 1 mg/100 ml em alguma fase do período de observação. Praticamente toda a bilirrubina do soro é do tipo não conjugado, não sendo detectável bilirrubina conjugada por método de análise em cromatografia em papel (SCHMID, 1972). Há ausência de bilirrubinú-

ria e de h pato-esplenomegalia. As provas de função hepática são normais, com exceção de ocasional aumento da retenção de bromo-sulfaleína (ROSENDAAL et al., 1935). A eliminação fecal de urobilinog  nio   normal ou discretamente diminuída (ALWALL, 1946; ARIAS, 1962).

O exame histológico do fígado não revela alterações significativas   microscopia  tica (FOULK et al., 1959) e, as alterações descritas nos estudos com microscopia eletrônica, não são, ainda, conclusivas.

Alguns autores descreveram lesão ou perda das microvilosidades do polo sinusoidal do hepatócito, procurando explicar, desse modo, o aumento da bilirrubina não conjugada no sangue (SIMON & VARONIER, 1963; MINIO et al., 1966; MAGNENAT & MINIO PALUELLO, 1967; PONTES et al., 1973). Outros descreveram aumento do retículo endoplasmático liso, local onde deve se realizar a conjug  o da bilirrubina (SCHAFF et al., 1969; Mc GEE et al., 1975).

Um dos achados mais frequentes   microscopia eletrônica tem sido as mitocôndrias alteradas, às vezes gigantes, contendo estruturas fibrilares na sua matriz, chamadas inclusões cristalinas ou para-cristalinas (MINIO, et al., 1966; MAGNENAT & MINIO PALUELLO, 1967; - BROUSSE-SLABODSKY et al., 1974).

  também descrito o aumento da lipofusцина pericanalicular no hepatócito dos pacientes com síndrome de Gilbert (MINIO et al., 1966; MAGNENAT & MINIO PALUELLO, 1967; BARTH et al., 1971).

II.4. Hereditariedade da síndrome de Gilbert

Alguns trabalhos têm assinalado recor

rência familiar da síndrome de Gilbert, mas nessas investigações familiares o número de casos afetados é difícil de ser determinado, porque a elevação da bilirrubina plasmática pode ser mínima e inconstante (SHERLOCK, 1975). Apesar do caráter familiar ter sido aventado desde as primeiras publicações, as conclusões desses trabalhos não se baseiam em dados e em análises consistentes.

O primeiro trabalho em que se estudou o mecanismo de transmissão hereditária da síndrome de Gilbert com maior cuidado foi o publicado por ALWALL et al., em 1946. Esses autores, estudando 15 pacientes com síndrome de Gilbert, verificaram que 55% dos irmãos e 26% dos - genitores tinham níveis de bilirrubina acima de 1,3 mg/100 ml e concluíram que essa síndrome era um caráter mendeliano dominante, isto é, tinha transmissão monogênica - dominante autossômica.

BAROODY & SHUGART (1956) descreveram uma família na qual a mãe e 3 filhos apresentavam síndrome de Gilbert o que fala a favor da hipótese de ALWALL e colaboradores.

FOULK et al. (1959) mostraram, entre tanto, que entre os 59 casos de síndrome de Gilbert por eles revistos na Clínica Mayo, apenas 8 tinham história familiar.

POWELL et al. (1967), investigando - os parentes consanguíneos de 42 pacientes com síndrome de Gilbert, encontraram hiperbilirrubinemia não conjugada em 10 dentre 62 genitores sadios (16,1%) e em 14 dentre 51 irmãos sadios examinados (27,5%). Concluíram, com base

nesses resultados, que a síndrome de Gilbert é, provavelmente, herdada como um caráter autossômico dominante.

II.5. Fisiopatologia da síndrome de Gilbert

A hiperbilirrubinemia que ocorre na síndrome de Gilbert é, geralmente, atribuída a alterações na captação hepática da bilirrubina e a um defeito parcial na conjugação da bilirrubina (OWENS & SHERLOCK, 1973).

O defeito na captação hepática da bilirrubina tem sido evidenciado indiretamente, com estudos de depuração de bilirrubina. No teste de tolerância à bilirrubina exógena, introduzido por BERGMANN & EILBOTT, em 1927 (citado por FROMKE & MILLER, 1972), os resultados são expressos em porcentagem de retenção de bilirrubina não conjugada no soro, 3 a 4 horas após administração de dose padronizada, sendo que o valor normal da retenção é menor que 10% da bilirrubina injetada. Utilizando esse teste, LJUNG (1948) observou que os pacientes com icterícia discreta do tipo indireto, não hemolítica, sem alterações nas provas de função hepática ou na histologia hepática, tinham retenção maior que 40%, enquanto que, os pacientes com doença hemolítica tinham valores normais. Esses dados sugerem que o teste de tolerância a bilirrubina pode diferenciar pacientes com síndrome de Gilbert daqueles com icterícia hemolítica.

BILLING et al. (1964) fizeram análise matemática das curvas de desaparecimento de grandes doses de bilirrubina não conjugada (2mg/kg de peso) injetada na veia, em 7 indivíduos normais e em 22 pacientes com

icterícia de várias etiologias. Na síndrome de Gilbert a captação da bilirrubina pela célula hepática foi constantemente reduzida, com retenção de 22 a 50% em 4 horas, com parada com os valores normais, que são menores que 11%. É importante assinalar que em 4 dos 8 pacientes com síndrome de Gilbert estudados nesse trabalho, houve também redução na fase de conjugação da bilirrubina.

BERK et al. (1970) estudaram a depuração de bilirrubina não conjugada, marcada com isótopo radioativo, em 11 pacientes com síndrome de Gilbert. Em tais pacientes verificaram maior retenção do isótopo no plasma, com redução na depuração de bilirrubina de, aproximadamente, um terço do valor normal, independentemente da presença ou não de hemólise associada. A análise multicompartamental desses dados parece sugerir que a reduzida depuração de bilirrubina é resultado de defeito de captação e de conjugação desse metabólito.

A natureza do defeito de captação ainda não está esclarecida (GOLLAN et al., 1975).

BLOOMER, et al. (1973) e KENWRIGHT & LEVI (1973) aventaram a hipótese de que a captação da bilirrubina poderia estar prejudicada em consequência de alteração na membrana do hepatócito. Outra hipótese para explicar o defeito na captação seria a de alteração ou deficiência da proteína "Y", que é responsável pelo transporte de ânions orgânicos do plasma para o fígado (LEVI et al., 1970).

O desenvolvimento de técnicas que - permitem a dosagem da atividade de glucuronil-transferase em biópsia hepática possibilitou comprovar o defeito de

conjugação da bilirrubina, existente na síndrome de Gilbert.

BLACK & BILLING (1969) demonstraram níveis de UDPG-T diminuídos nas biópsias hepáticas de 11 pacientes com síndrome de Gilbert, quando comparados com os níveis encontrados nas biópsias de indivíduos normais e de pacientes com colestase e cirrose hepática.

FELSHER et al. (1973) determinaram a atividade da UDPG-T em biópsias hepáticas de 16 pacientes com síndrome de Gilbert, encontrando valores uniformemente reduzidos, sem relação com as concentrações de bilirrubina plasmática. BELLET & RAYNAUD (1974) encontraram, em 5 pacientes com síndrome de Gilbert, atividades da UDPG-T aproximadamente 5 vezes menores que os níveis normais.

A participação da hemólise na gênese da hiperbilirrubinemia dos pacientes com síndrome de Gilbert tem sido muito discutida na literatura médica. Apesar de os trabalhos iniciais sempre excluírem, ao analisar essa síndrome, os pacientes que apresentam hemólise discreta (FOULK et al., 1959) ou hemólise evidente (SHERLOCK, 1968), alguns autores acreditam que a síndrome de Gilbert ocasionalmente pode estar associada à doença hemolítica (BERK et al., 1972).

FOULK et al. (1959) foram os primeiros a descrever hemólise "oculta" em 4 entre 8 pacientes com síndrome de Gilbert. PITCHER & WILLIAMS (1963) assinalaram essa associação em 2 entre 5 pacientes estudados. Evidências de hemólise foram também demonstradas em um dos 4 pacientes descritos por BILLING et al. (1964), em

8 dentre 19 pacientes por POWELL et al. (1967) e em 2 dentre 8 pacientes com síndrome de Gilbert por FROMKE & MILLER (1972).

BARRET et al. (1968) demonstraram, - mediante provas de depuração de bilirrubina marcada com carbono radioativo, aumento da produção de bilirrubina em todos os 3 pacientes com síndrome de Gilbert por eles estudados. Por outro lado, BERK et al. (1970), baseados em estudos da cinética da bilirrubina marcada, mostraram que alguns pacientes com hemólise apresentavam defeitos na captação e conjugação indistinguíveis dos apresentados por pacientes com síndrome de Gilbert apenas. Assinalaram que a hemólise raramente produz icterícia intensa, a menos - que também esteja presente um defeito na excreção da bilirrubina.

PANICH et al. (1972) descreveram em 2 pacientes com síndrome de Gilbert, deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6PD) nos eritrócitos. Os estudos hematológicos e de sobrevivência das hemácias feitos nesses pacientes mostraram que a hiperbilirrubinemia não era devida a hemólise.

BERK et al. (1972) verificaram que 50% de seus 23 casos de síndrome de Gilbert apresentaram certo grau de hemólise associada e concluíram que a presença de hemólise não afasta o diagnóstico de síndrome de Gilbert, podendo essas duas afecções coexistir em um mesmo paciente.

II.6. Teste de indução enzimática

A sistemática redução dos níveis de

bilirrubinemia quando os pacientes com síndrome de Gilbert são medicados com fenobarbital é por si só um teste clínico de utilidade para a caracterização dessa síndrome.

BLACK & SHERLOCK (1970) demonstraram a rápida queda dos níveis de bilirrubina não conjugada em 13 pacientes com síndrome de Gilbert tratados com fenobarbital. A administração desse medicamento ocasionou elevação da atividade da UDPG-T em apenas um dos 3 pacientes em que esta enzima foi dosada seriadamente. Nenhum dos pacientes estudados, entretanto, alcançou níveis normais de atividade da enzima após o tratamento.

FELSHER et al. (1973) verificaram que o fenobarbital induziu aumento da atividade da UDPG-T duas vezes maior que o valor normal em pacientes com hepatite A virus, mas esse medicamento não ocasionou alteração significativa dessa enzima em pacientes com síndrome de Gilbert.

Apesar de todas estas investigações, não se sabe ainda como o fenobarbital diminui a concentração de bilirrubina em pacientes com síndrome de Gilbert. A dose de fenobarbital administrada pelos autores que estudaram seu efeito, seria suficiente para ativação de enzimas-microsossomais (REMMER, 1970). Do mesmo modo, as observações mostrando que a terapêutica com essa droga aumenta o retículo endoplasmático liso dos hepatócitos, suportam a hipótese de indução da enzima glicuronil-transferase (GOLLAN, et al., 1975).

PILCHER et al. (1972) assinalaram, entretanto, que a UDPG-T é menos afetada por drogas indutoras do que as outras enzimas, e sugeriram que o efeito do fenobarbital no fluxo canalicular da bile seria mais impor-

tante que no aumento das enzimas microssomais do fígado.

O efeito do fenobarbital pode não residir no aumento da atividade da UDPG-T, mas sim aumentando a proteína transportadora "Y" do hepatócito (LEVI et al., 1968; REYES et al., 1969). A favor dessa teoria está a verificação de que a administração de fenobarbital a ratos resulta em níveis elevados da proteína "Y" e aceleração da captação de bromo-sulfaleína pelo fígado (ARIAS, 1972).

Outros indutores enzimáticos, tais como, a glutemida (BLACK & SHERLOCK, 1970) e o "dicophane" (THOMPSON et al., 1969) também reduzem a bilirrubinemia de pacientes com síndrome de Gilbert.

II.7. Teste de restrição calórica

Em 1906 GILBERT & HERSCHER demonstraram que a concentração da bilirrubina sérica em 3 adultos normais aumentava após jejum noturno e diminuía com as refeições, no decorrer do dia. Estudos posteriores - comprovaram que a bilirrubinemia aumenta discretamente, mas permanece dentro dos limites normais após período de jejum (MEYER & KNUPFER, 1922; FELLINGER & PFLEGER, 1935; STENGLE & SCHADE, 1957). A hipoglicemia em recém nascidos parece agravar a hiperbilirrubinemia transitória do período neonatal (SMALLPEICE & DAVIES, 1964; WU, et al., - 1967). A elevação da bilirrubinemia após restrição calórica também foi verificada em cavalos normais (GRONWALL & MIA, 1969).

Essas observações não tinham merecido a melhor investigação até que FELSHER et al. (1970) tive

ram a atenção despertada por um paciente com síndrome de Gilbert que notava agravamento da sua icterícia sempre que ficava em jejum durante poucos dias, na tentativa de emagrecer. Realizando estudos para investigar a influência do teor calórico da dieta em 7 pacientes com síndrome de Gilbert, observaram uma relação recíproca entre a ingestão calórica e o nível da bilirrubinemia. A restrição calórica consistiu na administração de dieta com menos de 400 calorias durante 36 a 72 horas. Nos 7 pacientes estudados, a bilirrubinemia total aumentou de $1,7 \pm 0,1$ mg% para $4,7 \pm 0,3$ mg%. O teste de restrição calórica realizado em 8 indivíduos normais mostrou, em média, aumento da bilirrubinemia de apenas 0,4 mg%. Esses autores também estudaram o efeito da restrição calórica em 6 familiares dos pacientes com síndrome de Gilbert, todos com níveis normais de bilirrubina quando em dieta normal. Em 3 desses (mãe, irmã e tia materna), houve elevação da bilirrubina até níveis de 2,3; 1,5 e 1,9 mg% respectivamente, o que sugeriu que o teste poderia ser útil para o esclarecimento do modo de transmissão hereditária dessa síndrome.

BARRET (1971) concluiu, entretanto, que o aumento da concentração sérica da bilirrubina durante o jejum era qualitativamente similar em 5 indivíduos normais e em 5 pacientes com hepatopatia, dois deles com síndrome de Gilbert. A concentração de bilirrubina aumentou 240% nos indivíduos normais e 194% nos pacientes com doença hepática. Nesse trabalho foi verificado que a bilirrubinemia começou a aumentar 5 a 10 horas após a última refeição e aumentou progressivamente durante o período

de jejum, que variou de 44 a 48 horas. Diminuição significativa da bilirrubinemia foi observada tão precocemente - quanto 2 horas após realimentação.

BLOOMER, et al. (1971) verificaram que a concentração da bilirrubina total do plasma aumentou de 23% até 334% em 12 indivíduos (10 voluntários sadios e 2 pacientes com síndrome de Gilbert) após período de 1 a 3 dias. Esses autores não encontraram diferença entre a porcentagem de aumento da bilirrubinemia dos indivíduos - normais e dos pacientes com síndrome de Gilbert.

OWENS & SHERLOCK (1973) estudaram o efeito da redução na ingestão calórica (400 calorias por dia durante 2 dias) em 10 pacientes com síndrome de Gilbert, 12 indivíduos normais, 12 pacientes com moléstias hepáticas (cirrose, esteatose, hepatite a virus e síndrome de Dubin-Johnson) e em 3 pacientes com icterícia hemolítica. Verificaram que a porcentagem de aumento da bilirrubina em relação aos níveis iniciais, foi maior na síndrome de Gilbert (110%) quando comparada com a que ocorreu nos indivíduos normais (60%). Na síndrome de Gilbert a média da concentração de bilirrubina total aumentou de $1,8 \pm 0,2$ para $3,5 \pm 0,3$ mg% em 24 horas de restrição calórica. Nos indivíduos normais, o aumento da bilirrubina total foi de $0,5 \pm 0,02$ para $0,8 \pm 0,06$ mg% após 48 horas de restrição calórica. Dois pacientes com síndrome de Gilbert apresentavam bilirrubina total normal antes do teste de restrição calórica. Tais pacientes tiveram resposta similar a dos indivíduos normais, com aumento de 0,5 para 0,9 mg% e de 0,6 para 1,0 mg%. Não houve aumento significativo da bilirrubina total durante o teste de restrição caló

rica nos pacientes com doença hepática e nos pacientes com icterícia hemolítica. Esses autores assinalaram que o efeito da dieta de 400 calorias durante 24 horas permite distinguir a síndrome de Gilbert de outras causas de hiperbilirrubinemia indireta. Assim, segundo eles, um aumento de 100%, ou mais, sugere síndrome de Gilbert, exceto naqueles casos em que a concentração inicial de bilirrubina está dentro dos limites normais.

FELSHER et al. (1973) demonstraram, também, efeito exagerado da restrição calórica nos níveis de bilirrubina de pacientes com síndrome de Gilbert. Nesse trabalho, os níveis de bilirrubinemia de 7 pacientes com síndrome de Gilbert, aumentaram de $1,4 \pm 0,2$ para $4,1 \pm 0,6\text{mg\%}$, quando submetidos a dieta hipocalórica durante 3 dias.

BENSINGER et al. (1973) estudaram o efeito de dieta de 400 calorias por dia durante 48 horas em 5 indivíduos normais e em 9 pacientes com síndrome de Gilbert. No grupo normal a bilirrubina total aumentou de $0,44 \pm 0,15$ para $0,78 \pm 0,40\text{mg\%}$ (média de aumento de 77%) e nos pacientes com síndrome de Gilbert o aumento foi de $1,3 \pm 0,55$ para $3,1 \pm 0,98\text{mg\%}$ (média de aumento de 138%).

FELSHER & CARPIO (1975) realizaram prova de restrição calórica, utilizando dieta de aproximadamente 300 calorias por dia durante 2 dias, em 10 pacientes com síndrome de Gilbert, em 7 pacientes com icterícia hemolítica e em 13 indivíduos normais. A restrição calórica ocasionou aumento da concentração da bilirrubina total nos indivíduos normais e nos pacientes com síndrome de Gilbert, sendo que, nos últimos, o aumento absoluto foi significativamente

maior que nos normais. Na síndrome de Gilbert a bilirrubina total aumentou de $1,5 \pm 0,2$ para $3,5 \pm 0,3$ mg%, enquanto que nos indivíduos normais o aumento foi de $0,5 \pm 0,1$ para $0,9 \pm 0,1$ mg%. Em 5 pacientes com icterícia hemolítica o aumento foi de $2,8 \pm 0,5$ para $3,5 \pm 0,2$ mg%, significativamente menor que o encontrado nos pacientes com síndrome de Gilbert e, apenas discretamente maior que nos indivíduos normais. Aumento semelhante ao encontrado nos pacientes com síndrome de Gilbert foi observado em 2 pacientes com hemólise. Esses 2 pacientes que apresentavam - também diminuição de atividade da UDPG-T, foram interpretados como tendo associação de síndrome de Gilbert com doença hemolítica. Com base nesses resultados aqueles autores assinalaram que a síndrome de Gilbert deverá ser colocada na vanguarda das considerações diagnósticas quando, após dieta pobre em calorias durante 48 horas, houver aumento da concentração da bilirrubina total do soro de 1,4 mg% ou mais, atingindo, após a dieta, níveis maiores ou iguais a 2,0 mg%, com 25% ou menos do tipo conjugado.

DAVIDSON et al. (1975), verificaram, entretanto, que o teste de restrição calórica não ocasionou aumento estatisticamente significativo de bilirrubina total em 13 pacientes com síndrome de Gilbert; um aumento de 100% ocorreu em apenas 4 pacientes, sendo que, em um deles, a concentração de bilirrubina diminuiu em vez de aumentar! Esses autores apontaram dificuldades na realização desse teste, que exige internação durante no mínimo 48 horas e concluíram pela inutilidade da prova de restrição calórica no diagnóstica da síndrome de Gilbert.

O mecanismo da elevação da concentração de bilirrubina não conjugada do soro nessa situação não é ainda bem conhecido, podendo ocorrer por aumento da produção ou por diminuição da excreção da bilirrubina.

A favor da hipótese de superprodução de bilirrubina, estão as observações de BLOOMER et al. (1971), que demonstraram aumento da produção de monóxido de carbono em indivíduos normais e em pacientes com moléstias hepáticas, quando submetidas a jejum de poucos dias.

No processo de formação da bilirrubina há conversão do heme (tetrapirrol cíclico) em biliverdina (tetrapirrol linear) sendo que, nessa clivagem, há oxidação da ponte de mesocarbono com produção de monóxido de carbono em quantidades equimolares (BISSELL, 1975). Segundo BLOOMER et al. (1971), o jejum poderia estimular a hemo-oxigenase hepática, que seria a responsável pelo aumento do catabolismo do heme. Estudos experimentais em ratos mostraram que essa enzima é estimulada por hormônios liberados durante jejum, entre os quais, o glucagon (BAKKEN et al., 1972).

BENSINGER et al., (1973) não encontraram, entretanto, aumento da produção do monóxido de carbono quando indivíduos normais e pacientes com síndrome de Gilbert eram submetidos a dieta hipocalórica. Além disso, a superprodução de bilirrubina não parece ser o mecanismo responsável pelas alterações na concentração da bilirrubinemia que ocorre durante o jejum, pois, atualmente se sabe que, nessas condições, há maior produção apenas da bilirrubina endógena hepática, conseqüente à degradação do heme hepático intrínseco. A bilirrubina endógena é

excretada diretamente para a bile, sem se misturar com o "pool" plasmático (BISSELL, 1975).

BLOOMER et al., (1971) baseados em estudos de depuração de bilirrubina, demonstraram que a hiperbilirrubinemia consequente ao jejum não é devida a diminuição da atividade da UDPG-T hepática. Em apoio a essa conclusão, os autores citaram que a concentração plasmática de bilirrubina aumenta durante o jejum inclusive em ratos Gunn, que apresentam ausência total dessa enzima. Alteração das proteínas transportadoras "Y" e "Z" não poderia também ser responsável pela hiperbilirrubinemia, pois a vida média dessas proteínas (19 dias) é muito longa para explicar o rápido aumento na concentração de bilirrubina plasmática durante o jejum. Diminuição na excreção da bilirrubina para a bile poderia ocasionar aumento da bilirrubina conjugada, mas não explicar o aumento da bilirrubina não conjugada que ocorre durante o jejum.

OWENS & SHERLOCK (1973) encontraram diminuição da atividade da glicuronil-transferase hepática em ratos durante jejum de 72 horas e sugeriram que a diminuição dessa enzima seria o mecanismo responsável pela hiperbilirrubinemia durante restrição calórica.

Essa hipótese foi contestada pelo trabalho de FELSHER et al. (1973), os quais verificaram que a enzima UDPG-T hepática, embora uniformemente reduzida nos pacientes com síndrome de Gilbert, não foi afetada pela restrição calórica, nem estava relacionada à concentração sérica da bilirrubina. Níveis reduzidos da atividade da UDPG-T foram encontrados nesses pacientes, mesmo durante períodos anictéricos, sugerindo que deficiência

parcial desta enzima não ocasiona invariavelmente hiperbilirrubinemia na ausência de certas condições, como, por exemplo, durante restrição calórica. Esses autores sugerem que o jejum poderia comprometer a via do ácido glicurônico nos pacientes com síndrome de Gilbert, reduzindo a capacidade de formação de ácido uridino difosfoglicurônico, conseqüente a depleção de depósitos de glicogênio hepático. Nenhuma investigação, entretanto, foi realizada nesse sentido até o presente.

FELSHER & CARPIO (1975) estudaram o efeito "exagerado" da restrição calórica nos pacientes com síndrome de Gilbert e verificaram que o mesmo não tinha relação com os níveis iniciais da concentração da bilirrubina, ocorrendo até nos pacientes com níveis iniciais de bilirrubina normais. Sugeriram que a hiperbilirrubinemia não conjugada, por si mesma, não é responsável pela resposta exagerada que ocorre nos pacientes com síndrome de Gilbert, mas que a diminuição da atividade da UDPG-T - seria o fator responsável. Como essa enzima não é afetada pela restrição calórica (FELSHER et al., 1973) os autores aventaram 3 hipóteses para explicar a hiperbilirrubinemia que ocorre nos pacientes com síndrome de Gilbert durante o teste de restrição calórica: redução da formação de ácido uridino difosfoglicurônico devido a depleção de glicogênio; aumento na produção de bilirrubina hepática secundária a estímulo da atividade da hemo-oxigenase ou, alteração no transporte de bilirrubina não conjugada.

BARRETT (1971) demonstrou que a hiperbilirrubinemia conseqüente ao jejum desaparecia rapidamente após re-alimentação com dieta normal. Os estudos desse

autor, procurando esclarecer esse mecanismo, evidenciaram alguns fatos de difícil explicação, trazendo problemas adicionais para a compreensão da relação entre o metabolismo da bilirrubina e a ingestão calórica. BARRETT (1975) verificou que a hiperbilirrubinemia consequente ao jejum desaparecia em poucas horas após administração rápida de 100 gramas de glicose por via oral. A bilirrubinemia não foi alterada, entretanto, após ingestão de amino-ácidos, gordura, manitol ou solução isotônica de cloreto de sódio. Por outro lado, a administração de 100 gramas de glicose por via venosa, ocasionou elevação da bilirrubinemia, que não pode ser explicada por alterações osmóticas ou do volume intravascular, visto que foi demonstrado efeito similar após infusão de manitol e de amino-ácidos.

GOLLAN et al. (1975) também demonstraram que a hiperbilirrubinemia do jejum não depende exclusivamente da restrição calórica, visto que a administração intravenosa de glicose a 50%, fornecendo 2.400 calorias, não reduziu a hiperbilirrubinemia consequente ao jejum em dois pacientes com síndrome de Crigler-Najjar tipo II.

III - CASUÍSTICA E MÉTODOS

A casuística utilizada na elaboração do presente trabalho incluiu 89 indivíduos caucasóides, pertencentes à mesma classe sócio-econômica, que foram subdivididos em diferentes grupos experimentais (A a F), a saber:

1) 10 pacientes com síndrome de Gilbert, atendidos pelo autor durante os últimos cinco anos, e que constituíram o Grupo A. Por terem tais pacientes - permitido a averiguação e exame de 50 outros indivíduos entre os seus consangüíneos, eles serão designados por casos-índice.

2) 11 pacientes sem afecções orgânicas, mas com queixas de enxaqueca ou de dispepsia tipo psicogênica, que concordaram em ser submetidos a alguns exames. Tais pacientes constituíram um grupo controle , que foi denominado de Grupo B.

3) 7 pacientes com hepatopatia crô-

nica, que compuseram o Grupo C.

4) 5 parentes consangüíneos dos casos-índice e que também manifestaram hiperbilirrubinemia não conjugada. Esses pacientes constituíram o Grupo D.

5) 13 parentes consangüíneos dos - casos-índice que manifestaram bilirrubinemia normal. Esses indivíduos compuseram o Grupo E.

6) 11 pacientes sem afecções orgânicas, mas com queixas de enxaqueca ou dispepsia, que também concordaram em ser submetidos a alguns exames. Esse conjunto constituiu outro grupo controle, que foi designado por Grupo F.

Portanto, dos 89 indivíduos examinados, apenas 32 parentes consangüíneos dos casos-índice - não foram incluídos nos grupos experimentais acima mencionados.

Os pacientes do Grupo A (casos-índice) apresentavam idades variando entre 17 e 41 anos, sendo 9 do sexo masculino e um do sexo feminino. Dentre eles, cinco pacientes haviam sido tratados em outros serviços com diagnóstico de hepatite crônica durante um a 12 anos, dois fizeram a primeira consulta com suspeita de hepatite a vírus, um compareceu à clínica com queixa de ictericia conjuntival nos 15 dias que antecederam a primeira - consulta e um queixava-se de astenia e distúrbios dispépticos há 6 meses. O último dos casos-índice foi investigado para esclarecimento de icterícia descoberta em exame clínico ao qual todos os alunos da UNICAMP se submetem durante o primeiro ano do curso. Alguns dados pessoais e a queixa clínica principal dos pacientes desse

grupo estão apresentados na TABELA I.

O diagnóstico de síndrome de Gilbert foi estabelecido nesses 10 casos-índice com base nos seguintes dados:

- 1) Exame físico normal, com exceção de discreta icterícia conjuntival.
- 2) Hiperbilirrubinemia não conjugada, com valores normais da bilirrubina conjugada e ausência - de bilirrubinúria.
- 3) Exame hematológico (hemograma com pleto) e contagem de reticulócitos normais.
- 4) Prova de resistência globular osmótica normal ou apenas discretamente alterada.
- 5) Provas rotineiras de função hepática (transaminases glutâmico-oxalacética e glutâmico-pirúvica, fosfatase alcalina, eletroforese de proteínas, - tempo e atividade de protrombina) normais.
- 6) Prova de bromo-sulfaleína (BSP) - normal, com exceção de dois pacientes (casos-índice nºs 1 e 7), os quais apresentaram valores discretamente aumentados (7,1 e 8,5% de retenção aos 45 min.).
- 7) Pesquisa negativa de antígeno Aus trália.
- 8) Histologia hepática ao microscópio óptico: Arquitetura lobular hepática conservada, sem alterações citoplasmáticas importantes. Presença de lipofusci na em pequena quantidade, predominantemente na região cen tro-lobular. O infiltrado inflamatório, quando presente, foi discreto, do tipo crônico e de localização portal.

Os níveis de bilirrubina total e su-

as frações à época em que foi estabelecido o diagnóstico foram os seguintes: bilirrubina total: 2,0mg% a 4,8mg% - (média: 3,29mg%, com desvio padrão de 0,885); bilirrubina não conjugada: 1,5mg% a 4,1mg% (média: 2,8mg%, com desvio padrão de 0,859) e bilirrubina conjugada: 0,2mg% a 0,7mg% (média: 0,48mg%, com desvio padrão de 0,147).

Esses pacientes foram estudados durante vários meses ou anos, durante os quais foram realizados exames bioquímicos do sangue em intervalos frequentes.

Em quatro dos casos-índice (números 3,5,7 e 9 do Grupo A), os níveis de bilirrubina total foram, em algumas fases da evolução, iguais ou menores do que 1mg%. Por outro lado, dois dos pacientes estudados - (casos-índice números 8 e 10) apresentaram, em algumas ocasiões, níveis de bilirrubina total de até 7,5mg%.

Os pacientes dos grupos controles B e F revelaram-se normais ao exame físico, nas provas de função hepática e no exame hematológico. Alguns dados pessoais desses grupos estão descritos nas TABELAS II e VI.

Os pacientes do Grupo C, com hepatopatia crônica, apresentaram-se em bom estado geral, com icterícia discreta ou ausente, e sem evidências de insuficiência hepática grave. O diagnóstico desses pacientes foi estabelecido de acordo com os critérios de SHERLOCK (1975), com base na história clínica, exame físico, exames laboratoriais e biópsia hepática. Quatro apresentavam cirrose hepática tipo micronodular (dois de etiologia alcoólica e dois de natureza idiopática), dois tinham hepa

tite crônica persistente e um apresentava hepatite crônica ativa. Os diagnósticos e alguns dados pessoais dos pacientes desse grupo estão descritos na TABELA III.

Os indivíduos do Grupo D eram assintomáticos e apresentaram bilirrubinemia total igual ou maior do que 1,4mg%. As provas de função hepática e o exame físico eram normais. Não tinham antecedentes de hepatite a vírus, ingestão de drogas ou de álcool. Foi negativa a pesquisa do antígeno Austrália. As relações de consangüinidade entre eles e os casos-índice, bem como alguns de seus dados pessoais estão descritos na TABELA IV.

A TABELA V descreve as relações de consangüinidade entre os indivíduos do Grupo E, bem como alguns de seus dados pessoais. Todos os indivíduos desse grupo eram assintomáticos e apresentaram-se normais ao exame físico, às provas de função hepática e ao exame hematológico.

Os outros 32 parentes consanguíneos dos casos-índice, não relatados nas TABELAS I a VI, eram assintomáticos e apresentaram-se normais ao exame físico. Esses indivíduos foram apenas submetidos a dosagem de bilirrubina total e suas frações.

As técnicas dos exames laboratoriais e anátomo-patológicos estão descritas no APÊNDICE.

TABELA I - Casos-Índice (Grupo A): alguns dados pessoais e queixa clínica principal

PACIENTE	Nº	IDADE	SEXO	PROCEDÊNCIA	PROFISSÃO	QUEIXA PRINCIPAL
J.F.G.C.	1	18	M	Campinas, SP.	Universitário	Icterícia há 8 anos.
C.A.	2	24	M	Capivari, SP.	Industrial	"Hepatite" e distúrbios dispépticos há um mes.
J.A.C.	3	31	M	Campinas, SP.	Advogado	"Hepatite crônica" e dispepsia há 14 anos.
C.R.P.	4	21	M	Campinas, SP.	Escriturário	"Hepatite crônica" e dispepsia há um ano.
A.D.	5	37	M	Vinhedo, SP.	Industriário	"Hepatite crônica" e dispepsia há 8 anos.
A.J.N.B.	6	41	M	Campinas, SP.	Advogado	Distúrbios dispépticos e astenia há 6 meses.
J.B.M.	7	28	M	Indaiatuba, SP.	Industrial	"Hepatite crônica", dispepsia e astenia há um ano.
C.V.A.	8	21	F	Piracicaba, SP.	Universitária	"Hepatite" há 3 meses. Astenia há 2 anos.
J.A.D.	9	32	M	Campinas, SP.	Engenheiro	Icterícia há 15 dias.
O.A.P.P.	10	17	M	Salto, SP.	Industriário	"Hepatite crônica" há 4 anos.

TABELA II - Grupo controle de pacientes sem afecções orgânicas
(Grupo B): alguns dados pessoais e queixa clínica principal

PACIENTE	Nº	IDADE	SEXO	PROCEDÊNCIA	PROFISSÃO	QUEIXA PRINCIPAL
J.A.	1	21	F	Campinas, SP.	Industriária	Enxaqueca
C.N.A.	2	23	F	Campinas, SP.	Escriturária	Dispepsia
F.A.N.	3	30	M	Valinhos, SP.	Industriário	Dispepsia
R.P.S.	4	27	F	Campinas, SP.	Industriária	Enxaqueca
M.N.	5	18	M	Campinas, SP.	Universitário	Nihil
A.S.	6	45	F	Campinas, SP.	Escriturária	Dispepsia
E.T.	7	25	M	Indaiatuba, SP.	Comerciário	Enxaqueca
L.S.M.	8	45	F	Campinas, SP.	Doméstica	Dispepsia
B.T.M.	9	36	F	Campinas, SP.	Doméstica	Dispepsia
O.J.O.	10	20	M	Campinas, SP.	Lavrador	Hemorroidas
G.F.M.	11	60	M	Campinas, SP.	Comerciário	Dispepsia

TABELA III - Grupo de pacientes com hepatopatia crônica
(Grupo C): Alguns dados pessoais e diagnóstico.

PACIENTE	Nº	IDADE	SEXO	PROCEDÊNCIA	PROFISSÃO	DIAGNÓSTICO
E.S.	1	52	F	Campinas, SP.	Doméstica	Cirrose hepática
P.D.	2	48	M	Campinas, SP.	Func. público	Cirrose hepática
P.B.	3	40	M	Campinas, SP.	Lavrador	Cirrose hepática
A.R.	4	41	M	Campinas, SP.	Func. público	Cirrose hepática
E.A.B.	5	26	M	Campinas, SP.	Industriário	Hepatite crônica ativa
A.W.W.	6	27	F	Campinas, SP.	Doméstica	Hepatite crônica persistente
M.G.A.S.	7	50	F	Campinas, SP.	Enfermeira	Hepatite crônica persistente

TABELA IV - Grupo de parentes consanguíneos dos casos
-índice relacionados na tabela I, que também manifestaram hiperbilirrubinemia (Grupo D): Alguns dados pessoais.

PARENTE	Nº	IDADE	SEXO	CONSANGUINIDADE	PROFISSÃO	PROCEDÊNCIA
S.R.P.	1	24	F	Irmã do paciente nº 4	Escriturária	Campinas, SP.
A.D.	2	44	M	Irmão do paciente nº 5	Industriário	Vinhedo, SP.
A.E.V.	3	27	M	Irmão do paciente nº 8	Lavrador	Piracicaba, SP.
R.V.	4	24	M	Irmão do paciente nº 8	Lavrador	Piracicaba, SP.
A.B.R.P.	5	41	F	Mãe do paciente nº 10	Doméstica	Salto, SP.

TABELA V - Grupo de parentes consanguíneos dos casos-índice relacionados na tabela I, que manifestaram bilirrubinemia normal (Grupo E): Alguns dados pessoais.

PARENTE	Nº	IDADE	SEXO	CONSANGUINIDADE	PROFISSÃO	PROCEDÊNCIA
E.M.A.	1	62	F	Mãe do paciente nº 3	Doméstica	Campinas, SP.
M.A.C.G.	2	33	F	Irmã do paciente nº 3	Escriturária	Campinas, SP.
L.E.C.	3	19	M	Irmão do paciente nº 3	Estudante	Campinas, SP.
T.J.C.	4	36	F	Irmã do paciente nº 3	Doméstica	Campinas, SP.
M.H.C.	5	26	F	Irmã do paciente nº 3	Doméstica	Campinas, SP.
L.C.P.	6	12	M	Irmão do paciente nº 4	Estudante	Campinas, SP.
M.D.	7	72	F	Mãe do paciente nº 5	Doméstica	Vinhedo, SP.
R.D.C.	8	52	F	Irmã do paciente nº 5	Doméstica	Vinhedo, SP.
C.D.	9	35	F	Irmã do paciente nº 5	Industriária	Vinhedo, SP.
O.D.	10	45	M	Irmão do paciente nº 5	Industriário	Vinhedo, SP.
O.M.	11	35	F	Irmão do paciente nº 7	Industriário	Indaiatuba, SP.
E.V.V.	12	47	F	Mãe do paciente nº 8	Doméstica	Piracicaba, SP.
M.E.N.	13	36	F	Tia materna do paciente nº 8	Doméstica	Piracicaba, SP.

TABELA VI - Grupo controle de pacientes sem afecções orgânicas (Grupo F): Alguns dados dos pessoais e queixa clínica principal.

PACIENTE	Nº	IDADE	SEXO	PROCEDÊNCIA	PROFISSÃO	QUEIXA PRINCIPAL
M.A.F.O.	1	23	F	Campinas, SP.	Industriária	Dispepsia
M.L.C.S.	2	27	F	Campinas, SP.	Industriária	Dispepsia
N.P.T.F.	3	40	M	Campinas, SP.	Industriário	Dispepsia
A.J.R.	4	33	M	Campinas, SP.	Comerciário	Dispepsia
J.G.B.P.	5	43	M	Campinas, SP.	Comerciário	Enxaqueca
A.M.J.	6	21	M	Campinas, SP.	Universitário	Enxaqueca
J.N.S.	7	30	M	Campinas, SP.	Industriário	Dispepsia
A.B.	8	33	M	Campinas, SP.	Comerciário	Dispepsia
A.M.A.	9	27	F	Campinas, SP.	Escriturário	Enxaqueca
E.G.M.	10	47	M	Campinas, SP.	Func. Público	Dispepsia
L.B.A.A.	11	31	F	Campinas, SP.	Industriária	Enxaqueca

Além dos exames já mencionados, foram efetuadas provas de restrição calórica, uma análise familiar, provas de investigação da eventual influência do glucagon na bilirrubinemia, outras provas para estudo da resposta hiperglicêmica ao glucagon endovenoso, teste de indução enzimática com fenobarbital e estudo das biópsias hepáticas ao microscópio eletrônico. Sobre tais pesquisas é imprescindível tecer alguns comentários:

III.1. Prova de restrição calórica

A prova de restrição calórica foi realizada em indivíduos que a iniciavam em jejum, entre 8h 30 min. e 9h, fornecendo uma amostra de sangue venoso para dosagem da bilirrubina total e suas frações e que passavam as 24 horas seguintes ingerindo apenas 2 litros de uma solução de Dextrosol (Refinação de Milho Brasil) a 5%. Ao final desse tempo colhia-se nova amostra de sangue para a dosagem das bilirrubinas.

Essa prova foi realizada nos indivíduos dos Grupos A-E.

III.2. Análise familiar

A análise familiar consistiu do teste da hipótese nula de que a síndrome de Gilbert deve ser considerada como uma característica autossômica monogênica com penetrância completa, desde que investigada de modo apropriado, contra a hipótese alternativa de que isso não é verdadeiro.

Quando se tem a possibilidade de in

investigar tanto as irmandades, quanto os genitores dos ca
sos-índice, o teste da hipótese nula em questão é sim
ples, pois basta verificar nas irmandades geradas por pai
ou mãe com a condição patológica em estudo, se as propor
ções de indivíduos afetados e não afetados por ela se desvi
am significativamente da razão 1:1. Evidentemente, essa
comparação de proporções é feita depois de verificar que
a razão de sexo entre os afetados pela condição patolôgica
em estudo não se desviou significativamente da unidade,
e que o sexo dos filhos afetados não depende do sexo do
genitor que manifesta a anomalia (BEIGUELMAN, 1968).

Considerando, porém, que por razões
ponderáveis não foi possível submeter todos os genitores
das irmandades estudadas a uma prova de restrição calórica,
mas levando em conta que os dados da literatura pertin
nente falam a favor da hipótese de que a síndrome de Gilbert
é transmitida de modo autossômico dominante, embora
aceitando que a penetrância do gene autossômico responsável
é incompleta, o autor optou por uma outra alternativa
de análise.

Assim, para por à prova a hipótese -
nula em discussão valeu-se apenas das irmandades, já que
a probabilidade de averiguação de todas pode ser considera
da como exatamente proporcional ao número de indivíduos
com síndrome de Gilbert nelas incluídos. De fato, considera
ndo que as 10 irmandades estudadas foram averiguadas a
partir de 10 casos-índice adultos, nove dos quais procura
raram tratamento espontaneamente, e que o caso-índice resta
nte foi averiguado por intermédio de um censo do tipo
incompleto, é perfeitamente permissível aceitar que o ti-

po de averiguação das irmandades é simples (SMITH, 1959; MORTON, 1959).

Tendo em mente que, ao analisar apenas as irmandades coletadas por averiguação simples, introduz-se uma distorção sistemática dos resultados, que provoca um excesso de indivíduos com a mesma característica mórbida apresentada pelos casos-índice, os dados a respeito das irmandades estudadas foram corrigidos e tratados pelo método de HALDANE (1973).

De acordo com esse método tem-se - que, se a for o número de anômalos em cada irmandade, f for a frequência absoluta das irmandades de diferentes tamanhos, e n representar os diferentes tamanhos de irmandades (1,2,...n), a frequência relativa corrigida de anômalos (q) será obtida por intermédio de

$$q = \frac{\sum a - \sum f}{\sum fn - \sum f}$$

Visto que a variância de q é,

$$\sigma^2 = \frac{pq}{\sum fn - \sum f},$$

sendo p = 1 - q a frequência relativa não corrigida de irmãos não afetados, tem-se que, para testar se a frequência de anômalos se desvia significativamente ou não da esperada (0,50 ou 50%) basta calcular um qui quadrado a partir de

$$\chi^2 = \frac{(q - 0,50)^2}{\sigma^2},$$

que terá um grau de liberdade.

III.3. Influência do glucagon nos níveis de bilirrubinemia

Para investigar a influência do glucagon na bilirrubinemia, dosaram-se as bilirrubinas de dois pacientes com síndrome de Gilbert (casos-índice nºs. 3 e 7) durante 7 horas e meia, em colheitas de sangue venoso a intervalos de uma hora, em dois dias consecutivos. Nos dois dias da prova os pacientes ingeriram dieta idêntica, normoproteica e normocalórica, nos mesmos horários, com o objetivo de eliminar as alterações do metabolismo da bilirrubina em relação à ingestão calórica.

No segundo dia foi administrado 1mg de glucagon em forma de cloridrato, extraído do pâncreas (Eli Lilly do Brasil Ltda.), em injeção rápida na veia, - logo após a colheita da primeira amostra de sangue, em jejum.

Simultaneamente às dosagens das bilirrubinas, foram também investigados os níveis de glicemia em todas as amostras colhidas.

III.4. Influências do glucagon nos níveis de glicemia

Um outro teste de glucagon endovenoso foi realizado fazendo-se, para tanto, colheita da primeira amostra de sangue venoso dos pacientes em jejum, pela manhã, seguida da administração de 1mg de glucagon endovenoso e colheita de sangue em intervalos subsequentes de meia, uma, duas, três, quatro e cinco horas.

Os níveis de glicemia e de bilirrubina total foram investigados em todas as amostras. Tendo

em vista a variação muito pequena dos níveis de bilirrubina e a estabilização dos níveis de glicemia a partir da segunda hora do teste, serão apresentados apenas os dados dos valores de glicemia até a segunda hora dessa prova.

O teste em questão foi realizado em três grupos de indivíduos. Um deles era constituído pelos pacientes do grupo controle F e, outro, que será designado por Grupo G, era composto por 6 indivíduos do Grupo A (casos-índice n^{os}. 1,2,3,6,7 e 8) e por todos os 5 indivíduos do Grupo D (parentes consanguíneos dos casos-índice que também manifestaram hiperbilirrubinemia). Quatro parentes consanguíneos dos casos-índice, que manifestaram bilirrubinemia normal (parentes n^{os}. 2,5,12 e 13, TABELA V) foram também submetidos a esse teste.

III. 5 Teste de indução enzimática

O teste de indução enzimática foi conduzido conforme o método descrito por BLACK & SHERLOCK (1970), com administração diária de 100 mg de fenobarbital durante 30 dias. Esse teste foi realizado em 8 dos pacientes do Grupo A e em 3 indivíduos do Grupo D, sendo dosados os níveis de bilirrubina total e de suas frações, antes e após 30 dias de medicação com fenobarbital.

III. 6 Estudo das biópsias hepáticas ao microscópio eletrônico

Os fragmentos de fígado, de cinco dos casos-índice (n^{os}. 1,3,4,8 e 10) obtidos mediante pun-

ção com agulha de Vim-Silverman, foram fixados em glutaraldeído a 1,5%, pH 7,2, durante 2 horas. Os fragmentos, que haviam sido recortados logo no início do processamento, - após breve fixação, foram, em seguida, lavados em tampão de fosfato, pH 7,2, durante 30 minutos, com três trocas da solução. A pós-fixação foi feita em ácido ôsmico a 1% durante 3 horas, seguida de desidratação em concentrações crescentes de acetona P.A. e da inclusão em EPON 812. No mínimo, tres dos blocos obtidos de cada caso estudado foram cortados no ultra-micrótomo MT-₂B Sorvall. Os cortes grossos foram corados com azul de toluidina e, os ultra-finos, foram corados com acetato de uranila durante 30 minutos e com citrato de chumbo durante um minuto. As telinhas, assim preparadas, foram examinadas nos microscópios eletrônicos Zeiss EM-9 e Hitachi HU-12.

IV - RESULTADOS

IV.1 Prova de restrição calórica

Os níveis de bilirrubina total e suas frações, antes e após a prova de restrição calórica, - bem como as diferenças entre esses níveis, estão apresentados nas TABELAS VII - XI.

Foram calculados os coeficientes de correlação (r) entre os níveis de bilirrubina total (BT), e os níveis de bilirrubina não conjugada (BNC) e de bilirrubina conjugada (BC), determinados nos indivíduos dos Grupos A, B, C e D, antes e após a prova de restrição calórica, os quais foram os seguintes:

r	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		GRUPO D	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
BT-BNC	0,99	0,99	0,93	0,76	0,80	0,63	0,99	1,00
BT-BC	-0,09	0,34	0,55	0,40	0,56	0,56	0,75	-0,61

Como decorrência da alta correlação observada entre os níveis de BT e BNC, antes e após a prova de restrição calórica, os valores de bilirrubina total

foram considerados como os mais apropriados para descrever as alterações da bilirrubinemia consequentes à dieta hipocalórica. De fato, tendo em mente que a determinação quantitativa das frações da bilirrubina total pelas técnicas rotineiras está mais sujeita a erros do que a dessa última, passava a ser mais lógico, em vista da alta correlação entre os valores de bilirrubina total e de bilirrubina não conjugada, levar em conta os valores totais. Desse modo, apenas em situações especiais a serem discutidas mais adiante, levou-se em conta também os níveis de bilirrubina conjugada.

Nas duas últimas fileiras das TABELAS VII - X foram assinalados apenas os valores médios obtidos por intermédio de:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

e os erros das médias, obtidos a partir de:

$$s(\bar{x}) = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n(n-1)}}$$

onde x é o valor da variável, $\bar{x}$ é a média, $s(\bar{x})$ é o erro da média e n é o tamanho amostral.

Em tais tabelas o autor julgou não ser necessário indicar os valores das estimativas das variâncias ($s^2(x)$) ou dos desvios padrão ($s(x)$) porque eles podem ser obtidos por intermédio de:

$$s(x) = s(\bar{x}) \cdot \sqrt{n}$$

e de

$$s^2(x) = (s(\bar{x}) \cdot \sqrt{n})^2$$

Os valores médios dos níveis de bilirrubina, bem como os respectivos erros das médias, não es-

tão incluídos na TABELA XI, que descreve o Grupo E. Isso porque tal grupo é heterogêneo, visto que é constituído por indivíduos que manifestaram comportamento variável, no que concerne aos valores de bilirrubina total e suas frações, após a prova de restrição calórica.

As comparações das distribuições - das amostras, estudadas segundo os resultados da prova de restrição calórica, foram feitas partindo da hipótese de que as distribuições teóricas das variáveis obedeciam a uma curva normal. Desse modo, se duas distribuições - amostrais apresentavam estimativas da variância significativamente diferentes, avaliadas a partir dos valores F de SNEDECOR (cf. SNEDECOR 1966), elas eram consideradas diferentes, independentemente dos valores médios observados.

Caso contrário, as médias eram comparadas por meio de um teste t de Student. Realmente, os valores paramétricos que definem a distribuição normal são a média e o desvio padrão, ou a variância, que é o quadrado desse desvio. Portanto, quando se comparam duas distribuições, se uma das estimativas desses valores paramétricos diferir significativamente, dir-se-á que as duas distribuições são diferentes ao nível de significância estabelecido.

A distribuição dos pacientes do Grupo A (casos-índice) segundo os níveis de bilirrubina total, antes e após a prova de restrição calórica foi diferente daquela apresentada pelos pacientes do Grupo B (controles, sem afecções orgânicas). De fato, os pacientes - do Grupo A e do Grupo B mostraram variâncias diferentes, não somente em relação à distribuição segundo a bilirru-

bina total antes da prova de restrição calórica ($F=64,72$; G.L.=9;10), mas também depois dessa prova ($F=490,44$; G.L.=9;10) e quanto à distribuição das diferenças entre ambas ($F=432,56$; G.L.=9;10).

Por outro lado, a comparação das distribuições dos pacientes do Grupo A com os do Grupo D, segundo os mesmos valores, não mostrou diferenças significativas, nem antes ($t_{(13)}=1,147$), nem depois dessa prova ($t_{(13)}=0,992$), e nem na diferença entre ambas quando os dados eram emparelhados ($t_{(13)} = -1,251$).

Os valores de bilirrubina total obtidos antes da prova de restrição calórica, determinados nos pacientes do Grupo A, não diferiram significativamente daqueles apresentados pelos pacientes do Grupo C ($t_{(15)} = -0,707$).

Entretanto, os resultados das determinações de bilirrubina total, obtidos após a prova, mostraram que os dois grupos tinham variâncias significativamente diferentes ($F=9,55$; G.L.=9;6), o que também ocorreu, obviamente, em relação à diferença entre os valores de bilirrubina total antes e após a prova de restrição calórica ($F=20,39$; G.L.=9;6).

Aqui parece pertinente assinalar que quatro dos pacientes com síndrome de Gilbert (casos-índice n.ºs. 3,5,7 e 9 da TABELA VII) apresentaram, antes da prova de restrição calórica, níveis de bilirrubinemia total menores do que 1,3 mg%, considerado neste trabalho como o limite superior da normalidade. Em todos esses quatro pacientes, os níveis de bilirrubinemia atingiram valores iguais ou maiores do que 2,7 mg% após a prova, com aumen-

to absoluto da concentração de bilirrubina (diferença entre os valores antes e após a prova) maior ou igual a 1,3mg%.

Por outro lado, os pacientes do Grupo B (sem afecções orgânicas), com bilirrubinemia normal antes da prova, não mostraram, após esse teste, níveis de bilirrubina total acima de 1,1mg%, com aumento absoluto das concentrações de bilirrubina não superior a 0,6mg%.

No grupo de pacientes com hepatopatia crônica (Grupo C), três apresentaram bilirrubinemia total dentro dos limites da normalidade (pacientes n.ºs. 4,6 e 7) e os outros quatro (pacientes n.ºs. 1,2,3 e 5), discreta hiperbilirrubinemia, antes da prova de restrição calórica. O aumento absoluto das concentrações de bilirrubina verificado nesses pacientes foi variável. Assim, em quatro indivíduos não houve alterações desses níveis (pacientes n.ºs. 1,4,5 e 6), enquanto que nos três restantes (n.ºs. 2,3 e 7) o aumento foi de 0,7, 0,8, e 0,1mg%, aparentemente sem relação com o nível inicial da bilirrubinemia.

Os pacientes do grupo D (parentes consanguíneos dos casos-índice, que também manifestaram hiperbilirrubinemia) apresentaram aumento absoluto das concentrações de bilirrubina total de, no mínimo, 0,7mg%, o que resultou, após a prova, em níveis de bilirrubina total maiores ou iguais a 2,1mg%.

Os indivíduos do Grupo E (parentes consanguíneos dos casos-índice que manifestaram bilirrubinemia normal) tiveram um comportamento heterogêneo -

frente a essa prova. Assim, em cinco deles, os níveis de bilirrubina total elevaram-se, nitidamente, após a prova de restrição calórica (parentes n^{os} 1,3,5,10,11) e, discretamente, em dois desses consanguíneos (parentes n^{os} 6 e 7). Esses sete parentes apresentaram aumento absoluto na concentração de bilirrubina de, no mínimo, 0,5mg%. Os outros seis parentes (n^{os} 2,4,8,9,12 e 13) apresentaram níveis de bilirrubina total não superiores a 1,1 mg% após a prova de restrição calórica.

Antes de encerrar o presente tópico parece interessante descrever o modo pelo qual o autor estabeleceu o limite superior dos níveis de bilirrubina total, que deveria ser considerado como normal após a prova de restrição calórica.

Para tal determinação o autor partiu dos dados amostrais de indivíduos do Grupo B, o qual, como se recorda, consistiu de pacientes comprovadamente sem afecções orgânicas. Tal amostra era composta por 11 indivíduos que apresentavam, depois da prova de restrição calórica, um valor médio de bilirrubina total igual a 0,86 mg%. Tendo em mente que a estimativa do desvio padrão foi de 0,22mg% e, considerando o valor de t de Student para esse valor amostral ($t=2,228$; G.L.=10), o limite superior da normalidade depois da prova de restrição calórica foi calculado segundo $0,86 + (2,228 \times 0,22)$, fornecendo, portanto, um valor igual a 1,35mg%.

Considerando, porém, que a precisão das técnicas rotineiras de dosagem das bilirrubinas pode estar sujeita a crítica, o autor julgou mais prudente es-

tabelecer como limite da normalidade para níveis de bilirubina total após a prova de restrição calórica, o valor de 1,3mg%.

TABELA VII - Níveis sanguíneos de bilirrubina total (BT), bilirrubina não conjugada (BNC) e bilirrubina conjugada (BC) dos casos-índice (Grupo A) antes e após o teste de restrição calórica.

Nº	ANTES			APÓS			DIFERENÇA		
	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC
1	1,6	1,1	0,5	6,7	4,3	2,4	5,1	3,2	1,9
2	1,4	1,0	0,4	3,3	2,8	0,5	1,9	1,8	0,1
3	0,8	0,6	0,2	3,3	2,8	0,5	2,5	2,2	0,3
4	1,9	1,6	0,3	3,2	2,6	0,6	1,3	1,0	0,3
5	1,0	0,9	0,1	2,7	2,2	0,5	1,3	1,3	0,4
6	1,4	0,9	0,5	4,4	3,9	0,5	3,0	3,0	0,0
7	1,0	0,8	0,2	3,6	3,1	0,5	2,6	2,3	0,3
8	4,4	4,2	0,2	19,2	18,1	1,1	14,8	13,2	0,9
9	1,2	0,8	0,4	6,2	4,9	1,3	5,0	4,1	0,9
10	3,2	2,9	0,3	7,3	6,7	0,6	4,1	3,8	0,3
MÉDIA	1,79	1,48	0,31	5,99	5,14	0,85	4,16	3,59	0,54
ERRO DA MÉDIA	0,36	0,36	0,04	1,56	1,50	0,19	1,26	1,11	0,18

TABELA VIII - Níveis sanguíneos de bilirrubina total (BT) bilirrubina não conjugada (BNC) e bilirrubina conjugada (BC) dos pacientes do grupo controle (B) antes e após a prova de restrição calórica.

Nº	ANTES			APÓS			DIFERENÇA		
	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC
1	0,6	0,3	0,3	0,75	0,3	0,45	0,15	0,0	0,15
2	0,65	0,25	0,4	0,9	0,3	0,6	0,25	0,05	0,2
3	0,8	0,5	0,3	1,1	0,5	0,6	0,3	0,0	0,3
4	0,6	0,3	0,3	0,6	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0
5	0,9	0,5	0,4	1,0	0,8	0,2	0,1	0,3	-0,2
6	0,5	0,3	0,2	0,5	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0
7	0,6	0,3	0,3	0,8	0,5	0,3	0,2	0,2	0,0
8	0,5	0,2	0,3	0,6	0,3	0,3	0,1	0,1	0,0
9	0,8	0,5	0,3	1,1	0,6	0,5	0,3	0,1	0,2
10	0,5	0,2	0,3	1,1	0,8	0,3	0,6	0,6	0,0
11	0,5	0,2	0,3	1,0	0,7	0,3	0,5	0,5	0,0
MÉDIA	0,63	0,32	0,31	0,86	0,49	0,37	0,22	0,16	0,09
ERRO DA MÉDIA	0,04	0,04	0,01	0,07	0,06	0,04	0,06	0,06	0,03

TABELA IX - Níveis sanguíneos de bilirrubina total (BT), bilirrubina não conjugada (BNC) e bilirrubina conjugada (BC) dos pacientes com hepatopatia crônica (Grupo C) antes e após a prova de restrição calórica.

Nº	ANTES			APÓS			DIFERENÇA		
	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC
1	2,0	1,2	0,8	2,0	1,2	0,8	0,0	0,0	0,0
2	1,8	1,2	0,6	2,5	1,6	0,4	0,7	0,4	-0,2
3	1,4	0,3	1,1	2,2	0,5	1,7	0,8	0,2	0,6
4	1,0	0,8	0,2	1,0	0,8	0,2	0,0	0,0	0,0
5	2,2	1,7	0,5	2,2	1,7	0,5	0,0	0,0	0,0
6	1,2	0,8	0,4	1,2	0,8	0,4	0,0	0,0	0,0
7	0,6	0,5	0,1	0,7	0,6	0,1	0,1	0,1	0,0
MÉDIA	1,46	0,93	0,53	1,68	1,03	0,58	0,23	0,1	0,06
ERRO DA MÉDIA	0,22	0,18	0,13	0,26	0,18	0,20	0,13	0,16	0,09

TABELA X - Níveis sanguíneos de bilirrubina total (BT), bilirrubina não conjugada (BNC) e bilirrubina conjugada (BC) dos parentes consanguíneos dos casos-índice - que também manifestaram hiperbilirrubinemia (Grupo D), antes e após a prova de restrição calórica.

Nº	ANTES			APÓS			DIFERENÇA		
	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC
1	1,4	1,0	0,4	2,6	2,2	0,4	1,2	1,2	0,0
2	1,5	0,9	0,6	2,6	2,0	0,6	1,1	1,1	0,0
3	1,6	1,1	0,5	3,3	3,0	0,3	1,7	1,9	-0,2
4	3,3	2,6	0,7	7,7	7,4	0,3	4,4	4,8	-0,4
5	1,4	1,1	0,3	2,1	1,6	0,5	0,7	0,5	0,2
MÉDIA	1,84	1,34	0,50	3,66	3,24	0,42	1,82	1,90	-0,08
ERRO DA MÉDIA	0,37	0,32	0,07	1,03	1,06	0,06	0,66	0,76	0,10

TABELA XI - Níveis sanguíneos antes e após a prova de restrição calórica de bilirrubina total (BT), bilirrubina não conjugada (BNC) e bilirrubina conjugada (BC) dos parentes consanguíneos dos casos-índice que antes dessa prova manifestaram bilirrubinemia normal (Grupo E).

Nº	ANTES			APÓS			DIFERENÇA		
	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC
1	1,2	1,1	0,1	2,7	2,2	0,5	1,5	1,1	0,4
2	0,8	0,5	0,3	0,8	0,6	0,2	0,0	0,1	-0,1
3	1,1	0,8	0,3	1,9	1,9	0,0	0,8	0,6	-0,3
4	0,5	0,3	0,2	1,1	0,6	0,5	0,6	0,3	0,3
5	1,1	0,6	0,5	3,2	2,1	1,1	2,1	1,5	0,6
6	0,8	0,3	0,5	1,3	0,8	0,5	0,5	0,5	0,0
7	0,7	0,6	0,1	1,3	0,8	0,5	0,6	0,2	0,4
8	1,1	0,5	0,6	1,1	0,7	0,4	0,0	0,2	-0,2
9	0,9	0,5	0,4	0,9	0,6	0,3	0,0	0,1	-0,1
10	1,2	1,0	0,2	1,8	1,5	0,3	0,6	0,5	0,1
11	0,9	0,7	0,2	1,7	1,2	0,5	0,8	0,5	0,3
12	0,5	0,3	0,2	0,6	0,5	0,1	0,1	0,2	-0,1
13	0,5	0,3	0,2	0,6	0,4	0,2	0,1	0,1	0,0

IV.2 Análise familiar

Os heredogramas das genealogias estudadas estão apresentados na Fig.1.

Para a análise familiar desses dados foram usados apenas, pelos motivos apresentados no capítulo III, os dados referentes às irmandades. No caso das genealogias representadas pelos heredogramas II e III apenas as irmandades constituídas pelos indivíduos II -3 e II -4 do heredograma II e II -1 a II -6 do heredograma III foram analisados, já que, em relação a essas irmandades, havia a segurança de que tinham um genitor com a síndrome de Gilbert.

No quadro abaixo são apresentados os elementos extraídos da Fig. 1 que foram necessários ao cálculo da estimativa corrigida da frequência de casos com - síndrome de Gilbert (q).

<u>n</u>	<u>f</u>	<u>fn</u>	<u>a</u>
2	2	4	3
3	2	6	6
4	3	12	7
5	2	10	5
6	1	6	3
Total	$\sum f=10$	$\sum fn=38$	$\sum a=24$

A partir deles pode-se, pois, calcular:

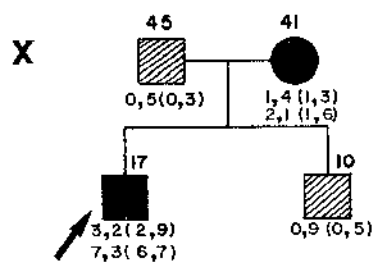
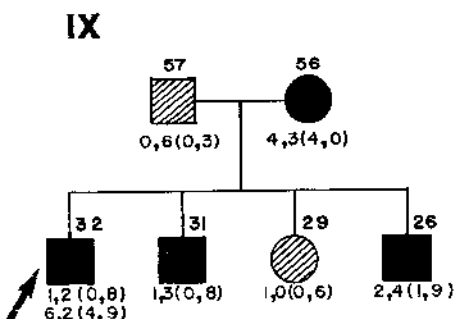
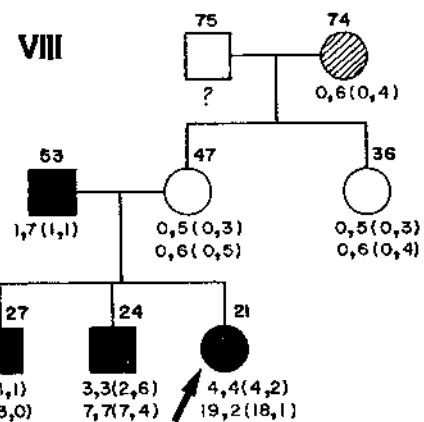
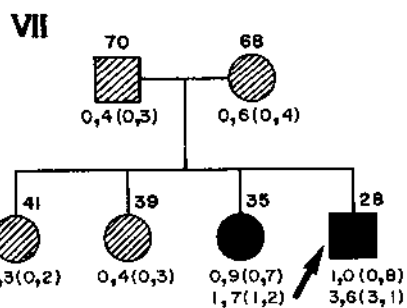
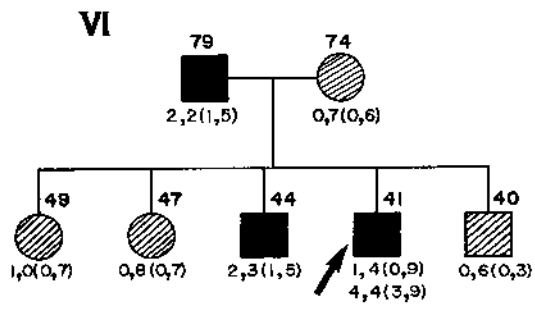
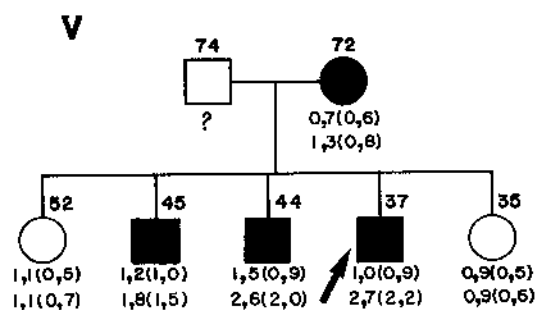
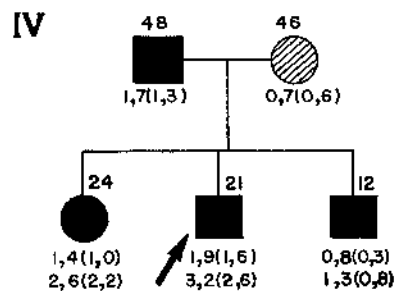
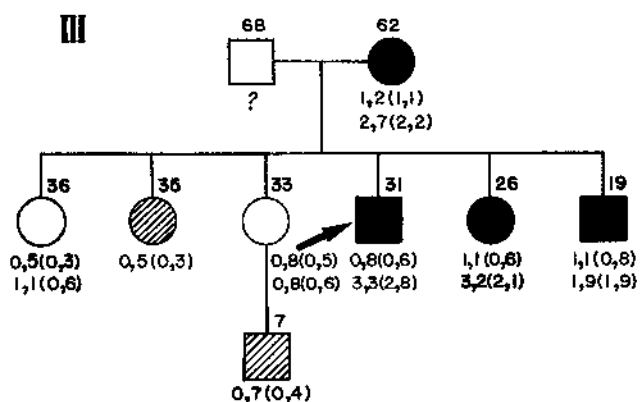
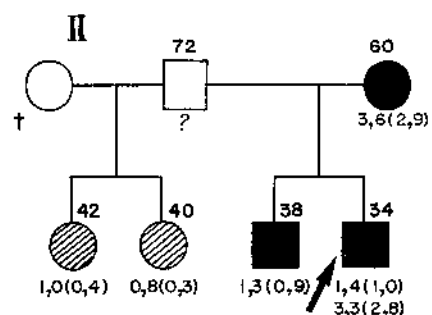
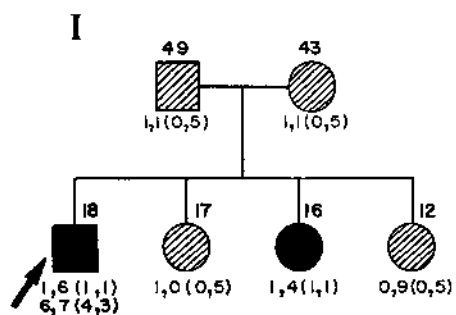
$$q = \frac{\sum a - \sum f}{\sum fn - \sum f} = \frac{24 - 10}{38 - 10} = \frac{14}{28} = 0,5$$

$$p = 0,5$$

$$\sigma^2 = \frac{0,25}{28} = 0,0089$$

Tendo em vista tais resultados, não é necessário, obviamente, comparar as frequências observada e esperada de anômalos, podendo-se, por outro lado, aceitar a hipótese nula de herança monogênica autossômica dominante , e rejeitar a alternativa de que isso não é verdadeiro.

FIGURA 1



IV.3. - Influência do glucagon nos níveis de bilirrubina

Os níveis de bilirrubina total e de glicemia dos dois pacientes do Grupo A (casos-índice nºs 3 e 7) submetidos a essa prova são apresentados na TABELA XII.

Os pacientes ingeriram uma dieta padronizada nos dois dias da prova, nos mesmos horários, - que está indicada na coluna do tempo de colheita de sangue da TABELA XII pelo termo alimentação, colocado entre parênteses.

Os valores de bilirrubina total observados no primeiro dia dessa prova variam entre 2,2 e 2,5mg% no paciente nº 3 e entre 1,6 e 1,9mg% no paciente nº 7. Parece oportuno salientar que os níveis iniciais e finais de bilirrubina foram iguais no paciente nº 3, e que as oscilações desses níveis, aparentemente, não foram relacionadas ao tempo da colheita do sangue. O paciente nº 7 também mostrou oscilações dos níveis de bilirrubina nas várias colheitas de sangue, com diferença entre os níveis verificados em jejum e após 7h 30min, de apenas 0,3mg%.

Os níveis de bilirrubina total observados no segundo dia da prova, quando se testou o efeito do glucagon endovenoso, mostraram oscilações comparáveis aos observados no dia anterior, os quais serviram como - controle.

TABELA XII - Níveis de bilirrubina total (BT) e valores de glicemia em mg% em dois pacientes com síndrome de Gilbert, em dois dias consecutivos. No segundo dia da prova foi administrado 1 mg de glucagon endovenoso, logo após a colheita da amostra de sangue em jejum.

TEMPO DE COLHEITA DO SANGUE	1º DIA				2º DIA (1 mg glucagon após amostra em jejum)			
	CASO Nº 3		CASO Nº 7		CASO Nº 3		CASO Nº 7	
	BT	Glicemia	BT	Glicemia	BT	Glicemia	BT	Glicemia
Jejum-0h (Alimentação)								
30 min								
1 h 30 min								
2 h 30 min								
(Alimentação)								
3 h 30 min								
4 h 30 min								
5 h 30 min								
(Alimentação)								
6 h 30 min								
7 h 30 min								
	2,2	66	1,6	66	2,4	78	1,9	82
	2,5	85	1,6	46	2,7	132	1,9	103
	2,2	62	1,6	46	2,7	107	2,2	44
	2,2	57	1,6	37	2,4	60	2,4	60
	2,5	72	1,8	70	2,2	92	1,9	89
	2,5	81	1,9	46	2,4	92	2,2	35
	2,5	96	1,9	68	2,7	87	2,2	66
	2,2	94	1,8	44	2,4	110	2,2	57
	2,2	96	1,8	72	2,7	99	2,2	75

IV.4. Influência do glucagon nos níveis de glicemia

Os níveis de glicemia determinados nos indivíduos dos Grupos F e G, durante o teste de glucagon - endovenoso, são apresentados, respectivamente, nas TABELAS XIII e XIV. Nas duas últimas fileiras dessas tabelas foram assinalados os valores médios e os erros das médias.

Considerando que esse teste foi realizado com a finalidade de investigar a elevação dos níveis de glicemia em resposta ao glucagon, foram calculadas as diferenças entre esses níveis antes e, 30, 60 e 120 minutos depois da administração desse hormônio.

Os valores médios e os erros das médias dessas diferenças, observadas nos indivíduos dos dois grupos, são apresentados no quadro abaixo:

Minutos	Grupo F			Grupo G		
	30	60	120	30	60	120
Média	39,36	22,64	4,36	11,64	-12,09	-5,91
Erro da Média	8,21	7,66	5,87	6,95	2,30	1,55

As comparações das distribuições das amostras, segundo os valores das diferenças entre os níveis de glicemia antes e após a administração de glucagon, foram efetuadas partindo da hipótese de que as distribuições teóricas das variáveis obedeciam a uma curva normal.

Tendo em mente que o efeito máximo do glucagon endovenoso, referente à elevação dos níveis de glicemia, se verificou na primeira meia hora do teste, serão mostrados neste trabalho apenas os resultados das com-

parações entre os aumentos desses níveis observados 30 e 60 min após a administração de glucagon.

A distribuição dos pacientes do Grupo G, segundo os valores das diferenças entre os níveis de glicemia antes e após 30 minutos a administração de glucagon foi significativamente diferente daquela apresentada pelos indivíduos do Grupo F ($t_{(19)} = 2,578$) indicando que os pacientes do Grupo G tiveram elevação dos níveis de glicemia menor do que a observada nos indivíduos do Grupo F.

A distribuição dos pacientes do Grupo G, segundo os valores das diferenças entre os níveis de glicemia antes e 60 minutos após a administração de glucagon foi diferente da apresentada pelos indivíduos do Grupo F. De fato, os pacientes do Grupo G e do Grupo F mostraram variâncias diferentes ($F=11,118; G.L.=9;10$). Enquanto que a maioria dos indivíduos do Grupo F mostraram aumento dos níveis de glicemia 60 minutos após a administração de glucagon (em relação às glicemias de jejum), os pacientes do Grupo G apresentaram diminuição desses níveis.

Os níveis de glicemia determinados nos quatro indivíduos do Grupo E, que foram também submetidos a esse teste de glucagon endovenoso, são apresentados na TABELA XV. Por se tratarem de indivíduos que tiveram comportamento heterogêneo frente à prova de restrição calórica, não foram calculados os valores médios nem os erros das médias.

As diferenças entre os níveis de glicemia antes e 30, 60 e 120 minutos depois da administração de glucagon foram as seguintes:

Grupo E Parente nº	30 minutos	60 minutos	120 minutos
2	62	40	- 20
5	48	- 8	- 12
12	82	12	- 12
13	58	12	- 15

Verifica-se, portanto, que o parente nº 5, que apresentou hiperbilirrubinemia após a prova de restrição calórica, (TABELA XI), mostrou diminuição dos níveis de glicemia 60 minutos após a administração de glucagon, do mesmo modo que todos os indivíduos do Grupo G. Por outro lado, os tres parentes que apresentaram bilirrubinemia normal antes e após a prova de restrição calórica (nºs. 2, 12 e 13 do Grupo E), mostraram aumento dos níveis de glicemia 60 minutos após a administração de glucagon, da mesma maneira que 9 dos 11 indivíduos do Grupo contrôle F.

TABELA XIII - Valores de glicemia em mg% dos pacientes do grupo controle F antes e após injeção endovenosa de lmg de glucagon.

CASO Nº	0h	30 minutos	60 minutos	120 minutos
1	83	100	120	105
2	91	129	135	115
3	83	120	158	129
4	83	100	105	93
5	85	109	112	91
6	86	154	120	76
7	94	114	76	82
8	92	188	88	82
9	85	91	87	83
10	98	144	114	86
11	100	164	114	86
MÉDIA	89,1	128,4	111,7	93,4
ERRO DA MÉDIA	1,88	9,24	6,96	4,91

TABELA XIV - Valores de glicemia em mg% dos pacientes do Grupo G antes e após injeção endovenosa de lmg de glucagon.

CASO Nº	0h	30 minutos	60 minutos	120 minutos
1*	94	146	88	82
2*	104	86	78	96
3*	92	126	92	90
6*	102	96	84	98
7*	102	132	95	97
8*	88	66	66	82
1**	86	112	74	80
2**	94	92	88	86
3**	86	90	76	88
4**	96	106	84	96
5**	96	116	82	80
MÉDIA	94,5	106,2	82,4	88,6
ERRO DA MÉDIA	1,91	6,98	2,56	2,16

* pacientes do Grupo A.

** pacientes do Grupo D.

TABELA XV - Valores de glicemia em mg% de quatro indivíduos do Grupo E, antes e após injeção endovenosa de 1mg de glucagon. (Nessa tabela os indivíduos conservam os mesmos números que os identificam nas tabelas V e XI).

Nº	0h	30 minutos	60 minutos	120 minutos
2*	90	152	130	70
5**	94	142	86	82
12*	80	162	92	68
13*	102	160	114	87

* parentes consanguíneos dos casos-índice que manifestaram bilirrubinemia normal antes e após a prova de restrição calórica.

** parente consanguíneo dos casos-índice que apresentou hiperbilirrubinemia após a prova de restrição calórica.

IV.5. Teste de indução enzimática

Os resultados dos testes de indução enzimática, realizados em 8 pacientes do Grupo A e em 3 indivíduos do Grupo D são descritos na TABELA XVI. Todos apresentaram nítida redução dos níveis de bilirrubina após um mes de tratamento com fenobarbital, na dose de 100mg por dia. Com exceção de um paciente (caso-índice nº 10), o qual teve redução da bilirrubina total de 4,5mg% para 1,3mg%, todos os outros apresentaram níveis de bilirrubina total ao final da prova, dentro dos limites normais.

TABELA XVI - Níveis sanguíneos de bilirrubina total (BT), bilirrubina não conjugada (BNC) e bilirrubina conjugada (BC) dos indivíduos dos Grupos A e D, antes e após o teste de indução enzimática.

Nº	ANTES			APÓS			DIFERENÇA		
	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC	BT	BNC	BC
1*	2,2	1,8	0,4	0,8	0,4	0,4	1,4	1,4	0,0
3*	3,2	2,8	0,4	0,9	0,1	0,1	2,3	2,7	0,3
4*	2,3	1,8	0,5	1,0	0,8	0,2	1,3	1,0	0,3
5*	2,7	2,2	0,5	1,0	0,8	0,2	1,7	1,4	0,3
7*	1,5	1,0	0,5	0,5	0,3	0,2	1,0	0,7	0,3
8*	2,5	1,9	0,6	0,6	0,3	0,3	1,9	1,6	0,3
10*	4,5	4,1	0,4	1,3	1,0	0,3	3,2	3,1	0,1
1**	1,2	0,8	0,4	0,8	0,6	0,2	0,4	0,2	0,2
2**	2,8	2,3	0,5	1,0	0,8	0,2	1,8	1,5	0,3
4**	3,4	2,8	0,6	1,1	0,6	0,5	2,3	2,2	0,1

* pacientes do Grupo A.

** pacientes do Grupo D.

IV.6. Estudo das biópsias hepáticas ao microscópio eletrônico.

As seguintes observações foram comuns a todos os casos estudados (casos-índice nºs. 1,3,4,8 e 10):

- preservação das microvilosidades do polo sinusoidal e integridade de suas membranas; (Fig. 2).
- presença de grânulos de lipofuscina nas vizinhanças do polo biliar, de um modo geral em quantidade moderada; (Fig. 3).
- diâmetro normal dos canalículos biliares e preservação das microvilosidades do polo biliar. (Fig. 3).
- retículo endoplasmático rugoso pouco proeminente;
- núcleos de aspecto normal.

Em dois pacientes (casos-índice nº 3 e 10), as mitocôndrias eram de formas alongadas ou tortuosas e um deles (caso-índice nº 2) tinha inclusões filamentosas na matriz mitocondrial (Fig.4). Os demais casos apresentaram mitocôndrias arredondadas, de aspecto normal.

O retículo endoplasmático liso mostrou-se exuberante em apenas um paciente (caso-índice nº 3), porém, ainda dentro dos limites da normalidade. (Fig. 5).

É interessante que a biópsia do caso índice nº 3 seja descrita separadamente, pois foi a que mais alterações mostrou (Fig. 4 e 5): preservação dos polos-sinusoidal e biliar; retículo endoplasmático liso do tipo vesicular, às vezes levemente dilatado; mitocôndrias alongadas e contendo inclusões filamentosas na matriz, em quantidades variáveis e formando feixes; retículo endoplasmático rugoso - levemente dilatado; várias gotas de lipídeo; grânulos de li

pofuscina peri-canalicular em moderada quantidade; núcleos de aspecto normal; certo alargamento dos espaços intercelulares.

FIGURA 2

FIG. 2; caso-índice nº 1. Microvilosidades
no polo vascular dos hepatócitos -
(setas) de aspecto normal.

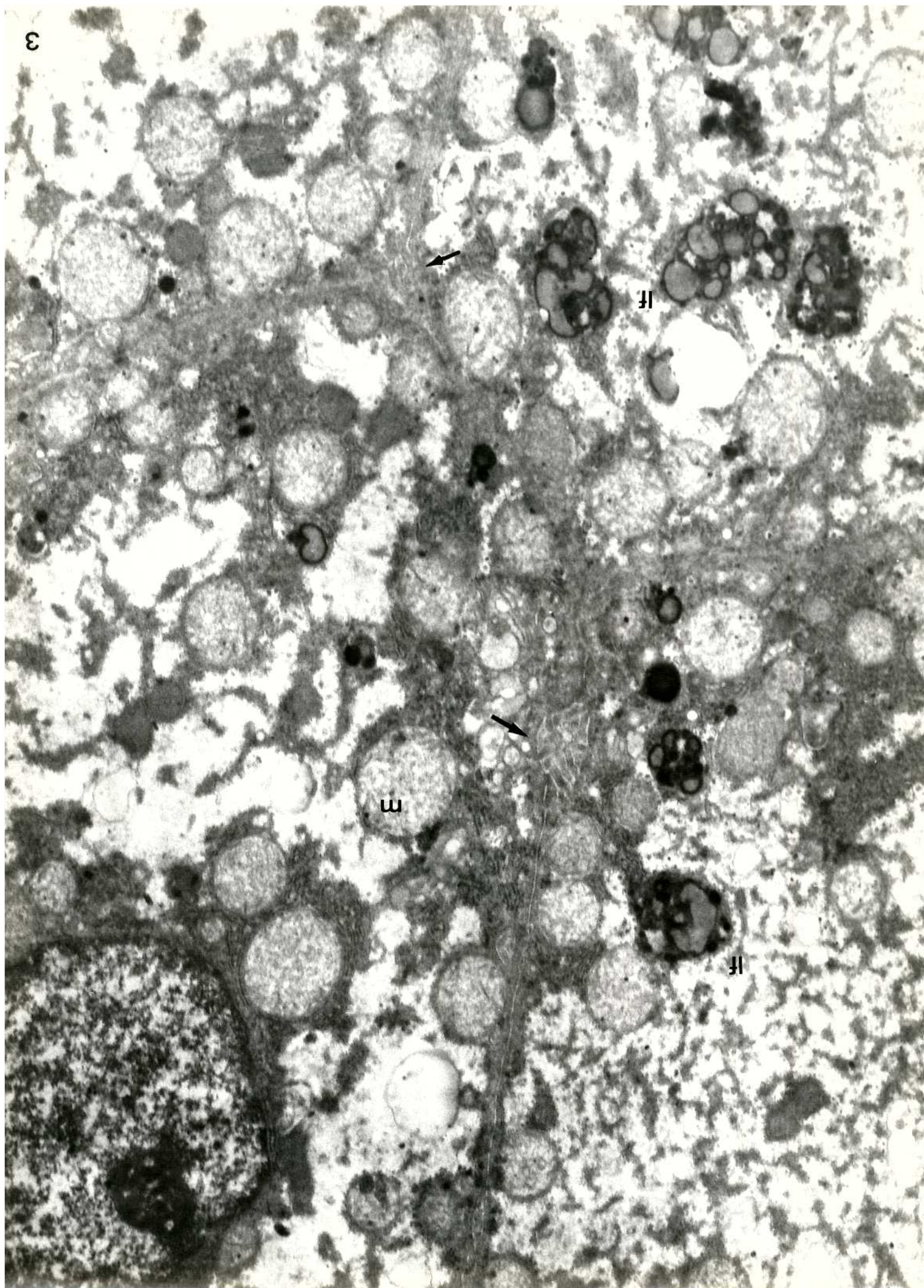
m= mitocôndria, li= gota de lípede,

n= núcleo, h= hemácia. 25.300x.



FIGURA 3

FIG. 3; caso-índice nº 1. Grânulos de lipo-
fuscina (lf) ao redor de canalícu-
los biliares (setas) de aspecto nor-
mal. m= mitocôndria. 15.100x.



(m) Ca^{2+} concentration in the solution was 1.0 mM
 and the pH was 7.0. The solution was stirred
 continuously. The solution was filtered through a
 0.45 μm filter. The solution was then
 analyzed by atomic absorption spectrophotometry.

FIG. 4; caso-índice nº 3. Mitocôndrias (m)
de formas alteradas, algumas com
inclusões filamentosas (x).
eic= espaço intercelular. 42.300 x.

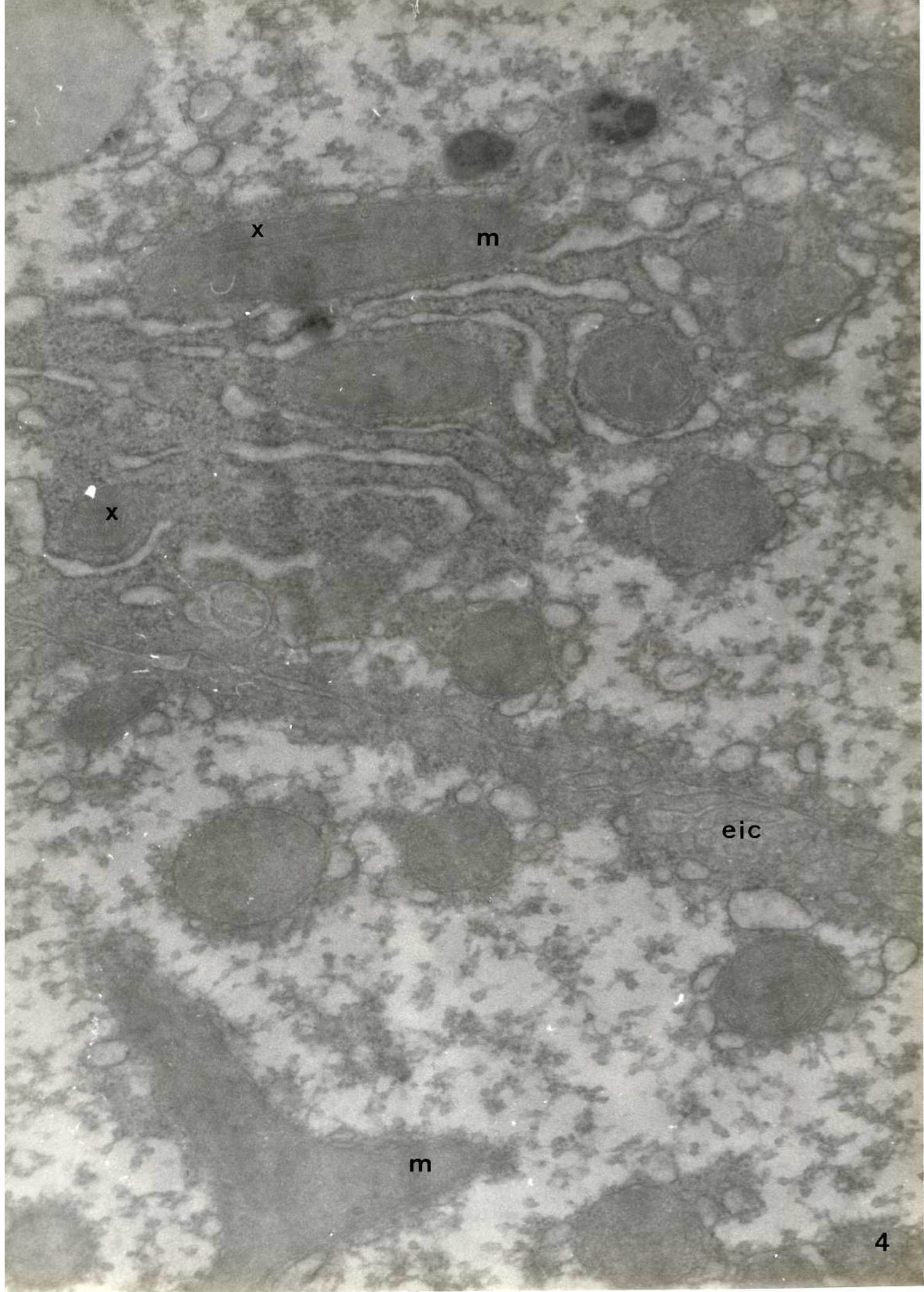


FIGURA 5

FIG. 5; caso-índice nº 3. Algumas alterações ultraestruturais inespecíficas: mito_côndrias (m) tortuosas, retículo endoplasmático liso (REL) vesiculoso e evidente, preservação do polo vascular (seta).
li= gota de lípide. h= hemácia.
13.300x.



V - DISCUSSÃO

Os dados apresentados neste trabalho falam a favor de que a prova de restrição calórica , de simples execução e deprovida de riscos para o paciente, além de contribuir para o diagnóstico da síndrome de Gilbert, é de grande utilidade para o estudo da fisiopatologia da hiperbilirrubinemia que ocorre nessa afecção.

Assim, como pode ser observado na TABELA VII, os pacientes com síndrome de Gilbert, que constituíram os casos-índice do presente trabalho, apresentaram grande aumento dos níveis de bilirrubina total, após a restrição calórica de 24 horas. Esse aumento se verificou, principalmente, em consequência da alteração dos níveis de bilirrubina não conjugada, de acordo com o cálculo do coeficiente de correlação entre os níveis de bilirrubina total e de suas frações. Deve ser assinalado, entretanto, que três pacientes com síndrome de Gilbert (casos-índice n.ºs. 1, 8 e 9) apresentaram, além do aumento dos níveis de bilirrubina não conjugada, nítido aumento dos valores de bilirrubina conjugada.

O aumento absoluto dos níveis de bilirrubina total, isto é, a diferença entre os níveis de bilirrubinemia antes e após a prova de restrição calórica, nesse grupo de pacientes, foi de, no mínimo, 1,3mg%, tendo atingido valores de até 14,8mg%. O aumento dos níveis de bilirrubina não parece relacionado ao nível de bilirrubinemia antes da prova de restrição calórica, como pode ser verificado analisando-se o comportamento dos casos-índice n^{os}. 4 e 9 frente a essa prova. De um modo geral, entretanto, os maiores aumentos dos níveis de bilirrubina, consequentes à restrição calórica, ocorreram nos pacientes com níveis iniciais de bilirrubina mais elevados.

OWENS & SHERLOCK (1973) descreveram dois pacientes com síndrome de Gilbert, com bilirrubinemia normal antes da prova, que apresentaram apenas discreta elevação dos níveis de bilirrubina, quando submetidos à restrição calórica, com valores comparáveis aos encontrados em indivíduos normais. No presente trabalho foi possível verificar que, mesmo os pacientes com bilirrubinemia normal antes da prova apresentaram grande elevação desses níveis, atingindo, após o teste, valores de bilirrubina total não inferiores a 2,7mg% (casos-índice n^{os}. 3, 5 e 9).

Os pacientes do grupo controle B - (indivíduos sem afecções orgânicas) apresentaram discreta elevação dos níveis de bilirrubina em consequência da prova de restrição calórica. A bilirrubina total não atingiu valores maiores do que 1,1mg% após essa prova, com aumento absoluto dos níveis de bilirrubina total de, no máximo, 0,6mg% (TABELA VIII), valores esses, significativamente menores do que os apresentados pelos pacientes com síndrome

de Gilbert.

Com o objetivo de encontrar um parâmetro que pudesse diferenciar os indivíduos normais dos pacientes com síndrome de Gilbert, foi calculado, nos indivíduos do Grupo B, o limite superior do nível de bilirrubina total após a prova de restrição calórica. Assim, - verificou-se que os níveis de bilirrubina total após a prova de restrição calórica nos indivíduos sem afecções orgânicas pode atingir o limite máximo de, aproximadamente, 1,3mg%. Desse modo, quando se excluem outras causas de hiperbilirrubinemia e o paciente investigado apresentar níveis de bilirrubina total superiores a 1,3mg% após a prova de restrição calórica, o autor considera que se pode estabelecer o diagnóstico de síndrome de Gilbert.

A favor dessa conclusão estão os trabalhos de FELSHER, et al. (1970), FELSHER, et al. (1973), OWENS & SHERLOCK (1973), BENSINGER et al. (1973) e FELSHER & CARPIO (1975), já que neles também se assinalou a importância da prova de restrição calórica no diagnóstico diferencial entre indivíduos normais e pacientes com síndrome de Gilbert. Contra essa conclusão, entretanto, estão os trabalhos de BARRET (1971), BLOOMER, et al., (1971) e DAVIDSON et al. (1975), os quais identificaram respostas semelhantes entre os indivíduos normais e os pacientes com síndrome de Gilbert.

Uma das explicações para as discrepâncias desses resultados talvez seja a falta de padronização da dieta e do tempo de restrição calórica. Assim, nas publicações mencionadas no parágrafo anterior verifica-se - que a duração da prova de restrição calórica variou de 24

até 72 horas e a composição da dieta não foi bem definida, sendo apenas descrita como contendo 400 calorias ou menos.

No presente trabalho o autor procurou simplificar e padronizar essa prova, estabelecendo o período de 24 horas em regime de restrição calórica, durante o qual foi proibida a ingestão de qualquer tipo de alimento, a não ser as 100 gramas de dextrosol, que fornecem 400 calorias nas 24 horas. Isso facilitou o controle da ingestão calórica, não sendo necessária a internação do paciente em hospital dotado de recursos para fiscalização da dieta.

O diagnóstico diferencial entre síndrome de Gilbert e algumas formas de hepatopatia crônica - pode, em alguns casos, ser difícil de ser estabelecido, especialmente quando os pacientes com hepatopatia crônica manifestam icterícia discreta ou intermitente, com eventual predomínio de bilirrubina não conjugada, além de apresentarem respostas consideradas normais ou pouco alteradas nas provas rotineiras de função hepática. Nesses casos, muitas vezes, há a necessidade de submeter o paciente à biópsia hepática para definição do diagnóstico.

Com a intenção de verificar se a prova de restrição calórica poderia contribuir para o diagnóstico diferencial entre essas duas afecções, foi investigado um grupo selecionado de pacientes com hepatopatia crônica, sem evidências de grave insuficiência hepática e com níveis de bilirrubinemia que não eram significativamente diferentes dos apresentados pelos pacientes com síndrome de Gilbert.

Com base na análise dos resultados a presentados nas TABELAS VII e IX, foi possível demonstrar que o grupo de pacientes com hepatopatia crônica (Grupo C) mostrou aumento absoluto dos níveis de bilirrubina total após a prova de restrição calórica significativamente menor do que o observado nos pacientes com síndrome de Gilbert (Grupo A).

Entretanto, quando se analisou o com portamento individual dos pacientes com hepatopatia crôni ca, verificou-se que, em alguns dos casos, essa prova não permitiu estabelecer o diagnóstico diferencial entre essas duas afecções. Assim, os pacientes números 2 e 3 do Grupo C apresentaram aumento absoluto dos níveis de bilirru rubina total de, respectivamente, 0,7mg% e 0,8mg%, valores esses, inferiores aos observados nos pacientes do Gru po A, mas que, isoladamente, poderiam ser confundidos com os observados nos pacientes com síndrome de Gilbert.

Os outros pacientes com hepatopatia crônica estudados não apresentaram alterações significati vas dos níveis de bilirrubina, quando submetidos à prova de restrição calórica. Assim, os pacientes números 1,4, 5 e 6 do Grupo C, tiveram aumento dos níveis de bilirrubina total entre zero e 0,1mg%. Esse tipo de resposta não dependeu do nível inicial de bilirrubinemia, visto que, es ses quatro pacientes apresentaram antes da prova de res - trição calórica, valores desde 0,6mg% até 2,2mg%.

Com base nos dados apresentados no pre sente trabalho é possível, portanto, admitir, que a prova de restrição calórica permite diferenciar os pacientes com

hepatopatia crônica dos pacientes com síndrome de Gilbert somente quando os primeiros não apresentarem aumento absoluto dos níveis de bilirrubina total maiores do que 0,1mg%.

A importância prática dessa observação parece ser evidente, por possibilitar excluir, em alguns casos, o diagnóstico de síndrome de Gilbert, mesmo sem a necessidade de submeter o paciente à biópsia hepática.

É necessário, entretanto, interpretar com cautela os resultados dessa prova, porque os níveis de bilirrubina dos pacientes com hepatopatia podem sofrer oscilações dependentes da própria evolução da doença hepática e, portanto, não obrigatoriamente relacionadas à dieta hipocalórica.

OWENS & SHERLOCK (1973) também encontraram comportamento diferente entre os pacientes com síndrome de Gilbert e pacientes com moléstias hepáticas, no que concerne à prova de restrição calórica. Entretanto, o grupo estudado por esses autores era heterogêneo, incluindo pacientes com cirrose hepática, hepatite a vírus, esteatose e síndrome de Dubin-Johnson, não se prestando, portanto, para conclusões em relação ao valor dessa prova no diagnóstico diferencial.

A prova de restrição calórica realizada no grupo de parentes consanguíneos dos casos-índice que também manifestaram hiperbilirrubinemia (Grupo D, TABELA X) mostrou resultados que não foram significativamente diferentes dos apresentados pelos pacientes com síndrome de Gilbert (Grupo A). Os indivíduos do Grupo D apresen-

taram nítido aumento dos níveis de bilirrubina após a prova de restrição calórica, atingindo valores de bilirrubina total de, no mínimo, 2,1mg% e com aumento absoluto dos níveis de bilirrubina total de, no mínimo, 0,7mg%. É oportuno lembrar que a hiperbilirrubinemia manifestada pelos indivíduos desse grupo decorria do aumento de bilirrubina não conjugada, e que a alteração dos níveis de bilirrubina total consequente à dieta carencial estava relacionada principalmente aos níveis de bilirrubina não conjugada.

Esses resultados, aliados aos dados - sobre os antecedentes familiares e à ausência de evidências clínicas ou laboratoriais de outro tipo de comprometimento hepático, permitiu estabelecer o diagnóstico de síndrome de Gilbert nos indivíduos de Grupo D.

A análise do comportamento dos parentes consangüíneos dos casos-índice que manifestaram bilirrubinemia normal (TABELA XI), frente à prova de restrição calórica, permitiu identificar, em alguns deles, respostas semelhantes às encontradas nos pacientes com síndrome de Gilbert. Isso ocorreu, nitidamente, em cinco indivíduos do Grupo E (parente n^{os}. 1, 3, 6, 10 e 11), os quais apresentaram, após a prova de restrição calórica, níveis de bilirrubina total entre 1,7mg% e 3,2mg%, com aumento absoluto dos níveis de bilirrubinemia entre 0,6mg% e 2,1mg%, o que possibilitou classificá-los como manifestando síndrome de Gilbert.

Dois indivíduos desse grupo (parentes n^{os}. 6 e 7) apresentaram, após a prova de restrição calórica, 1,3mg% de bilirrubina total, nível esse, maior do que

o encontrado nos indivíduos sem afecções orgânicas, mas no limite superior esperado nesse grupo. Esses parentes, então, receberam o diagnóstico provável de síndrome de Gilbert.

Os outros indivíduos do Grupo E apresentaram, frente à essa prova, comportamento igual ao dos indivíduos sem afecções orgânicas, podendo ser considerados como indivíduos que, seguramente, não manifestam a síndrome de Gilbert.

Esses resultados sugerem que só é possível afastar o diagnóstico de síndrome de Gilbert entre os familiares dos pacientes com essa afecção, após a realização da prova de restrição calórica.

Mais uma evidência de que os parentes consanguíneos dos casos-índice, que também manifestaram - hiperbilirrubinemia, podem, realmente, ser considerados como pacientes com síndrome de Gilbert, foi demonstrada pelo teste de indução enzimática. De fato, a TABELA XVI mostra que a nítida redução dos níveis de bilirrubina, apresentada pelos pacientes com síndrome de Gilbert (Grupo A) tratados com fenobarbital, foi também verificada nos tres indivíduos do Grupo D.

Antes de iniciar a discussão dos resultados da análise familiar, parece interessante comentar - que dois dos pacientes do Grupo A (casos-índice nºs. 8 e 10) apresentaram, em algumas ocasiões, níveis de bilirrubina - total de até 7,5mg%, sendo que, em um deles (paciente nº 8), o nível de bilirrubinemia total atingiu o valor de 19,2mg% após a prova de restrição calórica. Tais valores, de acôr-do com os critérios de FROMKE & MILLER (1973), HUNTER et al.

(1973) e GOLLAN et al. (1975), seriam encontrados nos pacientes com síndrome de Crigler-Najjar tipo II.

A observação desses dois pacientes e de seus familiares por tempo prolongado, e a análise do comportamento deles frente aos testes utilizados no presente trabalho, parecem indicar que a separação entre essas duas síndromes de deficiência parcial de glicuronil transferase hepática é apenas artificial e arbitrária.

De fato, esses dois pacientes apresentaram redução dos níveis de bilirrubina em resposta ao tratamento com fenobarbital e aumento desses níveis em resposta à prova de restrição calórica, do mesmo modo que os outros pacientes do Grupo A.

ARIAS (1962) e GOLLAN et al. (1975) - também assinalaram que os pacientes com síndrome de Crigler-Najjar tipo II apresentaram o mesmo tipo de resposta que os pacientes com síndrome de Gilbert, em relação à terapêutica com fenobarbital e à prova de restrição calórica.

O estudo da hereditariedade da síndrome de Gilbert baseou-se na análise dos heredogramas das genealogias das 10 famílias investigadas.

É oportuno recordar que o diagnóstico de síndrome de Gilbert foi estabelecido nos indivíduos que apresentaram hiperbilirrubinemia do tipo não conjugado, na ausência de evidências clínicas e laboratoriais de outra moléstia e que, em alguns dos pacientes, a hiperbilirrubinemia somente foi detectada após a prova de restrição calórica. Deve-se também recordar que, de acordo com os dados obtidos no capítulo dos resultados, foi estabelecido o nível de 1,3mg% como limite superior da normalidade, quer em

condições habituais, quer após a prova de restrição calórica.

Apesar de ter sido impossível realizar a prova de restrição calórica em todos os membros das irmandades estudadas, os dados apresentados neste trabalho são bastante sugestivos de que a herança de síndrome de Gilbert é monogênica autossômica, com penetrância completa.

De fato, além dos 10 pacientes com síndrome de Gilbert que constituíram os casos-índice do presente trabalho, foram identificados mais 14 irmãos com essa síndrome, cinco dos quais diagnosticados apenas quando submetidos à prova de restrição calórica, visto que, antes dela, esses cinco indivíduos apresentaram níveis normais de bilirrubina.

Entre os 13 irmãos que foram considerados normais, isto é, que não manifestaram a síndrome de Gilbert, apenas 4 concordaram em ser submetidos à prova de restrição calórica. Os resultados dessa prova permitiram afirmar que esses 4 indivíduos seguramente não manifestaram a síndrome de Gilbert. Se tivesse sido possível, entretanto, realizar a prova de restrição calórica em todos os membros das irmandades, o número de indivíduos com síndrome de Gilbert talvez pudesse ser maior do que o descrito neste trabalho.

O estudo dos heredogramas das genealogias apresentadas mostra que em oito famílias (n^{os}. II, III, IV, V, VI, VII, IX e X, fig.1), um dos genitores, seguramente, manifestava a síndrome de Gilbert, sendo que dois desses genitores (famílias n^{os}. III e V) foram diagnosticados apenas

após a prova de restrição calórica.

Nas outras duas famílias (n^{os}. I e VII), ambos os genitores apresentaram bilirrubinemia normal, em condições habituais. Com base nos dados apresentados neste trabalho, é possível esperar que, se os genitores dessas duas famílias fossem submetidos à prova de restrição calórica, a identificação do genitor que manifesta a síndrome de Gilbert seria conhecida.

Se for confirmada a sugestão aqui oferecida de que a herança da síndrome de Gilbert é monogênica autossômica, fica demonstrado que, realmente, o efeito primário do gene responsável pela síndrome é a deficiência parcial da enzima glicuronil transferase hepática, verificada em biópsia de fígado por BLACK & BILLING (1969), FELSHER, et al. (1973) e BELLET & RAYNAUD (1974). Isso porque, atualmente, parece indiscutível que o efeito primário dos genes é a síntese de cadeias polipeptídicas que constituem as proteínas estruturais ou as enzimas necessárias aos processos bioquímicos responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção da atividade vital dos seres vivos (BEIGUELMAN, 1975).

O mecanismo do aumento dos níveis de bilirrubina em consequência à prova de restrição calórica ainda não está esclarecido. BLOOMER et al. (1971), baseando-se na demonstração de aumento da produção de monóxido de carbono durante o jejum, concluíram que a hiperbilirrubinemia que ocorre após a restrição calórica seria devida ao aumento do catabolismo do heme.

Essa hipótese encontrou apoio nos trabalhos experimentais, realizados em ratos, por BAKKEN, et al. (1972), os quais demonstraram estímulo da enzima hemo

-oxigenase hepática pelo glucagon. Esse hormônio é liberado após curtos períodos de jejum e, a hemo-oxigenase hepática, aumentando o catabolismo do heme, poderia explicar a hiperbilirrubinemia do tipo não conjugado e o aumento concomitante da produção de monóxido de carbono.

Com a intenção de testar essa hipótese, foi administrado 1mg de glucagon endovenoso a dois pacientes com síndrome de Gilbert (casos-índice n^{os} 3 e 7), com o cuidado de mantê-los com alimentação normal durante essa prova, a fim de impedir alteração do metabolismo da bilirrubina relacionada à ingestão calórica (TABELA XII). Apesar de os pacientes terem apresentado discreta elevação dos níveis de bilirrubinemia, 7 horas e 30 minutos após a administração de glucagon, a variação dos níveis de bilirrubina foi semelhante à observada no dia anterior, quando foram obedecidas as mesmas condições experimentais, na ausência de glucagon.

Além disso, os testes de glucagon realizados em 11 indivíduos sem afecções orgânicas (Grupo F) e em 10 pacientes com síndrome de Gilbert (Grupo G) não provocaram alteração dos níveis de bilirrubinemia durante as 5 horas do teste.

As observações do autor sugerem, portanto, que a elevação dos níveis de bilirrubinemia que ocorre durante a prova de restrição calórica não é uma consequência do efeito do glucagon. De fato, estudos recentes parecem indicar que o estímulo da hemo-oxigenase hepática não poderia explicar o aumento da bilirrubina não conjugada no plasma, visto que essa enzima aumenta so

mente a produção de bilirrubina endógena hepática, a qual é excretada diretamente para a bile, sem passar para o plasma (BISSEL, 1975).

A hipótese descrita por BLOOMER et al. (1971) foi, também, contestada por BENSINGER et al. (1973), os quais não encontraram aumento da produção de monóxido de carbono durante a prova de restrição calórica, e por OWENS & SHERLOCK (1973), que não conseguiram encontrar evidências de hemólise quando os pacientes com síndrome de Gilbert eram submetidos à dieta carencial.

Outra hipótese que poderia ser aventada para explicar o mecanismo da elevação da bilirrubinemia durante a prova de restrição calórica seria a diminuição da atividade da enzima glicuronil transferase hepática consequente à dieta hipocalórica. Parece pouco provável, entretanto, que a restrição calórica durante um período tão curto quanto 24 horas seja suficiente para alterar a atividade de uma enzima. De fato, apesar de OWENS & SHERLOCK (1973) terem encontrado diminuição da atividade dessa enzima em ratos mantidos em jejum, FELSHER, et al. (1973) demonstraram que, em pacientes com síndrome de Gilbert, a prova de restrição calórica não provocou alteração da atividade da glicuronil transferase hepática, determinada em biópsias hepáticas realizadas antes e após essa prova. BLOOMER et al. (1971) chegaram à mesma conclusão - baseados em estudos de depuração de bilirrubina.

Uma hipótese que deve ser considerada é a de que a restrição calórica poderia ocasionar alteração no metabolismo de hidratos de carbono, com comprom

timento da via do ácido glicurônico e, portanto, da conjugação da bilirrubina. Nos pacientes com síndrome de Gilbert que apresentam deficiência parcial da enzima responsável pela conjugação da bilirrubina, uma diminuição do fornecimento do substrato (ácido glicurônico) poderia provocar - uma redução da conjugação muito mais acentuada do que a que ocorreria em indivíduos com atividade da glicuronil transferase adequada.

Com o objetivo de contribuir para o estudo do metabolismo dos hidratos de carbono em pacientes com síndrome de Gilbert, foram analisados, no presente trabalho, o efeito do glucagon nos níveis de glicemia em pacientes com essa síndrome e em indivíduos sem afecções orgânicas.

A ação mais conhecida do glucagon é a relacionada ao estímulo da glicogenólise hepática, com - conseqüente aumento dos níveis de glicemia (VAN ITALLIE, 1956; SOKAL, 1966; BLOOM, 1975). Em indivíduos normais, o aumento máximo dos níveis de glicemia ocorre 20 a 30 minutos após a administração de 1mg de glucagon endovenoso (KUMAR, et al. 1974) enquanto que, em pacientes com comprometimento hepático, a elevação dos níveis de glicemia é significativamente menor do que nos indivíduos normais (VAN ITALLIE & BENTLEY, 1955; KINALKA & RIMER, 1975).

No presente trabalho, a administração de 1mg de glucagon endovenoso nos pacientes com síndrome de Gilbert (Grupo G), ocasionou, após 30 e 60 minutos, aumento absoluto dos níveis de glicemia, significativamente menor que o observado no grupo controle, composto por indivíduos sem afecções orgânicas (Grupo F). Além disso, a aná

lise do comportamento dos pacientes do Grupo G frente a essa prova mostrou que, em quatro indivíduos (casos-índice - nºs. 2, 6 e 8 e parente nº 2 do Grupo D, TABELA XIV), houve, ao contrário do que ocorreu nos indivíduos normais, diminuição dos níveis de glicemia 30 minutos após a administração de glucagon.

É interessante comentar também os resultados dos testes de glucagon realizados em quatro parentes consanguíneos dos casos-índice, que manifestaram bilirrubinemia normal. Como pode ser visto na TABELA XV, todos esses parentes apresentaram elevação dos níveis de glicemia 30 minutos após administração de glucagon, e, apenas o parente nº 5, mostrou diminuição desses níveis em relação aos níveis de jejum, 60 minutos após administração do hormônio. Esse parente foi o único desse grupo que apresentou hiperbilirrubinemia após a prova de restrição calórica, sendo considerado como tendo síndrome de Gilbert. Os outros três parentes investigados, seguramente não manifestavam a síndrome de Gilbert, visto que o resultado da prova de restrição calórica foi igual ao dos indivíduos sem afecções orgânicas.

Não parece provável que a menor elevação dos níveis de glicemia em resposta ao glucagon endovenoso, apresentada pelos pacientes com síndrome de Gilbert, seja consequente a depleção de glicogênio hepático, visto que as biópsias hepáticas dos pacientes com síndrome de Gilbert mostraram quantidades aparentemente normais de glicogênio hepático. Além disso, não deve ser esperado que os pacientes com síndrome de Gilbert apresentem mais um defeito genético, além da deficiência parcial de glicuronil transferase hepática.

O autor acredita que estudos sobre o metabolismo dos hidratos de carbono, e, em última análise, sobre o metabolismo energético dos pacientes com síndrome de Gilbert devem ser realizados a fim de esclarecer a fisiopatologia da hiperbilirrubinemia que ocorre nessa afecção em resposta a restrição calórica. As relações entre a via de administração de calorias e o metabolismo da bilirrubina, evidenciadas nos trabalhos de BARRETT (1975) e GOLLAN et al. (1975), também necessitam estudos adicionais.

Resta finalmente, tecer algumas considerações em relação aos resultados do estudo da ultra-estrutura do fígado dos pacientes com síndrome de Gilbert.

Em todos os cinco casos examinados no presente trabalho, o polo vascular do hepatócito foi de aspecto normal à microscopia eletrônica, não sendo, portanto, encontradas as alterações das microvilosidades dessa região de célula hepática, descritas por alguns autores em pacientes com síndrome de Gilbert (SIMON & VARONIER, 1963; MINIO et al., 1966; MAGNENAT & MINIO PALUELLO, 1967; PONTES et al., 1973).

Não foi também encontrado no presente estudo, aumento do retículo endoplasmático liso, considerado como alteração característica da célula hepática na síndrome de Gilbert por SHAFF et al., 1969 e por MCGEE et al., 1975. Em apenas um dos pacientes estudados, o retículo endoplasmático liso foi aparentemente mais exuberante, mas ainda dentro dos limites da normalidade. Deve ser assinalado que as alterações dessa organela citoplasmática - são de difícil interpretação, tendo em vista suas possíveis

is variações morfológicas (JEZEQUEL et al., 1974) e sua distribuição irregular dentro do hepatócito (MA & BIEMPICA, 1971).

Alguns autores (MUGNAINI, 1964; MINIO et al., 1966; MAGNENAT & MINIO PALUELLO, 1967; FELDMAN, et al., 1968; SCHAFF et al., 1969 e 1974; BROUSSE - SLABODSKY et al., 1974), dão grande importância à presença de mitocôndria grandes, de formas bizarras e contendo inclusões cristalinas na sua matriz. Essas alterações foram observadas em um dos casos estudados no presente trabalho, sendo que outro paciente apresentou somente alteração na forma e tamanho das mitocôndrias. Apesar dessas inclusões terem sido descritas em indivíduos normais por alguns autores (WILLS, 1965, MA & BIEMPICA, 1971) outros consideram-nas achados francamente patológicos. (BHAGWAT et al., - 1972).

O pequeno aumento na quantidade de lipofuscina peri-canalicular visto em todos os casos examinados já havia sido relacionado à síndrome de Gilbert em trabalhos anteriores (MINIO et al., 1966; MAGNENAT & MINIO PALUELLO, 1967; BARTH et al., 1971).

Todas essas alterações na ultra-estrutura do fígado são de natureza ainda muito discutida, podendo aparecer também, em outras doenças hepáticas (MUGNAINI, 1964; BRITO et al., 1966; OUDÉA et al., 1967; RUFFOLO & CONINGTON, 1967; STENGER, 1970; BHAGWAT & ROSS, 1971), não devendo, portanto, ser consideradas como relacionadas à fisiopatologia da síndrome de Gilbert.

VI - CONCLUSÕES

O presente trabalho permite assinalar as seguintes conclusões:

- 1 - A prova de restrição calórica, realizada segundo o método proposto pelo autor, é importante para o diagnóstico da síndrome de Gilbert, visto que:
 - a) - Os pacientes com síndrome de Gilbert apresentam considerável aumento dos níveis de bilirrubinemia quando submetidos a essa prova, atingindo valores de bilirrubina total significativamente mais elevados do que 1,3 mg%, mesmo quando os pacientes apresentavam bilirrubinemia normal antes da prova. Esse aumento decorre, principalmente, da alteração nos níveis da bilirrubina não conjugada.
 - b) - Os indivíduos sem afecções orgânicas apresentam discreto aumento dos níveis de bilirrubinemia quando submetidos à prova de restrição calórica, podendo a bilirrubina total aumentar até o limite máximo de 1,3 mg%.
 - c) - A prova de restrição calórica permite o diagnóstico diferencial entre os pacientes com síndrome de

Gilbert e os pacientes com hepatopatia crônica, apenas quando os últimos apresentarem aumento absoluto da bilirrubinemia igual ou menor do que 0,1 mg%.

d) - A prova de restrição calórica permite firmar o diagnóstico de síndrome de Gilbert nos parentes consangüíneos dos pacientes com essa síndrome, que manifestam hiperbilirrubinemia não conjugada.

e) - A prova de restrição calórica possibilita, também, rastrear os casos de síndrome de Gilbert entre os parentes consangüíneos dos pacientes com essa síndrome, que manifestam, em condições habituais, níveis normais de bilirrubinemia.

2 - O estudo dos heredogramas das genealogias das 10 famílias dos pacientes com síndrome de Gilbert sugere fortemente que essa síndrome é transmitida de modo monogênico autossômico, tendo o gene responsável por essa condição penetrância completa desde que averiguado por intermédio da prova de restrição calórica.

3 - A administração endovenosa de glucagon em pacientes com síndrome de Gilbert e em indivíduos sem afecções orgânicas não ocasiona elevação significativa dos níveis de bilirrubinemia. Dessa maneira, a alteração no metabolismo da bilirrubina, que ocorre durante a prova de restrição calórica, não parece estar relacionada ao efeito do glucagon.

4 - Os pacientes com síndrome de Gilbert apresentam menor elevação dos níveis de glicemia em consequência à administração endovenosa de glucagon, quando comparados com os indivíduos sem afecções orgânicas. Essa alteração não parece decorrente de diminuição do glicogê -

nio hepático.

- 5 - Os pacientes com síndrome de Gilbert não apresentam alterações hepáticas ultra-estruturais de importância para o diagnóstico dessa condição.

BIBLIOGRAFIA

- ACOCELLA, G.; NICOLIS, F.B. & TENCONI, L.T. Effect of intravenous infusion of rifamycin SV on excretion of bilirubin, bromosulphalein, and indocyanine green in man. Gastroenterology, 49:521-525, 1965.
- ALWALL, N. On hereditary non-hemolytic bilirubinemia. Acta Med. Scand., 123:560-595, 1946.
- ALWALL, N.; LAURELL, C.B. & NILSBY, I. Studies on heredity in cases of "non-hemolytic bilirubinemia without direct Van den Bergh reaction" (hereditary, non-hemolytic bilirubinemia) Acta Med. Scand., 124:114-125, 1946.
- ARIAS, I.M. Chronic unconjugated hyperbilirubinemia without overt signs of hemolysis in adolescents and adults. J. Clin. Invest., 41:2233-2245, 1962.
- ARIAS, I.M. Transfer of bilirubin from blood to bile. Semin. Hematol., 9:55-70, 1972.
- ARIAS, I.M.; GARTNER, L.M.; COHEN, M.; EZZER, J.B. & LEVI, A.J. Chronic nonhemolytic unconjugated hyperbilirubinemia with glucuronyl transferase deficiency. Clinical, biochemical, pharmacologic and genetic evidence for heterogeneity. Am. J. Med., 47:395-409, 1969.
- BAKKEN, A.F.; THALER, M.M. & SCHMID R. Metabolic regulation

- of heme catabolism and bilirubin production-I. Hormonal control of hepatic heme oxygenase activity. J. Clin. Invest., 51:530-536, 1972.
- BAROODY, W.G. & SHUGART, R.T. Familial nonhemolytic icterus. Am. J. Med., 20:314-316, 1956.
- BARRETT, P.V.D. Hyperbilirubinemia of fasting. JAMA, 217: 1349-1353, 1971.
- BARRETT, P.V.D. Effects of caloric and non caloric materials in fasting hyperbilirubinemia. Gastroenterology, 68:361-369, 1975.
- BARRETT, P.V.D.; BERK, P.D.; MENKEN, M. & BERLIN, N.I. Bilirubin turnover studies in normal and pathologic states using bilirubin 14_C . Ann. Intern. Med., 68:355-377, 1968.
- BARTH, R.F.; CRIMLEY, P.M.; BERK, P.D.; BLOOMER, R.J. & HOWE, R.B. Excess lipofuscin accumulation in constitutional hepatic dysfunction (Gilbert's syndrome). Arch. Pathol. 91: 41-47, 1971.
- BEIGUELMAN, B. Dinâmica dos genes nas populações e nas famílias. Edart, Livraria Editôra (São Paulo), 1968, 212 p.
- BEIGUELMAN, B. A transmissão hereditária dos caracteres. Publicação mimeografada. UNICAMP, 1975. 70 p.
- BELLET, H. & RAYNAUD, A. An assay of bilirubin UDP-glucuronyl transferase on needle-biopsies applied to Gilbert's syndrome. Clin. Chim. Acta., 53:51-55, 1974.
- BENSINGER, T.A.; MAISELS, M.J.; CARLSON, D.E. & CONRAD, M.E. Effect of low caloric diet on endogenous carbon monoxide production: normal adults and Gilbert's syndrome. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 144:417-419, 1973.
- BERK, P.D. & BLASCHKE, T.F. Detection of Gilbert's syndrome in patients with hemolysis: a method using radioactive

- chromium. Ann. Intern. Med., 77:527-531, 1972.
- BERK, P.D., BLASCHKE, T.F. & WAGGONER, J.G. Defective bromosulfophalein clearance in patients with constitutional hepatic dysfunction (Gilbert's syndrome). Gastroenterology, 63:472-481, 1972.
- BERK, P.D.; BLOOMER, J.R.; HOWE, R.B. & BERLIN, N.I. Constitutional Hepatic Dysfunction (Gilbert's Syndrome) A new definition based on kinetic studies with unconjugated radiobilirubin. Am. J. Med., 49:296-305, 1970.
- BHAGWAT, A.G. & ROSS, R.C. Hepatic intra mitochondrial crystalloids. Arch. Pathol., 91:70-79, 1971.
- BHAGWAT, A.G.; ROSS, R.C. & CURRIE, D.J. Ultrastructure of normal human liver. Arch. Pathol., 93:227-239, 1972.
- BILLING, B.H.; WILLIAMS, R. & RICHARDS, T.G. Defects in hepatic transport of bilirubin in congenital hyperbilirubinemia: an analysis of plasma bilirubin disappearance curves. Clin. Sci., 27:245-257, 1964.
- BISSELL, D.M. Formation and elimination of bilirubin. Gastroenterology, 69:519-538, 1975.
- BLACK, M. & BILLING, B.H. Hepatic bilirubin UDP-glucuronyl transferase activity in liver disease and Gilbert's syndrome. New Engl. J. Med., 280:1266-1271, 1969.
- BLACK, M. & SHERLOCK, S. Treatment of Gilbert's syndrome with phenobarbitone. Lancet, 1:1359-1362, 1970.
- BLOOM, S.R. Glucagon. Brit. J. Hosp. Med., 13:150-158, 1975.
- BLOOMER, J.R.; BARRET, P.V.; RODKEY, F.L. & BERLIN, N. I. Studies on the mechanism of fasting hyperbilirubinemia. Gastroenterology, 61:479-487, 1971.
- BLOOMER, J.R.; BERK, P.D. & VERGALLA, J. Influence of albumin

- on the hepatic uptake of unconjugated bilirubin. Am. J. Physiol., 225:497-507, 1973.
- BOLT, R.J.; DILLON, R.S. & POLLARD, H.M. Interference with bilirubin excretion by gall-bladder dye (bunamodyl). New Eng. J. Med., 265:1043-1045, 1961.
- BRITO, THALES DE; BORGES, M.A. & SILVA, L.C. Electron microscop copy of the liver in non hemolytic acholuric jaundice with Kernicterus (Crigler - Najjar) and in Idiopathic conjugated hyperbilirubinemia (Rotor). Gastroenterologia (Basel) 106: 325-335, 1966.
- BROUSSE-SLABODSKY, N.; FELDMANN, G.; BROUSSE, J. & DREYFUS, P. Étude stéréologique de la fréquence des mitochondries géantes hépatiques dans la maladie de Gilbert. Comparaison avec le sujet normal. Biol. Gastroenterol (Paris), 7:179-186, 1974.
- COX, R.P., FOLTZ, E.L., RAYMOND, S. & DREWYER, R. Novobiocin jaundice. New Engl. J. Med., 261:139-141, 1959.
- CRIGLER, JR., J.F.; & NAJJAR, V.A. Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus. Pediatrics., 10:169-179, 1952.
- DAMESHEK, W. & SINGER, K. Familial non-hemolytic jaundice. Arch. Intern. Med., 67:259-285, 1941.
- DAVIDSON, A.R.; ROJAS-BUENO, A.; THOMPSON, R.P.H. & WILLIAMS, R. Reduced coloric intake and nicotinic provocation tests in the diagnosis of Gilbert's syndrome. Br. Med. J., 2:480, 1975.
- FELDMANN, G., OUDÉA, P.; DOMART-OUDEA, M.C.; MOLAS, G. & FAUVERT, R. L' ultrastructure hépatique au cours de la maladie de Gilbert. Pathol. Biol. (Paris), 16:943-953, 1968.

- FELLINGER, K. & PFLEGER, R. Zur physiologie and pathologie der bilirubinamie. Wien. Arch. Inn. Med., 26:321-340, 1935.
- FELSHER, B.F. & CARPIO, N.M. Caloric intake and unconjugated hyperbilirubinemia. Gastroenterology, 69:42-47, 1975.
- FELSHER, B.F.; CRAIG, J.R. & CARPIO, N. Hepatic bilirubin glucuronidation in Gilbert's syndrome. J. Lab. Clin. Med., 81:829-836, 1973.
- FELSHER, B.F.; RICKARD, D. & REDEKER, A.G. The reciprocal relation between caloric intake and the degree of hyperbilirubinemia in Gilbert's syndrome. New Eng. J. Med., 4:170-172, 1970.
- FOULK, W.T.; BUTT, H.R.; OWEN JR., C.A.; WHITCOMB, F.F. & MASON, H.L. Constitutional hepatic dysfunction (Gilbert's disease): its natural history and related syndromes. Medicine (Baltimore) 38:25-46, 1959.
- FROMKE, V.L. & MILLER, D. Constitutional hepatic dysfunction (CHD; Gilbert's Disease); a review with special reference to a characteristic increased and prolongation of the hyperbilirubinemic response to nicotinic acid. Medicine (Baltimore) 51:451-464, 1972.
- GILBERT, CASTAIGNE & LEREBOULET (1900) - apud: GILBERT & LEREBOULET, 1901.
- GILBERT, A., & HERSCHER, M. Sur les variations de la cholestémie physiologique. Presse Méd., 14:209-211, 1906.
- GILBERT, A. & LEREBOULET, P. La cholestémie simple familiale. Sem. Med. (Paris), 21:241-243, 1901.
- GILBERT, A., LEREBOULET, P. & HERCHER, M. Les trois cholestémies congénitales. Bull. Soc. Med. Hop. Paris, 24:1203-1211, 1907.

- GOLLAN, J.L.; HUANG, S.N.; BILLING, B. & SHERLOCK, S.
Prolonged survival in three brothers with severe
type 2 Crigler-Najjar syndrome - Ultrastructural and
metabolic studies. Gastroenterology, 68:1543-1555,
1975.
- GRONWALL, R.R., & MIA, A.S. Effect of starvation on
bilirubin metabolism in the horse. Physiologist, 12:
241-245, 1969.
- HALDANE, J.B.S. The estimation of the frequency of re
cessive characteres in man. Ann. Eugen., 8:255-262,
1937.
- HULT, H. Cholémie simple familiale (Gilbert) and
posthepatitic states without fibrosis of the liver.
Acta Med. Scand. (Suppl. 244) 138:8-12, 1950.
- HUNTER, J.O.; THOMPSON, R.P.H.; DUNN, P.M. & WILLIAMS,
R. Inheritance of type 2 Crigler-Najjar hyperbi -
lirubinaemia. Gut, 14:46-49, 1973.
- ISRAELS, L.G.; SUDERMAN, H.J. & RITAMAN, S.E. Hyper-
bilirubinemia due to alternate path of bilirubin pro
duction. Am. J. Med., 27:693-702, 1959.
- JÉZÉQUEL, A.M.; KOCK, M. & ORLANDI, F. A morphometric
study of the endoplasmic reticulum in human hepa -
tocytes. Gut, 115:737-747, 1974.
- KALK & WILDHIRT (1955) - apud: FROMKE & MILLER, 1972.
- KENWRIGHT, S. & LEVI, A.J. Impairment of hepatic uptake
of rifamycin antibiotics by probenecid, and its the-
rapeutic implications. Lancet, 2:1401-1405, 1973.

- KINALSKA, I. & RAIMER, M. Carbohydrate metabolism in patients with alcoholic liver cirrhosis. Materia Medica Polona, 7:200-203, 1975.
- KRARUP, N.B. & ROHOLM, K. Leberbiopsie bei Icterus in termittens juvenilis. Histologische Untersuchungen. klin. Wochenschr., 20:193-196, 1941.
- KUMAR, D.; MEHTALIA, S.D. & MILLER, L.V. Diagnostic use of glucagon-induced insulin response. Ann. Intern. Med., 80:697-701, 1974.
- LEVI, A.J.; GATMAITAN, Z. & ARIAS, I.M. Deficiency of hepatic binding and jaundice in newborn monkeys. New Engl. J. Med., 283:1136-1139, 1968.
- LJUNG, O. The diagnostic value of the bilirubin excretion test in dubious cases of icterus. Nord. Med., 39:1456-1948.
- MA, M.H. & BIEMPICA, L. The normal human liver cell. Cytochemical and ultrastructural studies. Am. J. Pathol., 62:353-390, 1971.
- MAGNENAT, P. & MINIO PALUELLO, F. The various forms of chronic idiopathic icterus. An ultrastructural study and notes on the pathogenesis. Schweiz. Med. Wochenschr., 97:1102-1105, 1967.
- MC GEE, J. O'D.; ALLAN, J.C.; RUSSELL, R.I. & PATRICK, R.S. Liver ultrastructure in Gilbert's syndrome. Gut, 16:220-224, 1975.
- MEULENGRACHT (1919) - apud: ALWALL, 1945.

- MEULENGRACHT, E. Review of chronic intermittent juvenile jaundice. J. Med. 16:83-98, 1947.
- MEYER, E.C. & KNUPFER, H. Über den Einfluss der Nahrungsaufnahme auf den Bilirubingehalt. Dtsch. Arch. klin. Med., 38:321-329, 1922.
- MINIO, F.; MAGNENAT, P. & GAUTIER, A. L'ultrastructure du foie humain lors d'ictères non hémolytiques chroniques congénitaux. Rev. Int. Hép., 16:323-329, 1966.
- MORTON, N.E. Genetic tests under multiple asurtainment. Am. J. Hum. Genet., 11:1-16, 1959.
- MUGNAINI, E. Filamentous inclusions in the matrix of mitochondria from human livers. J. Ultrastruct. Res., 11:525-544, 1964.
- OUDEA, P.; DOMART-OUDEA, M., & FAUVERT, R. The pathological liver. Rev. Franc. Etud. Clin. Biol., 12:641-665, 1967.
- OWENS, D. & SHERLOCK, S. Diagnosis of Gilbert's syndrome: role of reduced caloric intake test. Br. Med. J., 3:559-563, 1973.
- PANICH, V.; SUNGNATE, T. & POOTRAKUL, P. Gilbert's syndrome associated with Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency. J. Med. Assoc. Thai., 55:483-491, 1972.
- PILCHER, C.W.T.; THOMPSON, R.P.H. & WILLIAMS, R. Effect of phenobarbitone on hepatic microsomal enzymes of the male rat. Biochem. Pharmacol., 21:129-133, 1972.
- PITCHER, C.S. & WILLIAMS, R. Reduced RBC survival in jaundice and its relation to abnormal glutathione metabolism. Clin. Sci. 24:239-252, 1963.
- PONTES J.F.; OLIVEIRA & SILVA A.; BRITO, T. & SILVA, L.C., Reunião anátomo clínica do I.B.E.P.E.G.E. (nº. 04/73). Arg. Gastroenterol. S.Paulo, 10:151-157, 1973.

- POWELL, L.W.; HEMINGWAY, E.; BILLING, B.H. & SHERLOCK, S. Idiopathic unconjugated hyperbilirubinemia (Gilbert's syndrome). A study of 42 families. New Eng. J. Med., 277:1108-1112, 1967.
- REMMER, H. The role of the liver in drug metabolism. Am. J. Med., 49:617-629, 1970.
- REYES, H.; LEVI, A.J. & GATMAITAN, Z. Organic anion - binding protein in rat liver: drug induction and its physiologic consequence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 64:168-170, 1969.
- ROZENDAAL, H.M.; COMFORT, M.W. & SNELL, A.M. Slight and latent jaundice: The significance of elevated concentrations of bilirubin giving an indirect Van den Bergh reaction. JAMA, 104:374-381, 1935.
- RUFFOLO, R. & CONVINGTON, H. Matrix inclusion bodies in the mitochondria of the human liver. Am. J. Pathol., 51:101-116, 1967.
- SCHAFF, Z.; LAPIS, K. & SÁFRÁNY, L. Feinstrukturelle Veränderungen der Leber bei der Gilbert-Krankheit. Beitr. pathol. Anat., 140:54-70, 1969.
- SCHMID, R. Hyperbilirubinemia. In STANBERRY, J.B. WINGAARDEN, J.B. & FREDRICKSON, D.S. The Metabolic basis of Inherited Disease. 3a. ed. New York, McGraw-Hill, 1972. p.1141-1178.

- SHERLOCK, S. Diseases of the Liver and Biliary System.
4a. ed. London, Blackwell, 1968. 809p.
- SHERLOCK, S. Diseases of the Liver and Biliary System.
5a. ed. London, Blackwell, 1975. 821p.
- SILVA, L.C., GODOY, A.; MENDES, F.T., LEITE, G.M. &
PONTES, J.F. Indirect reactin hyperbilirubinaemia
after portosystemic shunt: its relation to other
complications. Gastroenterology, 39:605-614, 1960.
- SIMON, G. & VARONIER, H.S. Étude au microscope electro
nique du foie de deux cas d'ictère non-hémolytique
congénital de type Gilbert. Schweiz. med. Wochenschr.,
93:459-464, 1963.
- SMALLPEICE, V. & DAVIES, P.A. Immediate feeding of pre-
mature infants with undiluted breast milk. Lancet, 2:
1349-1352, 1964.
- SMITH, C.A. A note on the effects of method of ascertainment
on segregation ratios. Ann. Hum. Genet., 23:311-323,
1959.
- SNEDECOR, G.W. Statistical methods. 5a. ed. 9a. reimpr.
Ames, University Press, 1966. 534p.
- SOKAL, J.E. Glucagon - An Essential Hormone. Am. J. Med.,
41:331-339, 1966.
- STENGER, R.J. Organelle pathology of the liver. The endo-
plasmic reticulum. Gastroenterology, 58:554-574, 1970.
- STENGLE, J.M. & SCHADE, A.L. Diurnal - nocturnal variations
of certain blood constituent in normal human subjects:
Plasma iron, siderophilin, bilirubin, copper, total
serum protein and albumin, haemoglobin and haematocrit,
Br. J. Haemat., 3:117-124, 1957.

- TECON, R.M. Les hyperbilirubinémies héréditaires. La cholémie familiale et l'ictère hémolytique. Arch. Fr. Mal. App. Dig., 28:567-589, 1938.
- THOMPSON, R.P.H., STATHERS, G.M.; PILCHER, C.W.T. Mc LEAN, A.E.M.; ROBINSON, J. & WILLIAMS, R. Treatment of unconjugated jaundice with Dicophane. Lancet, 2:4-6, 1969.
- VAN ITALLIE, T.B. Glucagon: physiologic and clinical considerations. New Eng. J. Med., 254:794-803, 1956.
- VAN ITALLIE, T.B. & BENTLEY, W.B.A. Glucagon-induced hyperglycemia as an index of Liver function. J. Clin. Invest., 34:1730-1737, 1955.
- WILLS, E.J. Cristalline structures in the mitochondria of normal human liver parenchymal cells. J. Cell. Biol., 5: 511-514, 1965.
- WU, P.Y.K., TEILMAN, P.; GABLER, M.; VAUGHAN, M. and METCOFF, J. "Early" versus "late" feeding of low birth weight neonatis: effect on serum bilirubin, and responses to glucagon and epinephrine tolerance testes. Pediatrics, 39: 733-739, 1967.

APÊNDICE

1. - Hemograma

1.1. - Valores normais:

Série vermelha: eritrócitos: 4,2 - 6,2 milhões/mm³

hemoglobina: 12,0 - 18,0g/100ml

H.C.M.: 27 - 31 yy

C.H.C.M.: 32 - 36%

Série branca: leucócitos: 4.000 - 11.000/mm³

neutrófilos: 2.500 - 7.500/mm³

linfócitos: 1.500 - 3.500/mm³

monócitos: 200 - 800/mm³

eosinófilos: 40 - 400/mm³

basófilos: 0 - 100/mm³

1.2. - Referências:

WINTROBE, M.M. The Erythrocyte. In _____.

Clinical Hematology. 6.ed. Philadelphia, Lea
and Febiger, 1967 p.86 cap. 2.

WINTROBE, M.M. The Leukocytes. In _____.

Clinical Hematology. 6.ed. Philadelphia, Lea
and Febiger, 1967 p.260 cap. 4.

2. - Contagem de reticulócitos

2.1. - Valor normal: 0,5 - 1,5%.

2.2. Referência:

BRECHER, G. New methylene blue as an reticulocyte stain. Am. J. Clin. Path., 19:895, 1949.

3. Teste de fragilidade osmótica

3.1. - Valor normal:

NaCl%	Hemólise %
0,20	100
0,30	97 - 100
0,35	90 - 99
0,40	50 - 95
0,45	0 - 45
0,50	0 - 6
0,55	0

3.2. - Referências:

PARPART, A.K. The osmotic resistance (fragility) of human red cells. J. Clin. Invest., 26:636, 1947.

SHEEHAN, R.G. Evoluution of hemolysis. In RACE, G. J. Laboratory medicine. Hargerstown, Harper and Row, 1973. p.12 v. 2 cap. 3.

4. Bilirrubina total e suas frações

4.1. - valores normais:

bilirrubina total: 0,4 - 1,2mg%

bilirrubina não conjugada: 0,2 - 0,7mg%

bilirrubina conjugada: 0,1 - 0,4 mg%.

4.2. - Referências:

- MALLOY, H.T. and EVELYN, K.A. Determination of bilirubin with photoelectric colorimeter - J. Biol. Chem., 119:481, 1937.
- SPEER, R.J., ROBERTS, J. and KEENNON. Normal procedures for routine chemistry. In: RACE, G.T. Laboratory Medicine. Hargerstown, Harper and Row, 1973. p.9. v.1 cap. 2.

5. - Transaminases

5.1. - Valores normais:

Transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO): até 12 mU/ml.

Transaminase glutâmico-pirúvica (TGP): até 12 mU/ml.

5.2. - Referências:

- KARMEN, A. Transaminase activity in human blood. J. Clin. Invest., 34:126, 1955.
- SPEER, R.J., RAO, G.V.K., PORTER, J.L. & DENTON Jr. A.D. Enzyme chemistry protocols. In RACE, G.J. Laboratory Medicine. Hargerstown, Harper & Row, 1973. p.24. v.1 cap. 2.

6. - Fosfatase alcalina

6.1. - Valor normal: 13 - 50 U.I./l

6.2. - Referência:

- BESSEY, O.A., LOWRY, O.H. & BROCK, M.J. Method for rapid determination of alkaline phosphatase with 5 cubic millimeters of serum. J. Biol. Chem., 164:321, 1956.

7. - Electroforese de proteínas plasmáticas

7.1. - Valores normais:

Proteínas totais: 6,00 - 8,00g%

Albumina: 3,80 - 5,50g%

Alfa-1-globulina: 0,10 - 0,25g%

Alfa-2-globulina: 0,30 - 0,65g%

Beta-globulina: 0,45 - 0,90g%

Gama-globulina: 0,80 - 1,60g%

7.2. - Referência:

GORNALL, A.C., BARDAWILL, C.J. & DAVID, M.M. Determination of serum proteins by means of biuret reaction. J. Biol. Chem., 177:751, 1949.

Eletroforese realizada em fita de acetato de celulose, mikrophor, em fonte de electroforese Boskamp (Carl-Zeiss), lida no densitômetro integrado mod. 3, da Carl-Zeiss.

8. - Atividade da protrombina

8.1. - Valor normal: 80 - 100%

8.2. - Referência:

QUICK, A.J., STANLEY - BROWN, M. & BANCROFT, F.W.

A study of the coagulation defect in hemophilie and in jaundice. Am. J. Med. Sci., 190:501, 1935.

9. - Pesquisa do antígeno Austrália.

9.1. - Valor normal: negativo.

9.2. - Referência:

ASCAVAI, M. Counter - electrophoresis for hepatitis B antigen (HB-Ag). In Manual for hepatitis B an-

tigen testing. Ascavai & Peters. W.B. Saunder Co., Philadelphia - London - Toronto, 1973.

10. - Teste de retenção da bromosulfaleína (BSP)

10.1.- Valor normal: < 7% de retenção aos 45 minutos.

10.2.- Referência:

LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B. GALIZZI, J. & CANÇADO, J.R. Provas Funcionais. In _____. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1969. p.109. cap. 3.

11. - Exame histopatológico do fígado

Os fragmentos de fígado dos 10 casos-índice foram obtidos mediante biópsia per-cutânea, com a agulha de Vim-Silverman, fixados em formalina a 10% e incluídos com parafina. Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina e examinados com microscópio óptico. Os fragmentos de fígado de dois pacientes (casos-índice nº 8 e 10) foram fixados em álcool absoluto. De cada caso, foram coradas duas lâminas pelo método de periodic acid - Schiff (PAS), uma delas precedida por digestão enzimática, para avaliação do glicogênico hepático.