



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Amanda Sejtman Guttman

**Valor da variável “transformação hepatocitária
giganto-celular” no diagnóstico anatômico e no
prognóstico da colestase neonatal**

CAMPINAS

2024

AMANDA SEJTMAN GUTTMANN

Dissertação/Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências na área de concentração Eficácia e Efetividade de Testes Diagnósticos e Protocolos de Tratamento em Saúde

ORIENTADOR: PROF. DR GABRIEL HESSEL

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA AMANDA SEJTMAN GUTTMANN E ORIENTADA PELO PROF. DR. GABRIEL HESSEL.

CAMPINAS

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Guttman, Amanda Sejtman, 1994-

G987v Valor da variável "transformação hepatocitária gigante-celular" no diagnóstico anatômico e no prognóstico da colestase neonatal / AmandaSejtman Guttman. - Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Gabriel Hessel.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Colestase. 2. Colestase intra-hepática. 3. Colestase extra-hepática. 4. Atresia biliar. I. Hessel, Gabriel, 1960-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Value of the variable "giant-cell transformation of hepatocytes" in the anatomical diagnosis and prognosis of neonatal cholestasis

Palavras-chave em inglês:

Cholestasis

Cholestasis, Intrahepatic

Cholestasis, Extrahepatic

Biliary atresia

Área de concentração: Eficácia e Efetividade de Testes Diagnósticos e Protocolos de Tratamento em Saúde

Titulação: Mestra em Ciências

Banca examinadora:

Gabriel Hessel [Orientador]

Maria Angela Bellomo-Brandão

Natascha Silva Sandy

Data de defesa: 28-02-2024

Programa de Pós-Graduação: Ciência Aplicada à Qualificação Médica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

ORCID do autor: <https://orcid.org/0009-0001-9282-7296>

Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0278890992329369>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

NOME DO ALUNO : AMANDA SEJTMAN GUTTMANN

ORIENTADOR: PROF. DR. GABRIEL HESSEL

MEMBROS TITULARES:

1. PROF. DR. GABRIEL HESSEL
2. PROF. DRA MARIA ANGELA BELLOMO-BRANDÃO
3. PROF. DRA NATASCHA SILVA SANDY

Programa de Pós-Graduação em *Ciência Aplicada à Qualificação Médica* da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de defesa: 28/02/2024 às 14:00

RESUMO

O diagnóstico anatômico de colestase neonatal ainda é um desafio na prática médica. Vários exames têm sido propostos sendo a biópsia hepática um dos mais empregados isoladamente. Entre as características histológicas analisadas na diferenciação de colestase intra-hepática (CIH) da colestase extra-hepática (CEH) está a “transformação giganto-celular dos hepatócitos”. Essa variável é considerada como indicativa de CIH, sendo, inclusive, empregado o termo hepatite neonatal de células gigantes, porém, ainda faltam evidências na literatura para determinar estatisticamente o seu real valor. O **objetivo** deste estudo foi estabelecer o valor desta variável histológica no diagnóstico diferencial entre CIH e CEH e pesquisar o seu valor prognóstico nos casos de atresia de vias biliares. **Casuística e métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo e longitudinal de pacientes com colestase neonatal atendidos no serviço de hepatologia pediátrica do Hospital de Clínicas da Unicamp no período de 1990 a 2021 e que fizeram biópsia hepática. Foi elaborada uma ficha de coleta dos dados, na qual constaram informações clínicas e laboratoriais (enzimas hepáticas e RNI), diagnóstico anatômico e etiológico (se colestase intra-hepática ou extra-hepática), presença ou ausência de células gigantes. Ainda foi avaliada a relação entre a presença e intensidade de transformação gigantohepatocitária em paciente com CIH e CEH e, também, analisada a drenagem biliar em pacientes com CEH submetidos à cirurgia de Kasai após 6 meses a 1 ano. Considerou-se como boa drenagem biliar pacientes anictéricos com bilirrubinas totais < 2 mg/dL. A análise estatística empregada foi o teste de Fisher e quando necessário o teste do qui quadrado para as variáveis categóricas e para as variáveis contínuas foi calculado o teste de Mann-Whitney. **Resultados:** Participaram do estudo 80 pacientes sendo 51 do sexo masculino (62,9%). Desses pacientes, 40 apresentavam CIH (grupo 1) e 40 CEH (grupo 2). Em relação às células gigantes, no grupo 1, 21/40 (52,5%) pacientes apresentaram histologia com presença de células gigantes e, no grupo 2, foram 17/40 (42,5%), não havendo diferença significativa. Dentre os pacientes que possuíam células gigantes no laudo da biópsia, após revisão das lâminas com quantificação do número dessa variável histológica por campo de grande aumento, também não foi possível identificar diferença no diagnóstico entre CIH e CEH. Em relação à drenagem biliar de pacientes do grupo 2, observou-se que dos 17 pacientes com células gigantes apenas 2 tiveram boa drenagem biliar (11,76%). Por outro lado em pacientes sem células gigantes 10 de 22 tiveram boa drenagem (45,45%), havendo diferença significativa entre os grupos ($p=0,03$). **Conclusões:** 1. A variável histológica transformação gigantocelular hepatocitária não distinguiu colestase intra-hepática de

colestase extra-hepática. 2. A presença dessa variável em pacientes com atresia biliar indicou pior drenagem biliar e provável pior prognóstico.

PALAVRAS-CHAVE: colestase; colestase intra-hepática, colestase extra-hepática, atresia biliar, colestase neonatal, transformação giganto-celular, hepatite de células gigantes.

ABSTRACT

The diagnosis of neonatal cholestasis remains a challenge in medical practice. Numerous tests have been proposed, with liver biopsy being one of the most commonly used in isolation. Among the histological variables analyzed in the differentiation of intrahepatic cholestasis (IHC) from extrahepatic cholestasis (EHC) is the "giant-cell transformation of hepatocytes." This variable is considered indicative of IHC, and the term "neonatal giant cell hepatitis" is even used. However, there is still a lack of evidence in the literature to determine its true value. The aim of this study was to establish the value of this histological variable in the differential diagnosis between IHC and EHC and to investigate its prognostic value in cases of EHC. **Material and Methods:** A retrospective and longitudinal study was conducted on patients with neonatal cholestasis treated at the pediatric hepatology service of the Hospital de Clínicas da Unicamp from 1990 to 2021 who underwent liver biopsy. A data collection form was prepared, including clinical and laboratory information (liver enzymes and INR), anatomical and etiological diagnosis (whether intrahepatic or extrahepatic cholestasis), and the presence or absence of giant cells. The relationship between the presence and intensity of giant-cell hepatocyte transformation in patients with IHC and EHC was also evaluated. Additionally, biliary drainage was analyzed in EHC patients undergoing Kasai surgery after 6 months to 1 year, considering good biliary drainage in jaundice-free patients with total bilirubin < 2 mg/dL. Statistical analysis used the chi-square test and, when necessary, Fisher's test for categorical variables. The Mann-Whitney test was used for continuous variables. **Results:** A total of 80 patients participated in the study, 51 (62.9%) were male. Of these patients, 40 had IHC (group 1), and 40 had EHC (group 2). Regarding giant cells, 21/41 (52.5%) patients in group 1 showed histology with giant cells, and in group 2, there were 17/40 (42.5%), with no significant difference. Among patients with giant cells in the biopsy report, after reviewing the slides with quantification of the number of this histological variable per high-power field, it was also not possible to identify a difference in diagnosis between IHC and EHC. Regarding biliary drainage in group 2 patients, it was observed that of the 17 patients with giant cells, only 2 had good biliary drainage (11.76%). On the other hand, in patients without giant cells, 10 out of 22 had good drainage (45.45%), showing a significant difference between the groups ($p = 0.03$). **Conclusions:** 1. The histological variable of giant-cell hepatocyte transformation did not distinguish intrahepatic cholestasis from extrahepatic cholestasis. 2. The presence of this variable in patients with biliary atresia indicated poorer biliary drainage and a likely worse prognosis. **KEY WORDS:** cholestasis, cholestasis intrahepatic, cholestasis extrahepatic, biliary atresia, neonatal cholestasis, giant-cells transformation of hepatocytes, neonatal hepatitis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. OBJETIVOS	11
3. METODOLOGIA.....	11
4. RESULTADOS	12
5. DISCUSSÃO	15
6. CONCLUSÕES.....	21
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
8. ANEXOS.....	26

1. INTRODUÇÃO

A colestase neonatal (CN) é uma condição médica que acomete a faixa etária pediátrica, afetando cerca de 1 em cada 2500 nascidos vivos a termo (Fawaz et al., 2017). Conforme as diretrizes da Sociedade Norte-Americana e Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica, qualquer bebê com icterícia persistente por mais de 2 semanas de idade deveria ser submetido a investigações para colestase, mediante a mensuração dos níveis de bilirrubina sérica. De acordo com essas diretrizes, a presença de bilirrubina direta/conjugada com valor sérico acima de 1,0 mg/dL (17 mmol/L) é considerada anormal, independentemente do valor total da bilirrubina (Fawaz et al, 2017).

Após o diagnóstico sindrômico de colestase neonatal, o desafio mais urgente é determinar o diagnóstico anatômico, ou seja, se a colestase é de etiologia extra-hepática (CEH) ou intra-hepática (CIH). A CIH representa aproximadamente 70% de todos os casos de colestase neonatal. Os principais grupos de doenças envolvidas incluem etiologias infecciosas, metabólicas, endocrinológicas, genéticas, hipoplasia das vias biliares intra-hepáticas, tóxico-medicamentosas, transinfecciosas e idiopáticas (Dellert & Balistreri, 2000) - (Anexo 1). As causas da CEH são menos numerosas e incluem atresia biliar (AB), cisto de colédoco, barro biliar e estenose biliar (Hessel & Sawamura, 2001; Carvalho et al., 2007). A atresia biliar é resultado de um processo inflamatório que afeta os ductos biliares, levando à fibrose e à obliteração subsequente das vias biliares. Ela é a principal causa de colestase neonatal extra-hepática e principal indicação de transplante hepático pediátrico, variando de 30% a 50% (Sokol, 2009). Existem marcadores clínicos, bioquímicos e de imagem que auxiliam na diferenciação entre CEH e CIH.

O quadro clínico das diversas doenças colestáticas é, em geral, semelhante, caracterizado por icterícia, colúria, hipocolia ou acolia fecal, hepatomegalia com ou sem esplenomegalia, independente da causa da colestase (Roquete, 2000). Contudo, é crucial realizar a coleta de dados sobre a história clínica e o exame físico, pois alguns parâmetros clínicos, laboratoriais e histológicos podem orientar o diagnóstico anatômico e etiológico da colestase neonatal (CN).

Em 1995, Alagille observou que peso de nascimento normal, início precoce de acolia fecal (média de 16 dias), persistência de acolia fecal por mais de 10 dias e consistência aumentada do fígado sugerem colestase extra-hepática (CEH), com uma taxa de acerto de 83% (Anexo 2).

Deve-se questionar antecedentes familiares, incluindo consanguinidade, colestase neonatal em parentes, anemia hemolítica, doenças autoimunes e cardiovasculares; antecedentes obstétricos atuais e prévios, como abortos, sorologia materna, febre, ingestão de medicamentos hepatotóxicos, colestase na gestação, e achados de ultrassonografia obstétrica; antecedentes neonatais, como prematuridade, uso prolongado de nutrição parenteral, triagem neonatal, sepse, vômitos, alteração neurológica e malformações (Anexo 3 e 4) (Fawaz et al., 2017; Ranucci et al., 2022).

Além das bilirrubinas, geralmente são solicitadas inicialmente as enzimas hepáticas, coagulograma e albumina. As enzimas que indicam lesão hepatocelular, como aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), estão elevadas, mas não discriminam entre colestase intra-hepática e colestase extra-hepática. Níveis elevados de gama-glutamilttransferase (GGT) podem sugerir etiologia extra-hepática (Bellomo-Brandão et al, 2010). O nível sérico diminuído de albumina pode indicar comprometimento da função sintética e ocorre no período neonatal em situações mórbidas como hemocromatose, tirosinemia, galactosemia, fibrose cística, frutosemia e citopatias mitocondriais (Hessel & Sawamura, 2001). Outros exames laboratoriais podem ser solicitados na investigação do diagnóstico diferencial conforme a suspeita clínica (Anexo 5) (Ranucci et al., 2022).

Os exames subsidiários específicos incluem tubagem duodenal, cintilografia hepatobiliar, colangiopancreatografia endoscópica retrógrada, colangiorressonância, ultrassonografia abdominal, elastografia hepática e biópsia hepática. Dentre esses, a biópsia hepática é o exame com maior sensibilidade e especificidade na investigação desse diagnóstico anatômico de colestase (Feldman et al., 2015).

Desde a década de 1960, foram estudadas as variáveis histológicas indicadoras de colestase intra-hepática (CIH) e extra-hepática (CEH). Naquela época, a acurácia da biópsia hepática percutânea era baixa em diferentes estudos, e inicialmente, a dimensão do fragmento foi considerada a razão para isso. No entanto, mesmo após a adoção da biópsia cirúrgica, não houve melhora na acurácia, tornando necessária a revisão dos critérios histológicos para diferenciar CIH de CEH. Ao longo do tempo, diversos estudos estabeleceram novos critérios histológicos, melhorando a acurácia.

Com relação à anatomia patológica, alguns achados histopatológicos foram relacionadas ao diagnóstico de colestase extra-hepática (CEH), como a proliferação de ductos neoformados, plugs biliares e fibrose periportal (Moyer et al., 2004; Hessel G et al., 1994; Feldman et al., 2015).

Em comparação, "transformação gigantocelular de hepatócitos", definida como hepatócitos multinucleados com 3 ou mais núcleos, independentemente do tamanho da célula, foi inicialmente considerada indicativa de CIH (Craig et al., 1952). Outros trabalhos também observaram maior proeminência desta variável em hepatite neonatal idiopática e, portanto, em colestase neonatal intra-hepática (Morotti et al., 2013). No entanto, estudos mais recentes mostraram que a "transformação gigante-celular dos hepatócitos" também foi descrita em biópsias hepáticas de pacientes com atresia biliar (AB). Algumas evidências sugerem a presença de 20% a 50% de transformação gigantocelular em atresia de vias biliares (Davenport M et al., 2006; Rastogi A et al., 2009).

Portanto, ainda persistem dúvidas sobre o valor real da transformação hepatocitária gigante-celular na identificação do diagnóstico anatômico da colestase neonatal e, além disso, se existe uma associação desse achado histológico com o prognóstico do paciente.

2. OBJETIVOS

A partir da análise de pacientes com colestase neonatal que realizaram biópsia hepática, esperava-se esclarecer se a presença e/ou intensidade da transformação gigante-celular dos hepatócitos diferenciaria CIH da CEH e, se essa variável indicaria pior prognóstico na atresia biliar.

3. METODOLOGIA

O estudo incluiu pacientes atendidos no serviço de hepatologia pediátrica do Hospital de Clínicas da Unicamp no período de 1990 a 2021, com diagnóstico de colestase neonatal e que realizaram biópsia hepática durante a investigação. Foram excluídos aqueles cujo diagnóstico final anatômico (CIH ou CEH) não foi definido, os pacientes com CEH que não tinham atresia biliar, aqueles que não apresentavam pelo menos 5 espaços porta na biópsia hepática e aqueles para os quais não havia informações adequadas de exames laboratoriais e de evolução.

Para os pacientes admitidos e que preencheram os critérios de inclusão, foi conduzido um estudo retrospectivo e longitudinal. Uma ficha de coleta de dados foi elaborada, incluindo informações como sexo, idade de admissão em dias, prematuridade, peso de nascimento, resultados de exames que avaliam a função e lesão hepática (bilirrubina direta, atividade da enzima AST, atividade da enzima ALT, atividade da enzima fosfatase alcalina (FALC), atividade da enzima GGT, RNI), diagnóstico anatômico (CIH ou CEH), diagnóstico etiológico e a presença ou ausência

de transformação gigantomcelular de hepatócitos. A partir dos resultados dos exames e da evolução, os pacientes foram classificados em dois grupos: Grupo 1 (CIH) e Grupo 2 (CEH).

Após a análise qualitativa da presença ou ausência de transformação gigantomcelular de hepatócitos entre os grupos 1 e 2, foi realizada uma análise quantitativa das células gigantes na biópsia hepática dos pacientes com essa variável histológica. Para isso, as lâminas foram revisadas de acordo com um procedimento padronizado. Entre a tríade portal, composta por um ramo da veia porta, um ramo da artéria hepática e um ramo de um ducto biliar, e a veia centrolobular, estão as células do fígado propriamente dito, os hepatócitos. Os hepatócitos são divididos em zonas, de acordo com sua relação com a tríade portal e a veia centrolobular. Os hepatócitos que estão ao redor do trato portal são da zona 1, os que estão ao redor da veia centrolobular são da zona 3, e os que ficam no meio são da zona 2. Após a separação das lâminas coradas com hematoxilina-eosina, foi observada a zona 2 dos hepatócitos em um aumento de 10 vezes e, em seguida, aproximada com foco de 40 vezes. Selecionaram-se dois campos de grande aumento diferentes dentro da mesma zona para a contagem de transformações gigantomcelulares, calculando posteriormente a média do número de células gigantes por lâmina.

Além disso, foi avaliada a relação entre a presença de transformação gigantomcelular hepatocitária e a drenagem biliar em pacientes do grupo 2 após 6 meses a 1 ano da cirurgia de Kasai. Considerou-se boa drenagem biliar em pacientes anictéricos e/ou com bilirrubinas totais < 2 mg/dL (Shneider et al., 2016).

Para a análise estatística, foi empregado o teste do qui-quadrado, e quando necessário, o teste de Fisher para as variáveis categóricas. Para as variáveis contínuas, foi calculado o teste de Mann-Whitney.

4. RESULTADOS

No estudo, participaram 80 pacientes, destes 40 com colestase intra-hepática (CIH) no grupo 1 e 40 com colestase extra-hepática (CEH) no grupo 2. As etiologias do grupo 1 foram as seguintes: Citomegalovírus 1/40 (2,5%), Sífilis 2/40 (5,0%), Sepse 1/40 (2,5%), Síndrome de Alagille 4/40 (10,0%), Deficiência de alfa-1 antitripsina 4/40 (10,0%), Síndrome ARC 2/40 (5,0%), Colestase intra-hepática progressiva familiar tipo 4 1/40 (2,5%), Hipotireoidismo 1/40 (2,5%), Galactosemia 1/40 (2,5%), Multifatorial 5/40 (12,5%). Não foram identificadas etiologias em 45,0% dos pacientes com CIH (idiopática). As características clínicas desses grupos são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características clínicas dos pacientes com colestase intra-hepática (grupo 1) e colestase extra-hepática (grupo 2)

Parâmetros clínicos		Colestase intra-hepática (Grupo 1) (n=40)	Colestase extra-hepática (Grupo 2) (n=40)	Estatística
SEXO	Masculino	30	21	p = 0,054
	Feminino	10	19	
IDADE (Idade da primeira consulta em dias)	Média (DP)	107,85 (188,22)	68,41 (30,35)	p = 0,92
	Mediana	60	66	
PESO DE NASCIMENTO (gramas)	Média (DP)	2840,78 (605,03)	3153,61 (566,92)	p = 0,027
	Mediana	2880,00	3135,00	
PREMATURIDADE		9/40 (22,5%)	5/40 (12,5%)	p = 0,26

Na tabela 2 são apresentadas as alterações laboratoriais e a presença ou ausência da variável histológica “transformação gigante-celular” nos pacientes do grupo 1 e grupo 2.

Tabela 2. Alterações laboratoriais e histológicas dos pacientes com colestase intra-hepática (grupo 1) e colestase extra-hepática (grupo 2)

Parâmetros Laboratoriais/ Histologia		Colestase intra-hepática (Grupo 1) (n=40)	Colestase extra-hepática (Grupo 2) (n=40)	Estatística
ALT (U/L)	Média (DP)	226,02 (261,80)	158,17 (102,10)	p = 0,63
	Mediana	149,00	129,00	
AST (U/L)	Média (DP)	340,19 (300,96)	247,15 (165,21)	p = 0,43
	Mediana	217,00	203,50	
FALC (U/L)	Média (DP)	914,71 (662,17)	772,92 (472,91)	p = 0,99
	Mediana	650,00	663,50	
GGT (U/L)	Média (DP)	195,29 (275,07)	779,72 (493,64)	p = 0,00001
	Mediana	109,00	755,00	
RNI	Média (DP)	1,42 (1,04)	1,32 (0,62)	p = 0,81
	Mediana	1,1	1,09	
Com transformação de células gigantes		21/40 (52,5%)	17/40 (42,5%)	p = 0,36
Sem transformação de células gigantes		19/40 (47,5%)	23/40 (57,5%)	

* ALT (alanina aminotransferase) | AST (aspartato aminotransferase) | FALC (fosfatase alcalina) | GGT (gama-glutamil transferase) | RNI (Índice internacional normalizado).

Para a análise quantitativa de células gigantes em pacientes com colestase, foram excluídas do estudo as lâminas que: 1. Não possuíam células gigantes no laudo da biópsia hepática; 2. Não tinham lâminas disponíveis para revisão; 3. Não foi possível visualizar com clareza a zona 2 dos hepatócitos. Dentre os pacientes com CIH, apenas 14/40 apresentaram lâminas com condições favoráveis para avaliação histológica (Grupo A). No grupo com CEH, somente 12/40 biópsias hepáticas foram avaliadas segundo os mesmos critérios (Grupo B). Foi calculada a média e mediana do número de células gigantes encontradas em cada grupo, conforme demonstrado na Tabela 3 abaixo. Não foi possível observar diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 3. Análise quantitativa da variável transformação de células gigantes na colestase intra-hepática (grupo A) e colestase extra-hepática (grupo B)

Parâmetros		Colestase intra-hepática (Grupo A) (n=14)	Colestase extra-hepática (Grupo B) (n=12)	Estatística
Histológicos				
Células Gigantes Quantitativo*	Média (DP)	10,03 (3,45)	6,36 (2,52)	p = 0,38
	Mediana	11,00	6.00	

* Número de células gigante celular por campo de grande aumento. n = 14 para o grupo 1 e n = 12 para o grupo 2.

Em relação ao prognóstico de pacientes do grupo 2 com diagnóstico de AB, observou-se que dos 17 pacientes com células gigantes apenas 2 tiveram boa drenagem biliar (11,76%). Por outro lado, em pacientes sem células gigantes 10 de 22 tiveram boa drenagem (45,45%), havendo diferença significativa entre os grupos ($p = 0,036$).

5. DISCUSSÃO

Um dos grandes desafios na colestase neonatal é diferenciar a atresia biliar (AB) de outras causas de colestase. Durante a investigação, foi possível identificar que pacientes com icterícia colestática de etiologia intra-hepática apresentavam menor peso ao nascimento. Esse fato provavelmente reflete o crescimento intrauterino prejudicado decorrente de doenças neonatais genético-endócrino-metabólicas e,

predominantemente, de infecções congênitas (Bellomo-Brandão et al., 2009). Contudo, tal achado clínico e outros identificados por Alagille em 1995 como coloração das fezes e consistência hepática não foram suficientes para distinguir CIH da CEH.

Quanto ao nível sérico das enzimas hepáticas (AST, ALT, FALC e GGT), houve uma diferença significativa apenas para a GGT, situando os maiores valores na CEH. Diferentes pontos de corte foram propostos na literatura para indicar CEH, como acima de 10 vezes o limite superior da normalidade (Bellomo-Brandão et al., 2010), acima de 200 UI/L (Ranucci et al., 2022) e acima de 500 UI/L (Wang et al., 2006), mas nenhum desses pontos ultrapassa uma acurácia de 90%.

Os exames subsidiários específicos têm sido propostos na literatura para definir com maior acurácia se a colestase é de natureza intra-hepática ou extra-hepática. Um pré-requisito para a escolha do exame é que a sua realização seja viável em curto espaço de tempo e apresente boa acurácia. Além dos exames já citados, mais recentemente há dois propostos que são a elastografia hepática e a proteína metaloproteinase-7 (MMP-7), com bons resultados preliminares, mas ainda indisponíveis na maioria dos centros (Russo et al., 2012; Fawaz et al., 2017; Wang et al., 2018; Dillman et al., 2019).

A biópsia hepática é o exame mais utilizado para essa finalidade, apresentando uma sensibilidade que varia de 89% a 99% e uma especificidade entre 82,5% e 98,0% (Hessel et al., 1994; Moyer et al., 2004; Feldman et al., 2015). A significativa variação desses resultados pode ser atribuída à experiência do patologista na análise do fragmento, às dimensões do fragmento e à definição de variáveis indicadoras do diagnóstico anatômico. Portanto, é crucial estabelecer critérios para a análise histológica (Chen et al., 2015).

Estudos conduzidos desde o final da década de 1960 têm buscado distinguir a etiologia da colestase neonatal com base nos achados de biópsia hepática. Na Tabela 4, estão resumidos ensaios clínicos que compararam as variáveis histológicas associadas à colestase intra-hepática (CIH) e à colestase extra-hepática (CEH).

De acordo com a última diretriz de 2017 da NASPGHAN, para a avaliação das variáveis histológicas em pacientes com colestase neonatal, foi desenvolvido um sistema de análise de biópsias hepáticas por patologistas do Grupo de Pesquisa sobre Atresia Biliar apoiado pelos Institutos Nacionais de Saúde (National Institutes of Health-supported Biliar Atresia Research Consortium - BARC). Nesse estudo, foram identificadas 16 variantes histológicas, incluindo plugs biliares, edema hepatocelular, esteatose, formação de pseudorosetas, transformação de células gigantes, necrose

hepatocelular, hematopoiese extramedular, desarranjo lobular, edema periportal, fibrose periportal, infiltrado celular periportal, colangite aguda, neutrófilos periductulares, inflamação mononuclear ductular, malformação da placa ductal e proliferação biliar. Alterações indicativas de obstrução biliar incluíram proliferação biliar, plugs biliares e fibrose periportal com preservação da arquitetura lobular hepática. Por outro lado, na hepatite neonatal, foram observados desarranjo lobular e aumento de células inflamatórias. Notavelmente, não foi relatada a presença de transformação gigante celular dos hepatócitos como indicativa de hepatite neonatal e, portanto, de colestase intra-hepática, neste documento. Em termos gerais, o diagnóstico de obstrução em casos clinicamente confirmados de atresia biliar variou de 79% a 98%, com um valor preditivo positivo de 90,7%. O grupo diagnosticou atresia biliar com alto nível de sensibilidade, com concordância interobservador razoável (Russo et al, 2011).

Tabela 4. Variáveis histopatológicas indicadoras de CEH e CIH

REFERÊNCIA	INDICADORES CEH	INDICADORES CIH
Kasai et al. (1962)	Fibrose portal, Proliferação ductular, Alteração de células de Kupffer, expansão periportal, Fibrose e desarranjo lobular.	Degeneração hepatocitária, Transformação de células gigantes
Bennett (1964)	Fibrose portal, Proliferação ductular	Fibrose e desarranjo lobular
Brough and Bernstein (1974)	Proliferação ductular	-
Zerbini (1985)	Fibrose portal e proliferação ductular	-
Shiraki et al. (1987)	Proliferação ductular, Colestase em neoductos	-
Alagille (1995)	Proliferação ductular, Fibrose portal e perilobular, Plugs biliares, Arquitetura lobular normal, Pouca resposta inflamatória	Desarranjo lobular, Transformação de células gigantes, Necrose hepatocelular, Fibrose portal mínima, Raras formações de neoductos, Esteatose, Hematopoiese lobular extramedular

Santos et al (1998)	Proliferação ductular portal e periportal, Expansão portal, colestase em neoductos, colestase portal, pontes porto-portal	Metaplasia mioeloidal
Rastogi et al (2009)	Proliferação ductular, Plugs biliares e fibrose portal	Transformação de células gigantes mais proeminente
Russo et al (2011)	Proliferação ductular, Fibrose portal e Ausência de fibrose em sinusóides	-
Sira et al (2014)	Proliferação ductular, Graus avançados de fibrose portal	Transformação de células gigantes mais proeminente
El-Guindi et al (2014)	Proliferação ductal e plugs biliares	Transformação de células gigantes
Russo et al (2016)	Plugs ductais biliares, Edema periportal, Ausente/Rara transformação de células gigantes, Ausente/Rara hematopoiese lobular extramedular	Ausente/Rara proliferação ductal, Transformação proeminente de células gigantes, Esteatose, Hematopoiese extramedular

5.1 Variável histológica “transformação de células gigantes” e diferenciação entre CEH e CIH

De acordo com os achados das biópsias hepáticas dos pacientes com colestase no presente estudo, não foi observada relação da variável histológica "transformação de células gigantes" capaz de distinguir CIH e CEH. Para efeitos de comparação, foram avaliados por esta casuística outros trabalhos que descreveram de forma qualitativa a presença ou ausência de "transformação gigante-celular" em pacientes com colestase neonatal com AB e sem AB. Houve associação positiva entre a presença dessa variável e pacientes sem AB em três trabalhos com significância estatística ($p < 0,05$). No entanto, outros dois estudos não obtiveram associação capaz de diferenciar pacientes com AB e sem AB ($p > 0,05$) (Tabela 5). A partir destes estudos, não há concordância suficiente para definir a presença de "células gigantes" como indicativa de ausência de AB ou presença de CIH. Embora o termo "hepatite neonatal de células gigantes" tenha persistido até hoje como sinônimo de hepatite neonatal ou CIH, não é possível definir essa variável histológica como determinante de CIH.

Tabela 5. Presença de células gigantes em pacientes com colestase neonatal com Atresia biliar (AB) e sem Atresia biliar (N-AB)

AUTOR	Atresia biliar (AB)	Não atresia biliar (N-AB)	Estatística
Rastogi et al (2009)	n = 28 6 (21,4%)	n = 15 12 (80%)	p 0,041
Russo et al (2011)	n = 49 25 (51%)	n = 48 28 (59%)	p 0,466
Sira et al (2014)	n = 137 31 (22,6%)	n = 10 6 (60%)	p 0,008
Guindi et al (2014)	n = 30 8 (26,7%)	n = 30 26 (86,7%)	p < 0,00001
Russo et al (2016)	n = 136 116 (85,3%)	n = 91 83 (91,3%)	p 0,184

* n = amostra total de pacientes do grupo AB ou N-AB

Embora a presença de células gigantes não pareça ser suficiente para distinguir CEH e CIH, alguns estudos sugerem que quanto maior a intensidade da transformação giganto-celular dos hepatócitos, maior a associação com CIH ou hepatite neonatal. Abdalla et al, 2013 observaram que houve diferença significativa entre CIH e CEH quando estabeleceu graduação da presença da transformação gigantocelular na sua pesquisa. Contudo, essa graduação não é adotada na prática pela maioria dos serviços. Rastogi et al (2009), observou hepatócitos gigantes multinucleados mais frequentes em hepatite neonatal (80%) em comparação com AB (21%). Li et al (2004), também descreveu maior transformação giganto-celular em hepatite neonatal, principalmente quando associado à doença lobular extensa.

No entanto, poucos estudos apresentam de forma sistemática a variação da intensidade em que essas células aparecem. Russo et al. (2016) comparou pacientes com atresia biliar (AB) e sem AB, dividindo-os em grupos com base na graduação da intensidade de células gigantes nas categorias "raro", "presente", "comum" e "proeminente". O estudo demonstrou que dentro do grupo de casos com hepatite

neonatal havia uma transformação proeminente de células gigantes. Contudo, não ficou claro quais parâmetros foram utilizados para distinguir essas categorias.

Apesar de alguns trabalhos, como os citados acima, sugerirem que um número maior de transformação giganto-celular tenha relação com CIH, no presente estudo não foi possível confirmar essa associação. Outros trabalhos não demonstraram também relação entre presença ou porcentagem de células gigantes com CIH. Em 2009, Brandão e colaboradores publicaram um estudo no qual analisaram 86 biópsias hepáticas de pacientes diagnosticados com colestase intra-hepática. Os participantes foram agrupados com base na etiologia em três categorias: infecciosa, genética-endócrina-metabólica e idiopática. Seis parâmetros histológicos foram avaliados: colestase, eosinofilia no infiltrado inflamatório, eritropoiese, siderose, fibrose portal e presença de células gigantes. A transformação das células gigantes foi classificada como ausente, leve (ocorrendo em no máximo 30% dos hepatócitos), moderada (entre 30% e 60% dos hepatócitos) e grave (mais de 60% dos hepatócitos). No entanto, não foi identificada qualquer relação, da transformação das células gigantes com a definição etiológica da colestase intra-hepática (Bellomo-Brandão et al, 2009).

Alguns estudos procuram estabelecer o valor da "transformação de células gigantes" na identificação da etiologia da CIH ou do grupo de etiologias que causam CIH. Nos estudos disponíveis sobre o tema, observa-se que a variável da transformação gigantocelular dos hepatócitos está presente em diversas etiologias de colestase neonatal, incluindo não apenas infecções congênitas, mas também em outras condições conhecidas por não estarem relacionadas a infecções, como pan-hipopituitarismo, síndrome ARC (artrogripose, doença renal e colestase), deficiência de alfa-1-antitripsina, além de outras doenças genéticas como a doença de Gaucher e a síndrome de McCune-Albright (Elias et al., 2011; Ikawa et al., 2016). Dessa forma, postula-se que o aparecimento da transformação gigantocelular dos hepatócitos seja uma resposta inespecífica do fígado nessa faixa etária a diferentes agravos, independentemente de serem de natureza infecciosa ou não. Além disso, atualmente é conhecido que o citomegalovírus (CMV) está associado à atresia biliar (AB) em um percentual significativo de casos, a ponto de Davenport (2012) classificar um dos tipos de atresia como associado a esse agente infeccioso. Por outro lado, mesmo nos casos de AB sem CMV, há relatos de um alto percentual de transformação de células gigantes, variando de 20% a 50% dos pacientes analisados (Davenport et al., 2006; Rastogi et al., 2009; Fawaz et al., 2017).

Em 2010, pesquisadores do Hospital Johns Hopkins e da Universidade e Hospital de Chicago realizaram uma revisão de todas as biópsias hepáticas feitas de

1984 a 2007 com diagnóstico histológico de hepatite neonatal de células gigantes. Os autores concluíram que as células gigantes estavam presentes em pacientes com hepatite neonatal idiopática, mas não foi possível diferenciar as etiologias com base nessa variável histológica, exceto em casos de pan-hipopituitarismo (Torbenson M. et al, 2010).

Apenas em uma entidade nosológica rara denominada hepatite neonatal hemolítica autoimune de células gigantes (HCG-AIH) há por definição a presença de transformação generalizada de células gigantes em hepatócitos de todos os pacientes. Essa condição é uma doença grave e progressiva que afeta exclusivamente lactentes e crianças pequenas, com alta mortalidade, apesar de imunossupressão agressiva e transplante hepático (Estrada et al., 2009; Nastasio et al., 2021).

Embora a presença da variável histológica “células gigantes” não tenha valor na predição do diagnóstico anatômico de colestase, sua presença em pacientes com AB pode representar pior prognóstico. Foi observado que esses pacientes evoluíram com menor drenagem biliar após 6 meses a 1 ano de seguimento clínico. Não se sabe a explicação desse resultado mas é possível que signifique uma maior extensão da doença acometendo não somente o sistema das vias biliares mas também o parênquima hepático. Outros achados como nível intenso de fibrose, lesão moderada a acentuada do ducto biliar e idade avançada para a Cirurgia de Kasai foram fatores preditivos da necessidade de realização de transplante hepático (Russo et al, 2016).

6. CONCLUSÕES

A partir da análise estatística da presente casuística não é possível afirmar que a presença de transformação gigantocelular de hepatócitos seja suficiente para diferenciar colestase extra-hepática (CEH) de colestase intra-hepática (CIH) e nem distinguir etiologias de CIH. Contudo, a presença dessa variável em pacientes com AB indicou pior drenagem biliar e provável pior prognóstico.

Com base nos resultados deste estudo e na discussão anterior, juntamente com os achados de outras pesquisas, é proposto que o termo "hepatite neonatal de células gigantes" seja reavaliado na literatura médica. Essa medida visa evitar associações definitivas dessa alteração histológica com a colestase intra-hepática e, possivelmente, prevenir equívocos no diagnóstico anatomopatológico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdalla AF, Fathy A, Zalata KR, Megahed A, Abo-Alyazeed A, El Regal ME. Morphometric assessment of liver fibrosis may enhance early diagnosis of biliary atresia. *World J Pediatr*. 2013; 9(4):330-5.
2. Alagille D, Roy CC, Silverman A. Prolonged obstructive jaundice including calculous and noncalculous gallbladder conditions. In: Roy CC, Silverman A (eds.). *Pediatric Clinical Gastroenterology* (St. Louis). 1995; p.637.
3. Balisteri, W. F. Neonatal cholestasis. *The Journal of Pediatrics*. 1985; 106(2), 171–84.
4. [Bellomo-Brandao MA](#), [Arnaut LT](#), [Tommaso AM](#), [Hessel G](#). Differential diagnosis of neonatal cholestasis: clinical and laboratory parameters. *J Pediatr (Rio J)*. 2010; 86(1): 40-4.
5. Bellomo-Brandão, MA; Escanhoela, CAF, Meirelles, L, [Porta, G.](#) ; Hessel, G. Analysis of the histologic features in the differential diagnosis of intrahepatic neonatal cholestasis. *World Journal of Gastroenterology*. 2009; 15:478-83.
6. Bennett DE. Problems in neonatal obstructive jaundice. *Pediatrics*. 1964; 33: 735-48.
7. Brough AJ & Bernstein J. Conjugated hyperbilirubinemia in early infancy. A reassessment of liver biopsy. *Human Pathology*. 1974; 5: 507-16.
8. Carvalho E, Ivantes CA, Bezerra JA. Extrahepatic biliary atresia: current concepts and future directions. *J Pediatr (Rio J)*. 2007; 83(2):105-20.
9. Chen G, Xue P, Zheng S, Chen L, Ma Y. A pathological scoring system in the diagnosis and judgment of prognosis of biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 2015; Dec; 50(12):2119-23.
10. Craig CM, Landing BH. Form of hepatitis in neonatal period stimulating biliary atresia. *Arch Pathol*. 1952; 54: 321-33.
11. Davenport M, Tizzard SA, Underhill J, et al. The biliary atresia splenic malformation syndrome: a 28-year single-center retrospective study. *J Pediatr*. 2006; 149:393–400.
12. Davenport M. Biliary atresia: clinical aspects. *Semin Pediatr Surg*. 2012; 21(3):175-84.
13. Dellert, SF & Balistreri, WF. Neonatal cholestasis. In: Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB, editors. *Pediatric gastrointestinal disease*:

- pathophysiology, diagnosis, management. 3rd ed. Ontario: BC Decker. 2000; pp. 880-94.
14. Dillman JR, DiPaola FW, Smith SJ, Barth RA, Asai A, Lam S, et al. Prospective Assessment of Ultrasound Shear Wave Elastography for Discriminating Biliary Atresia from other Causes of Neonatal Cholestasis. *J Pediatr*. 2019; 212:60-5.
 15. Elferink RO & Groen AK. Genetic defects in hepatobiliary transport. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1586(2):129-45.
 16. El-Guindi MAS, Sira MM, Sira AM, Salem TAH, El-Abd OL, Konsowa HAS et al. Design and validation of a diagnostic score for biliary atresia. *J Hepatol*. 2014; 61: 116–123.
 17. Elias AF, Johnson MR, Boitnott JK, Valle D. Neonatal cholestasis as initial manifestation of type 2 Gaucher disease: a continuum in the spectrum of early onset Gaucher disease. *JIMD Rep*. 2012; 5:95-8.
 18. Estradas J, Pascual-Ramos V, Martínez B, Uribe M, Torre A. Autoimmune hepatitis with giant-cell transformation. *Ann Hepatol*. 2009; 8(1):68-70.
 19. Fawaz R, Baumann U, Ekong U, Fischler B, Hadzic N, Mack CL et al. Guideline for the Evaluation of Cholestatic Jaundice in Infants: Joint Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric J *Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017; 64(1):154-68.
 20. Feldman AG, Mack CL. Biliary atresia: Clinical Lessons Learned. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015; 61(2):167-75.
 21. Hessel G, Sawamura R. Colestase do lactente. In: Barbieri D, Palma D, editors. *Gastroenterologia e Nutrição. Série Atualizações Pediátricas*. São Paulo: Atheneu. 2001; pp. 143-57.
 22. Hessel G, Yamada RM, Escanhoela CAF, Bustorff-Silva JM, Toledo RJ. Valor da ultra-sonografia abdominal e da biópsia hepática percutânea no diagnóstico diferencial da colestase neonatal. *Arquivos de Gastroenterologia*. 1994; 31(2):75.
 23. Ikawa Y, Yachi Y, Inoue N, Kato A, Okajima M, Yachie A. Neonatal McCune-Albright Syndrome with Giant Cell Hepatitis. *J Pediatr*. 2016; 178:298.
 24. Kasai M, Yakovac WC & Koop CE. Liver in congenital biliary atresia and neonatal hepatitis - a histopathologic study. *Archives of Pathology*. 1962; 74: 152-162.

25. Li MK, Crawford JM. The pathology of cholestasis. *Semin. Liver Dis.* 2004; **24**: 21–42.
26. Morotti RJD. Pediatric Cholestatic Disorders. Approach to pathologic diagnosis. *Surg Pathol Clin.* 2013; 6:205–390.
27. Moyer V, Freese DK, Whittington PF, Olson AD, Brewer F, Colletti RB, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the evaluation of cholestatic jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004; 39(2):115-28.
28. Nastasio S, Matarazzo L, Sciveres M, Maggiore G. Giant cell hepatitis associated with autoimmune hemolytic anemia: an update. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2021 Apr 5;6:25.
29. Poupon R, Chazouillères O, Poupon RE. Chronic cholestatic diseases. *J Hepatol.* 2000; 32:129-40.
30. Ranucci GC, Della Corte D, Alberti et al. Diagnostic approach to neonatal and infantile cholestasis: A position paper by the SIGENP liver disease working group. *Digestive and Liver Disease.* 2022; 54:40–53.
31. Rastogi A, Krishnani N, Yachha SK, et al. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in developing countries. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009; 24:97–102.
32. Roquete MLV. Neonatal cholestasis. *J Pediatr (Rio J).* 2000; 76 Suppl 1:S187-97.
33. Russo PA, Magee JC, Anders RA, Bove KE, Chung C, Cummings OW et al. Key Histopathologic Features of Liver Biopsies That Distinguish Biliary Atresia From Other Causes of Infantile Cholestasis and Their Correlation With Outcome. *Am J Surg Pathol.* 2016; 40: 1601–15.
34. Russo PA, Magee JC, Boitnott J, Bove KE, Raghunathan T, Finegold M, et al. Biliary Atresia Research Consortium. Design and validation of the biliary atresia research consortium histologic assessment system for cholestasis in infancy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 9(4):357-62.
35. Santos JL, Almeida H, Cerski CT, Silveira TR. Histopathological diagnosis of intra- and extrahepatic neonatal cholestasis. *Braz J Med Biol Res.* 1998; Jul;31(7):911-19.
36. Shiraki K, Okada T & Tanimoto K. Evaluation of various diagnostic methods in biliary atresia. In: Ohi R (Editor), *Biliary atresia. Proceedings of the 4th International Symposium on Biliary Atresia.* Professional Postgraduate Services, Tokyo, 1987.

37. Shneider BL, Magee JC, Karpen SJ, Rand EB, Narkewics MR, Bass LM, et al. Total serum bilirubin within 3 months of hepatoportoenterostomy predicts short-term outcomes in biliary atresia. *J Pediatr*. 2016; 170: 211-17.
38. Sira MM, Taha M, Sira AM. Common misdiagnoses of biliary atresia. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014; Nov;26(11):1300-5.
39. Sokol RJ. Biliary atresia screening: why, when, and how? *Pediatrics*. 2009; 123(5):e951-2.
40. Torbenson M, Hart J, Westerhoff M, Azzam RK, Elgendi A, Mziray-Andrew HC, et al. Neonatal giant cell hepatitis: histological and etiological findings. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34(10):1498-503.
41. Wang JS, Tan N, Dhawan A. Significance of low or normal serum gamma glutamyl transferase level in infants with idiopathic neonatal hepatitis. *Eur J Pediatr*. 2006; 165:795-801.
42. Wang L, Yang Y, Chen Y, Zhan J. Early differential diagnosis methods of biliary atresia: a meta-analysis. *Pediatr Surg Int*. 2018; 34(4):363-80.
43. Zerbini MCN. Análise semiquantitativa e quantitativa de variáveis histopatológicas no diagnóstico diferencial das formas intra e extra-hepática da síndrome colestática do recém-nascido. Doctoral thesis, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1985.

8. ANEXOS

Este projeto **Valor da variável "transformação hepatocitária gigante-celular" no diagnóstico anatômico e no prognóstico da colestase neonatal**, obteve sua aprovação junto ao Comitê de Ética e pesquisa da UNICAMP na data de 11 de Janeiro de 2022, sob parecer de n. **5.197.574**.

Anexo 1 Classificação de colestase neonatal (adaptado de Dellert & Balisteri, 2000)	
I. Intra-hepática	
• Infecçiosa	➤ Bacteriana: sepsis, listeriose, sífilis, tuberculose ➤ Viral: rubéola, citomegalovírus, herpes, coxsackie, ECHO, hepatite B e C, vírus de imunodeficiência humana e parvovírus B19 ➤ Protozoário: toxoplasmose
• Metabólicas	➤ Distúrbios do metabolismo dos carboidratos: galactosemia, intolerância hereditária à frutose, glicogenose tipo IV. ➤ Deficiência de alfa-1-antitripsina ➤ Fibrose cística ➤ Tirosinemia ➤ Distúrbios do metabolismo dos lípidos: Wolman, Niemann-Pick, doença de Gaucher ➤ Distúrbios da excreção das bilirrubinas: Dubin-Johnson e Rotor
• Endocrinológicas	➤ Hipopituitarismo ➤ Hipotireoidismo
• Genéticas	➤ Síndrome de Down ➤ Síndrome de Donahue ➤ Colestase intra-hepática progressiva familiar (PFIC)
• Pobreza de ductos biliares intra-hepáticos	➤ Síndrômica: síndrome de Alagille ➤ Não síndrômica: doença de Byler, síndromes de deficiência do metabolismo dos sais biliares, doença de Zelweger
• Miscelânea	➤ Nutrição parenteral ➤ Drogas ➤ Choque ➤ Histiocitose das células de Langerhans ➤ Obstrução intestinal ➤ Lúpus neonatal
• Idiopática	
II. Extra-hepática	
• Atresia biliar	
• Estreitamento do ducto biliar	
• Cisto de colédoco	
• Anomalia da junção coledocopancreática	
• Perfuração espontânea do ducto biliar	
• Neoplasia	
• Litíase biliar	

Anexo 2		
Diagnóstico diferencial entre colestase extra e intra-hepática (adaptado de Alagille, 1995)		
Dados	Colestase	Colestase
Clínicos	Extra-Hepática	Intra-Hepática
Peso de nascimento (média)	3230g	2680g
Idade de Início da acolia (dias)	16	30
Persistencia da acolia (10 dias de observação)	79%	26%
Fígado grande e de consistência Aumentada	87%	53%

Anexo 3	
Parâmetros clínicos na colestase neonatal (adaptado de Fawaz et al, 2017)	
I. Antecedente familiar	
Consanguinidade	Risco aumentado de doença autossômica recessiva
Colestase neonatal em parentes ou irmão	Fibrose cística, deficiência de alfa 1-antitripsina, PIFC, Alagille, condições genéticas
Histórico aborto ou prematuridade	Doença hepática gestacional aloimune
Esferocitose ou outras doenças hemolíticas	Agravo de hiperbilirrubinemia conjugada
I. Antecedente obstétrico	
Achados ultrassonográficos	Presença de cisto de colédoco, colelitíase, malformações intestinais, outras malformações
Colestase na gestação	PFIC (mutações heterozigose), desordens mitocondriais
Esteatose hepática na gestação	Deficiência da enzima 3-hidroxiacil-coa desidrogenase de cadeia longa
Infecção materna	Infecção congênita- TORCH (Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes vírus)
II. Antecedente neonatal	
Idade gestacional	Prematuridade é risco para hepatite neonatal
Pequeno para idade gestacional	Risco aumentado de infecção congênita
Hemólise/ Deficiência de G6PD/ Hidropsia fetal	Risco aumentado de colestase neonatal
Infecção neonatal	Infecção urinária, sepse, CMV, HIV, Sífilis, etc
Triagem neonatal endocrino-metabólica	Panhipopituitarismo, galactosemia, deficiência oxidação de ácidos graxos, fibrose cística
Fonte nutricional (aleitamento materno, fórmula infantil, nutrição parenteral)	Galactosemia, intolerância à frutose, colestase associada a nutrição parenteral prolongada
Baixo ganho pondero-estatural	Doenças genéticas ou metabólicas
Baixa acuidade visual	Displasia septo-óptico
Perda auditiva	PFIC 1, TJP2
Vômitos persistentes	Doença metabólica, obstrução intestinal, estenose de piloro
Íleo meconial	Fibrose cística, panhipopituitarismo,
Diarreia	Doença infecciosa ou metabólica
Acolia fecal	Obstrução biliar
Colúria	Hiperbilirrubinemia conjugada
Sangramento	Coagulopatia, deficiência de vitamina K
Irritabilidade ou Letargia	Doença metabólica, sepse e panhipopituitarismo
Cirurgia abdominal	Enterocolite necrotizante, atresia intestinal

Anexo 4 Parâmetros do exame físico na colestase neonatal (adaptado de Fawaz et al, 2017; Ranucci et al, 2022)	
Estado geral	Mal estado geral indica doença infecciosa ou metabólica; Atresia biliar com boa aparência e nutrição;
Avaliação das fezes e urina	Acolia sugere obstrução biliar (AB) Colúria sugere colestase
Dismorfismos	Alagille (ponte nasal larga, face triangular, olhos profundos) Zellweger desordem Smith- Lemii-Opitz Síndrome Artrogliose renal colestática (ARC) Infecções congênicas PFIC 1/ TJP2 Doenças mitocondriais
Exame oftalmológico	Embriotoxon posterior: Alagille Catarata: galactosemia, infecções congênicas, Zellweger desordem, Desordem lisossomal. Movimentos rotatórios oculares (deficiência de DGUOK)
Exame auditivo	Perda auditiva: infecções congênicas, Zellweger desordem, erro metabolismo
Exame cardiovascular	Sopro cardíaco/Malformação cardíaca: Alagille, AB com malformação esplênica Situs inversus: Atresia biliar Cardiomiopatia (doença mitocondrial/glicogenose)
Exame abdominal	Ascite, circulação colateral abdominal, tamanho e consistência de fígado e baço, massa abdominal e hérnia umbilical Esplenomegalia (Niemann-Pick, Doença de Gaucher)
Exame neurológico	Hipotonia (Doença peroxissomal, mitocondrial) Letargia/Desnutrição (Erro inato do metabolismo)
Exame pele	Ictiose (ARC, Gaucher, Erro inato do metabolismo)
Genitália	Micropênis (Panhipopituitarismo) Genitália ambígua (Smith- Lemii-Opitz)

Anexo 5 Parâmetros laboratoriais e de imagem na investigação de colestase neonatal (adaptado de Fawaz et al, 2017; Ranucci et al, 2022)	
I. Avaliação inicial	
BT/BD, ALT, AST, FALC, GGT, Albumina, RNI/TP, TTPA	Definir grau de acometimento hepático
Leucograma (diferencial celular)	Suspeita de infecção e doença metabólica
Hemocultura	
Ácidos biliares	Normalmente elevada na colestase. Valores baixos sugerem defeito na síntese de ácidos biliares
TSH, T4L, ACTH, Cortisol	Hipotireoidismo Insuficiência adrenal Hipopituitarismo
Urina 1 e urocultura	Infecção urinária
Glicemia, eletrólitos, gasometria, bicarbonato, lactato, amônia	Erro inato do metabolismo
CPK, ureia, creatinina, Ca/P, perfil lipídico (colesterol, LDL, HDL, triglicerídeos)	Envolvimento sistêmico Doença metabólica Alagille
Teste do cloro no suor	Fibrose cística
Alfa 1-antitripsina	Deficiência de alfa 1-antitripsina
Perfil de ferro	Doença hepática gestacional aloimune
Sorologias	Infecções congênitas
Ultrassom abdominal	Ascite, Hepatoesplenomegalia, Ecogenicidade hepática, Atresia vias biliares extra-hepáticas, Calcificação adrenal (Wolman), Cistos renais (Zellweger)
Ecocardiograma	Defeitos cardíacos
Fundo de olho e exame de lâmpada de fenda	Defeitos oculares
II. Avaliação secundária	
GH, IGF1, PRL, LH, FSH	Panhipopituitarismo
Vitaminas A, D, E e K	Deficiência de vitaminas lipossolúveis
Metabólitos intermediários	Erro inato do metabolismo
Teste genético	Cariótipo, Array-CGH, Painel genético específico, Exoma e Genoma
Inventário ósseo	Condições infiltrativas (Linfocitose hemofagocítica)
Eletroencefalograma (EEG)	Avaliação neurológica
Biópsia hepática	
Colangiografia	
Colangiopancreatografia retrógrada endoscópica	Diagnóstico anatômico