



Últimos 10 anos no Diagnóstico de Atresia Biliar

Marta Sofia da Silva Tavares

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

Orientador: Professor Doutor Jorge Luiz dos Santos

dezembro de 2023

Declaração de Integridade

Eu, Marta Sofia da Silva Tavares, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 42049 de Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 14/12/2022

Assinatura,

A handwritten signature in black ink that reads "Marta Tavares". The script is cursive and fluid.

(assinatura conforme Cartão de Cidadão)

Dedicatória e Agradecimentos

Aos meus pais e aos meus irmãos, que sempre me apoiaram e me acompanharam na longa caminhada que é o curso de Medicina. Obrigada pelo incentivo, amor e carinho.

À minha família e ao Miguel, pelo apoio e amor incondicional.

Às amigas antigas, que se mantiveram mesmo com a distância. Às amigas criadas na faculdade, que foram a minha casa na Covilhã, com quem percebi que o curso não se faz sozinho.

Ao meu orientador, Professor Doutor Jorge Luiz dos Santos, que me ajudou na concretização deste trabalho com orientação, partilha de ideias e uma enorme disponibilidade e dedicação pelo tema.

À faculdade, a todos os professores com quem me cruzei ao longo do curso e a estes 6 anos cheios de aventuras e de muito estudo.

Obrigada a todos que contribuíram de alguma forma para tornar este percurso mais belo.

Resumo

A atresia biliar é a causa mais comum de icterícia obstrutiva nos primeiros três meses de vida, levando à fibrose progressiva e destruição dos ductos biliares intra e extra-hepáticos. Clinicamente, caracteriza-se por icterícia prolongada, acolia das fezes e colúria. Quando não tratada, a fibrose progride e culmina na morte até aos 2 anos de vida. A atresia biliar requer uma intervenção para restaurar o fluxo biliar e preservar o fígado – a portoenterostomia de Kasai. Se não tratada precocemente e adequadamente, a doença evolui para insuficiência hepática crónica e cirrose biliar com necessidade de transplante hepático, sendo a atresia biliar a indicação mais comum deste procedimento na infância. O diagnóstico atempado de atresia biliar é crucial para melhorar os resultados clínicos destes doentes, uma vez que a cirurgia precoce está associada a sobrevida mais longa com fígado nativo. No entanto, o diagnóstico precoce e preciso permanece complexo porque existe sobreposição de características da atresia biliar com outras causas de colestase neonatal.

Através de uma revisão bibliográfica, o principal objetivo desta dissertação é analisar os artigos dos últimos 10 anos relacionados com o diagnóstico da atresia biliar, debruçando-se sobretudo sobre os métodos de diagnóstico atuais e promissores para a atresia biliar.

Nesta revisão constatou-se um grande avanço nos métodos de diagnóstico e têm sido propostos novos métodos promissores como é o caso do biomarcador sérico MMP7, da elastografia e da via laparoscópica na colangiografia intraoperatória. Contudo, são métodos que precisam de ser mais estudados, sendo que alguns necessitam ainda de validação diagnóstica com estudos prospetivos multicêntricos.

Palavras-chave

Colestase Neonatal; Icterícia Obstrutiva; Atresia Biliar; Diagnóstico

Abstract

Biliary atresia is the most common cause of obstructive jaundice in the first three months of life, leading to progressive fibrosis and destruction of intrahepatic and extrahepatic bile ducts. Clinically, it is characterized by prolonged jaundice, acholic stools and choloria. When untreated, fibrosis progresses and ultimately results in death by the age of 2 years old. Biliary atresia requires intervention to restore bile flow and preserve the native liver – the Kasai portoenterostomy. If not treated early and properly, the disease progresses to chronic liver failure and cirrhosis, requiring liver transplant, making biliary atresia the most common indication for this procedure in childhood. Appropriate diagnosis is crucial to improve the clinical outcomes of these patients, as early surgery is associated with longer survival with the native liver. However, early and accurate diagnosis remains complex because there is an overlap of features of biliary atresia with other causes of neonatal cholestasis.

Through a literature review, the main objective of this thesis is to analyze articles from the last 10 years related to the diagnosis of biliary atresia, focusing mainly on current and promising diagnostic methods for this disease.

This review revealed significant developments in diagnostic methods, with new promising methods proposed, such as the serum biomarker MMP7, elastography, and laparoscopic intraoperative cholangiography. However, these methods still require further study, and some need diagnostic validation through prospective multicentred studies.

Keywords

Neonatal Cholestasis; Obstructive Jaundice; Biliary Atresia; Diagnosis

Índice

Declaração de Integridade.....	iii
Dedicatória e Agradecimentos	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Acrónimos.....	xvii
1. Breves considerações sobre anatomia e fisiologia do fígado e sistema biliar	1
1.1. Fígado	1
1.2. Ductos biliares e vesícula biliar	4
1.3. Fisiologia hepatobiliar.....	5
2. Colestase neonatal	8
2.1. Conceito.....	8
2.2. Clínica	8
2.3. Epidemiologia	8
2.4. Causas da colestase neonatal	9
3. Objetivos.....	11
4. Métodos	12
5. Atresia biliar	13
5.1. Conceito.....	13
5.2. Clínica	16
5.3. Epidemiologia	17
5.4. Tratamento cirúrgico	17
6. Desafio do diagnóstico diferencial da atresia biliar	20
7. Diagnóstico da atresia biliar	23
7.1. Estudo clínico	23
7.2. Estudo laboratorial	24

7.3. Estudos de imagem.....	27
7.3.1. Ecografia.....	27
7.3.3. Colangiopancreatografia Retrógrada Endoscópica (CPRE)	33
7.3.4. Colangiopancreatografia por Ressonância Magnética (CPRM) e Ressonância Magnética (RM)	35
7.3.5. Colecisto-colangiografia percutânea	36
7.5. Colangiografia intraoperatória	40
7.5.1. Laparoscopia.....	41
7.6. Sequenciação de Nova Geração (NGS)	43
8. Conclusão	44
9. Referências bibliográficas	48

Lista de Figuras

Figura 1. Anatomia hepatobiliar e a sua relação com o pâncreas e o duodeno.....	1
Figura 2. Microestrutura hepática.....	4
Figura 3. Síntese de ácidos biliares, metabolismo e fluxo biliar, mostrando os genes associados às diferentes etapas fisiológicas	5
Figura 4. Classificação anatômica da atresia biliar segundo a Sociedade Japonesa de Cirurgiões Pediátricos	14
Figura 5. Representação esquemática das alterações histopatológicas indicadoras de obstrução mecânica extra-hepática, comparativamente ao normal	38
Figura 6. Dois tipos de sinal de HSST na AB	42
Figura 7. Sinal HSST típico e atípico	42
Figura 8. Fluxograma de diagnóstico de AB	46

Lista de Tabelas

Tabela 1. Diagnóstico diferencial da colestase neonatal	9
Tabela 2. Tipos de AB propostos considerando os aspetos anatómicos e clínicos	16
Tabela 3. Características clínicas e prevalência das anomalias extra-hepáticas.....	17
Tabela 4. Tabela-resumo com os métodos complementares de diagnóstico na AB	44

Lista de Acrónimos

AB	Atresia biliar
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
AE2	<i>Chloride/bicarbonate anion exchanger 2</i> , Trocador aniónico cloreto/bicarbonato 2
ABT	Ácidos biliares totais
ALT	Alanina aminotransferase
ASBT	<i>Apical Sodium Dependent Bile Acid Transporter</i> , Transportador apical de ácido biliar dependente de sódio
AST	Aspartato aminotransferase
BASM	<i>Biliary atresia splenic malformation</i> , Malformação esplénica da AB
BD	Bilirrubina direta/conjugada
BSEP	<i>Bile salt export pump</i> , Bomba de exportação de sais biliares
BT	Bilirrubina total
CABA	<i>Cardiac-associated biliary atresia</i> , Atresia biliar associada a anomalias cardíacas
CFTR	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i> , Regulador de condutância transmembranar da fibrose quística
CN	Colestase neonatal
CPRE	Colangiopancreatografia retrógrada endoscópica
CPRM	Colangiopancreatografia por ressonância magnética
CT	Colestase total
DAAT	Deficiência de alfa-1-antitripsina
FA	Fosfatase alcalina
FXR	<i>Farnesoid X receptor</i>
GGT	Gama-glutamil transpeptidase
HBS	<i>Hepatobiliary scintigraphy</i> , Cintilografia hepatobiliar
HSST	<i>Hepatic subcapsular spider-like telangiectasis</i> , Telangiectasias subcapsulares hepáticas tipo aranha
INR	Índice internacional normalizado
KPE	<i>Kasai hepatic portoenterostomy</i> , Portoenterostomia hepática de Kasai

MMP7	Metaloproteinase de matriz 7
MRP	<i>Multidrug resistance-associated protein</i>
NGS	<i>Next-generation sequencing</i> , Sequenciação de nova geração
OST α/β	<i>Organic solute transporter alpha and beta</i> , Transportador de solutos orgânicos alfa e beta
PCC	<i>Percutaneous cholecysto-cholangiography</i> , Colecisto-colangiografia percutânea
PEP	Pancreatite pós-CPRE
PFIC	<i>Progressive familial intrahepatic cholestasis</i> , Colestase intra-hepática familiar progressiva
RM	Ressonância magnética
SALG	Síndrome de alagille
SCC	<i>Stool color card</i> , Cartão da escala cromática das fezes
SPECT	<i>Single-photon emission computed tomography</i> , Tomografia computadorizada por emissão de fóton único
TP	Tempo de protrombina
TxH	Transplante hepático
VCI	Veia cava inferior
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

1. Breves considerações sobre anatomia e fisiologia do fígado e sistema biliar

Para compreender melhor a colestase neonatal, a atresia biliar e os diversos métodos de diagnóstico é importante ter noções sobre a anatomia e fisiologia do fígado e do sistema biliar. Na figura 1 encontra-se esquematizada a anatomia hepatobiliar.

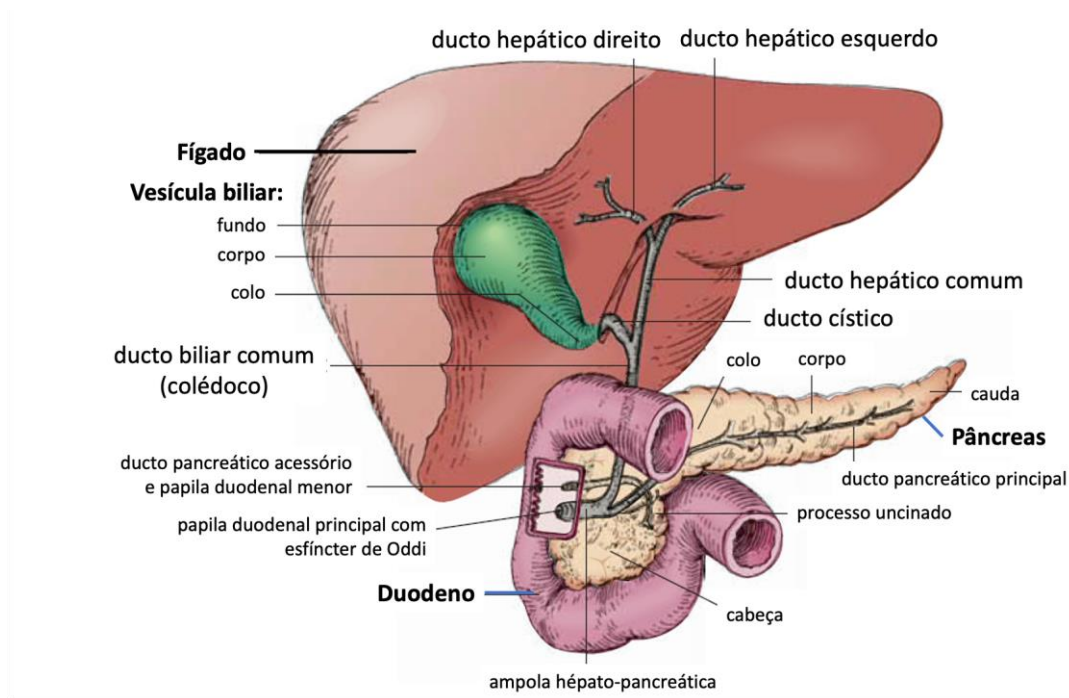


Figura 1. Anatomia hepatobiliar e a sua relação com o pâncreas e o duodeno. Adaptado de: (1).

1.1. Fígado

O fígado é a maior glândula do corpo e está localizado principalmente no quadrante superior direito protegido pela caixa torácica e diafragma. O fígado tem uma face diafragmática convexa e uma face visceral plana ou côncava e é revestido pela cápsula de Glisson, que é constituída por tecido conjuntivo. Este órgão pode ser dividido em lobos anômicos ou subdividido do ponto-de-vista anômico-fisiológico em segmentos (2).

Os lobos hepáticos são divididos em direito e esquerdo. Existem ainda dois lobos acessórios, designados lobo quadrado e caudado, que são descritos como parte do lobo direito, contudo, funcionalmente estão relacionados com o lado esquerdo. Cirurgicamente, o fígado pode ser dividido em oito segmentos vasculares independentes e cada segmento inclui uma

ramificação da tríade portal (ramos da artéria hepática, veia porta e ducto biliar) e uma ramificação da veia hepática (1,3).

Uma estrutura importante envolvida na atresia biliar é a *porta hepatis*. A *porta hepatis* é uma estrutura onde entram e saem os vasos (veia porta, artéria hepática e vasos linfáticos), o plexo nervoso hepático e os ductos hepáticos (2,3).

O fígado participa na manutenção da homeostase, metabolizando a maioria dos compostos nutricionais e neutralizando e preparando toxinas exógenas e endógenas para serem removidas (4). Todos os nutrientes absorvidos, à exceção dos triglicéridos de cadeia longa, penetram o fígado através do sistema venoso porta. Esta glândula sintetiza proteínas plasmáticas (albumina e globulina não-imune), fatores de coagulação, anticoagulantes e pigmentos biliares (bilirrubina e biliverdina) a partir da hemoglobina. Tem ainda como função armazenar glicogénio e outras fontes de energia, ferro e inúmeras vitaminas. No feto, o fígado é importante na hematopoiese (1,2).

Uma função importante do fígado e que merece realce nesta dissertação é a produção e secreção de bÍlis. A bÍlis é produzida pelos hepatócitos de forma contínua e, entre as refeições, é armazenada na vesícula biliar que a concentra. A bÍlis tem como função emulsificação dos lípidos e é um meio de eliminação de toxinas exógenas e endógenas. É constituída por água (composto principal), ácidos biliares, pigmentos (como a bilirrubina), eletrólitos (sódio, potássio, cálcio, bicarbonato e cloreto), proteínas e péptidos, glicose e pequenas quantidades de substâncias endógenas (como hormonas da tiroide e esteroides). Os principais solutos orgânicos da bÍlis são os sais biliares, os fosfolípidos e o colesterol, que formam agregados designados micelas (2,5).

Os hepatócitos e os colangiócitos são os dois principais tipos de células hepáticas. Os hepatócitos são células parenquimatosas fundamentais, altamente polarizadas, realizam atividades metabólicas complexas e compreendem três domínios funcionalmente distintos: o domínio basolateral, o domínio lateral e o domínio canalicular. Os hepatócitos são polarizados por inúmeras especializações moleculares, na forma de recetores, bombas, canais de transporte e proteínas transportadoras. Os colangiócitos constituem os canais que compõem o sistema biliar, têm um papel na imunorregulação e drenam o parênquima. Garantem também o fluxo constante de bÍlis, modificando a composição através da secreção de bicarbonato (alcalinização da bÍlis) e absorção e diluição de ácidos biliares devido à presença do CFTR, e absorção de glicose e de glutamato (4).

Outras células incluídas no tecido hepático incluem células endoteliais do parênquima, as células estreladas, os miofibroblastos, as células de Kupffer e as células mesoteliais da cápsula de Glisson. As células estreladas hepáticas (ou células de Ito), localizadas no espaço

peri-sinusoidal de Disse, quando em estado quiescente, acumulam vitamina A na forma de retinol éster. No estado ativado devido a algum fenómeno patogénico, proliferam, tornam-se contráteis e apresentam quimiotaxia, ou seja, adotam características de miofibroblastos. Neste estado passam a produzir colagénio e tornam-se a principal fonte de fibrose hepática, podendo levar a cirrose. Há outros miofibroblastos no fígado, incluindo os localizados nas tríades portais. As células de Kupffer são os macrófagos residentes no fígado, que filtram o sangue e tem um papel crucial na regulação imunológica. Para além destas células, estão ainda presentes no fígado quase todos os subtipos de linfócitos e células dendríticas. As células mesoteliais da cápsula de Glisson, além da sua função mecânica, contribuem na produção de linfa e na geração de outros tipos de células hepáticas (4,6).

O fígado tem irrigação dupla através da veia porta e da artéria hepática. A veia porta é formada pela união das veias mesentérica superior e esplénica, transporta 75% a 80% do sangue para o fígado e supre o parênquima hepático. Tem oxigénio e pressão diminuta, mas é rico em nutrientes, em materiais tóxicos, em hormonas e em fatores de crescimento. A artéria hepática tem origem no tronco celíaco e transporta os restantes 20% a 25% de sangue para o fígado que se distribui por estruturas não parenquimatosas como o plexo vascular peribiliar, o interstício da tríade portal e a região subcapsular hepática. Estes dois vasos sanguíneos dividem-se na *porta hepatis* em ramos direitos e esquerdos com ramificações secundárias e terciárias sucessivas que suprem os segmentos hepáticos. O sangue do fígado é drenado pelas veias hepáticas intersegmentares e depois pelas veias hepáticas ou centrais que se abrem posteriormente na veia cava inferior (2,4).

Os sinusoides formam um sistema vascular e constituem capilares com grandes lacunas endoteliais. Esta morfologia celular aliada ao baixo fluxo sanguíneo e à ausência de uma membrana basal estruturada, proporcionam um amplo contacto entre o sangue e os hepatócitos, possibilitando a passagem de grandes moléculas proteicas como a albumina (4).

A nível estrutural, o parênquima está dividido em lóbulos hepáticos, tendo por norma configuração hexagonal. Ao centro encontra-se a veia centrolobular, também denominada veia central ou hepática terminal, e nas periferias as tríades portais constituídas pelos ramos terminais da veia porta e da artéria hepática e pelos ductos biliares interlobulares. As tríades portais contêm ainda vasos linfáticos, nervos e diversas populações celulares. Os hepatócitos estão organizados em placas, preenchendo o espaço entre as tríades portais e as veias centrolobulares (4). Na figura 2 está representada a microestrutura hepática referida.

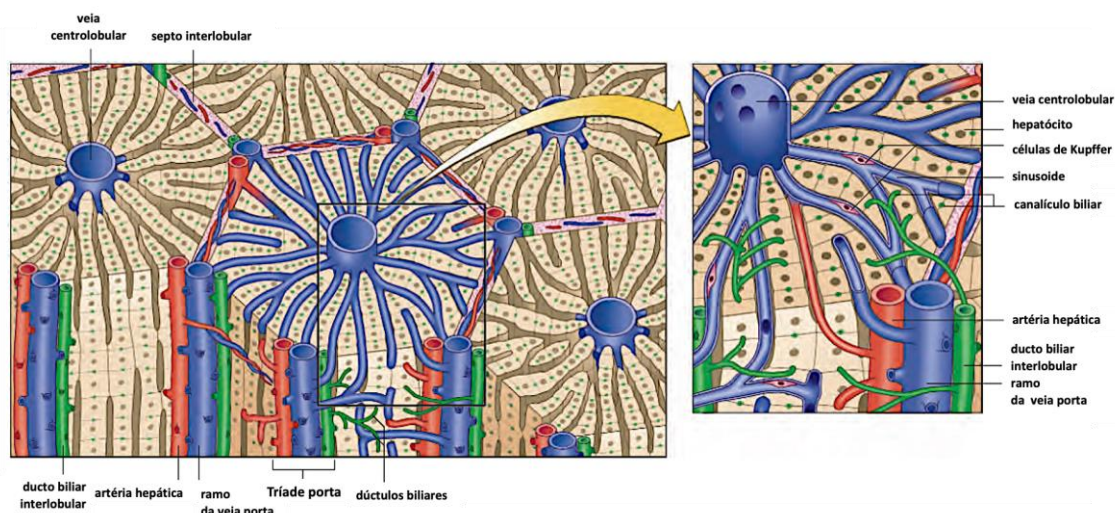


Figura 2. Microestrutura hepática. As células endoteliais sinusoidais não são exibidas. Adaptado de: (6)

O ácino hepático consiste numa massa parenquimatosa, centrada numa linha que conecta duas tríades portais e que se estende na direção de duas veias centrolobulares adjacentes, e baseia-se no gradiente de distribuição sanguínea de nutrientes e oxigénio. Considerando a distância à veia centrolobular, o ácino é subdividido em três zonas. A zona periportal (I) é a mais próxima aos vasos supridores e recebe a maior parte do sangue oxigenado. Já a zona centrolobular (III) tem menor oxigenação, sendo mais sensível à lesão isquémica. As três zonas estão relacionadas com a funcionalidade do parênquima hepático (4).

O fígado produz entre um quarto a metade da linfa recebida pelo ducto torácico e esta é formada principalmente nos espaços perissinusoidais de Disse. Os vasos linfáticos podem ser superficiais ou profundos e drenam para diferentes linfonodos. A inervação hepática é feita pelo plexo hepático que acompanha os ramos da artéria hepática e da veia porta e contém fibras simpáticas e parassimpáticas (2).

1.2. Ductos biliares e vesícula biliar

A bÍlis é secretada para os canálculos biliares, através da membrana canalicular. Estes drenam para os ductos biliares interlobulares e, posteriormente, para os ductos biliares coletores que se fundem para formar os ductos hepáticos (direito e esquerdo), os quais se unem no ducto hepático comum. Este último conecta-se ao ducto cístico e forma o ducto colédoco. O ducto colédoco e o ducto pancreático unem-se e formam uma dilatação, denominada ampola hÉpato-pancreática (ampola de Vater), que se abre na parte descendente do duodeno. A prega espiral do ducto cístico, o músculo esfíncter do ducto colédoco e o músculo esfíncter da ampola controlam o fluxo de bÍlis (2). Contudo, apenas 60% das pessoas apresentam o padrão clássico descrito da anatomia do sistema biliar (7).

A vesícula biliar localiza-se na face visceral do fígado. Tem normalmente uma forma piriforme e tem como função receber, armazenar (30 a 50 ml) e concentrar a bÍlis. É constituída por três partes: o fundo, o corpo e o colo. O colo faz uma curva simples ou em forma de S e une-se ao ducto cístico. A irrigação da vesícula biliar e do ducto cístico provém principalmente da artéria cística e a drenagem dá-se pelas veias císticas (2,3).

A bÍlis é secretada durante as refeições quando a vesícula biliar se contrai após estimulação parassimpática que ocorre com a chegada do conteúdo alimentar ao duodeno ou pela libertação da hormona colecistoquinina da mucosa duodenal. A bÍlis que chega ao duodeno é composta pela bÍlis concentrada da vesícula biliar e por uma componente mais diluída que flui diretamente do fígado (1,3).

1.3. Fisiologia hepatobiliar

A figura 3 representa as diferentes etapas da síntese de ácidos biliares, metabolismo e fluxo biliar.

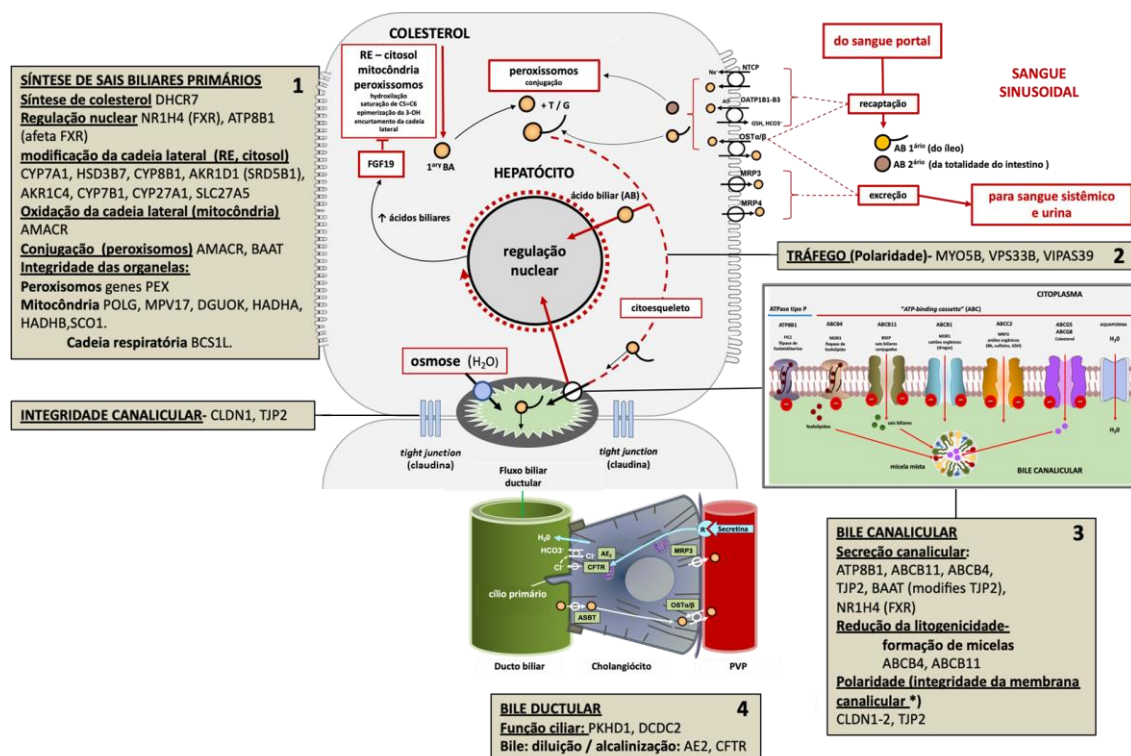


Figura 3. Síntese de ácidos biliares, metabolismo e fluxo biliar, mostrando os genes associados às diferentes etapas fisiológicas. Abreviações: ABC - *ATP binding cassette* (subfamílias B, C, G); AE2 - proteína de troca aniônica 2; ASBT - transportador apical de ácido biliar dependente de sódio; BSEP - bomba de exportação de sais biliares; ATP8B1 - ATPase transportadora de fosfolípidos 8B1 (ou FIC1 - proteína associada à colestase intra-hepática familiar 1); BA - ácido biliar; CFTR - regulador da condutância transmembranar da fibrose quística; ER - retículo endoplasmático; FGF19 - fator de crescimento de fibroblastos 19; MDR - *multidrug-resistant protein*; MRP - *multidrug resistance-associated protein*; NTCP - polipeptídeo co-transportador de Na⁺ - taurocolato; OATP - peptídeo transportador de aniões orgânicos; OST α/β - transportador de solutos orgânicos alfa e beta; PVP - plexo vascular peribiliar; T/G - taurina ou glicina. (Caixas de genes 1-3) - consultar <https://www.genecards.org/>; <https://panelapp.genomicsengland.co.uk/>

A síntese dos ácidos biliares primários é um processo complexo que ocorre em diversas partes dos hepatócitos, incluindo o citosol, retículo endoplasmático, mitocôndrias e peroxissomas. Este processo envolve etapas sequenciais (vide figura 3, caixa 1) que convertem o colesterol em ácidos biliares primários anfipáticos. Os principais ácidos biliares primários são o ácido quenodesoxicólico e o ácido cólico. Nos peroxissomas, os ácidos biliares primários são conjugados com os aminoácidos taurina e glicina, tornando-se sais biliares solúveis e impermeáveis à membrana, que compõem 51% da composição da bÍlis. Os sais biliares são resistentes à precipitação em pH fisiológico e à ação das enzimas pancreáticas, apresentando maior capacidade anfipática e solubilidade em água do que os ácidos biliares (8,9).

Após a síntese e a conjugação dos ácidos biliares primários, bem como a reconjugação dos ácidos biliares reabsorvidos do intestino, pela circulação enterohepática, eles são transportados para a membrana canalicular e exportados para o lúmen canalicular através da bomba de exportação de sais biliares (BSEP) (vide figura 3, caixa 2). Outras moléculas, como fosfolipídios, glutatona, colesterol, ácidos e aniões orgânicos, também atravessam a membrana canalicular através dos transportadores ABC, para formar a bÍlis. A presença desses solutos cria forças osmóticas que impulsionam a água em direção ao lúmen, através de aquaporinas. A coexistência de ácidos biliares, fosfolipídios e colesterol permite a formação de micelas mistas, que são essenciais na digestão e absorção de ácidos gordos. O fluxo passivo de solutos e água, juntamente com a peristalse canalicular, direciona o conteúdo para os ductos biliares (8,9).

As células epiteliais dos ductos biliares contribuem com cerca de 40% do volume total da bÍlis, enriquecendo-a com água e bicarbonato, que são fatores protetores contra os efeitos prejudiciais dos ácidos biliares sobre o epitélio (vide figura 3, caixa 3). O bicarbonato é secretado para o lúmen biliar pelo trocador aniônico cloreto/bicarbonato 2 (AE2), ativado pelo cálcio intracelular. A secretina é uma hormona que desempenha um papel na secreção luminal de cloreto durante a fase digestiva. O ácido ursodesoxicólico e derivados, após serem absorvidos pelos colangiócitos, aumentam a secreção luminal de cloreto que permuta com o bicarbonato, aumentando a sua concentração na bÍlis (8–10).

Os cílios primários presentes na membrana apical dos colangiócitos dos ductos biliares têm funções sensoras de fatores mecânicos, osmóticos e químicos. Estas estruturas contêm recetores que respondem a diversos estímulos tais como o conteúdo de ácidos biliares, a intensidade do fluxo biliar e a tonicidade da bÍlis, regulando a diluição e alcalinização da bÍlis (8–10).

Durante o período interdigestivo, a bÍlis entra na vesÍcula biliar, onde a Água e os eletrÓlitos sÁo reabsorvidos e a concentraÇão micelar crÍtica É atingida, ocorrendo intensa formaÇão de micelas mistas (8,9).

Os Ácidos biliares cÓlico e quenodesoxicÓlico, quando desconjugados e desidroxilados pela flora intestinal, transformam-se nos Ácidos biliares secundÁrios desoxicÓlico e litocÓlico, que sÁo hidrofÓbicos e absorvidos passivamente no Íleo e no intestino grosso, regressando ao fÍgado através da circulaÇão enterohepÁtica (8,9).

A reabsorÇão eficiente de Ácidos biliares primÁrios no Íleo, mediada por recetores como ASBT e OST α/β , preserva amplamente a reserva dos mesmos. Estes sÁo reabsorvidos na forma conjugada e hidroxilada e retornam ao fÍgado através da circulaÇão enterohepÁtica. Apenas É necessÁria uma pequena quantidade de sÍntese de novo de Ácidos biliares para repor as perdas fecais. Os hepatÓcitos possuem recetores na membrana basolateral que facilitam a reabsorÇão de Ácidos biliares conjugados. Em condiÇões colestÁticas, o efluxo basolateral de Ácidos biliares É aumentado, envolvendo transportadores como OST α/β , MRP3 e MRP4, elevando os nÍveis sÉricos e promovendo excreÇo renal destas molÉculas (8,9).

A homeostase da reserva de Ácidos biliares É mantida pelo equilÍbrio entre excreÇo fecal e sÍntese hepatocelular, regulados por recetores nucleares como o FXR, que influenciam a sÍntese, reabsorÇão e secreÇão de Ácidos biliares (8,9).

O conhecimento destes processos É crucial para compreender distÚrbios como a colestase neonatal e auxiliar no diagnÓstico e opÇões terapÊuticas.

2. Colestase neonatal

2.1. Conceito

A colestase neonatal (CN) define-se como a redução na formação ou fluxo de bÍlis, levando à retenção de substâncias colefÍlicas no fÍgado, que seriam normalmente excretadas na bÍlis e segregadas no lúmen intestinal. A redução do fluxo biliar pode resultar de alterações anatômicas ou funcionais do sistema biliar (11,12). A presença de um lactente icterÍco alimentado com leite de fórmula com 2 semanas de idade ou lactente amamentado com icterÍcia que persiste após as 2 semanas deve sempre alertar para a possibilidade de CN. Além disso, um lactente icterÍco que apresente fezes hipocólicas ou acólicas deve também ser investigado independente da idade e do tipo de alimentação (13).

A CN é definida como nível sérico de bilirrubina conjugada/direta >1 mg/dL com um valor total de bilirrubina de até 5 mg/dL ou quando a fração direta é >20% com um total de bilirrubina acima de 5 mg/dL. Na prática clínica, níveis de bilirrubina direta sérica ≥ 1 mg/dL indicam CN. Para além disso, durante os primeiros 5 dias de vida, níveis mais baixos de bilirrubina direta (>0,3-0,5 mg/dL) e >10% do total de bilirrubina são considerados anormais e deve-se suspeitar de CN (13,14).

2.2. Clínica

Os achados clÍnicos mais frequentemente encontrados são icterÍcia, ou acolia fecal, colúria, prurido e xantomias. A icterÍcia é o sinal que mais se destaca a nível clÍnico sendo que a colúria e acolia fecal ajudam no diagnóstico diferencial de casos colestáticos e não colestáticos. Os xantomias resultam da acumulação de colesterol e a causa do prurido ainda não está totalmente esclarecida (11).

2.3. Epidemiologia

A frequência da icterÍcia na primeira e segunda semana de vida é de 60%-80% e 2,4%-15%, respetivamente. Não obstante, a maioria dos casos deve-se a hiperbilirrubinemia indireta fisiológica ou associada ao aleitamento materno. A CN é mais rara e afeta aproximadamente 1 entre cada 2500-9000 nascimentos (11,12).

2.4. Causas da colestase neonatal

A CN pode ser dividida em causas intra-hepáticas e extra-hepáticas, incluindo obstrução anatômica do sistema biliar, infecções neonatais, distúrbios genéticos e metabólicos, distúrbios endócrinos, exposição a toxinas e medicamentos, hipoxia/isquemia, colestase neonatal transitória (anteriormente designada por hepatite neonatal idiopática), entre outros (13). Na tabela 1 são enumeradas as causas de CN, incluindo doenças intra e extra-hepáticas.

Tabela 1. Diagnóstico diferencial da colestase neonatal (11,14)

COLESTASE INTRA-HEPÁTICA
1. Colestase neonatal transitória (anteriormente designada por hepatite neonatal idiopática)
2. Distúrbios da embriogênese das estruturas biliares a) Síndrome de Alagille; Síndrome de Colestase-Linfedema (Síndrome de Aagaens) b) Ciliopatias: i. Malformações da Placa Ductal: Doença Renal Poliúística Autossômica Recessiva; Caroli (Doença ou Síndrome); Síndrome de Joubert com Fibrose Hepática Congênita; Síndrome de Meckel; Displasia Renal-Hepática-Pancreática ii. Colangite Esclerosante Neonatal Sem Ictiose
3. Distúrbios da síntese e conjugação dos sais biliares primários a) Síntese: Déficit de 3 β -Hidroxi- Δ 5-C27-esteroide Óxido-redutase; Déficit de Oxo-esteroide 5 β -Redutase; Déficit de Esterol 27-Hidroxilase (Xantomatose Cérebro-tendinosa); Déficit de Oxi-esterol 7 α -hidroxilase; Déficit de 2-Metilacil-CoA Racemase b) Conjugação: Déficit de CoA ligase dos ácidos biliares - Hipercolanemia familiar
4. Distúrbios do transporte e secreção de compostos colefilicos a) Regulação de recetores nucleares: Colestase Intra-hepática Progressiva Familiar tipo 5 b) Tráfego intracelular de sais biliares: Colestase Intra-hepática Progressiva Familiar tipo 6; Artrogripose, Disfunção Renal e Colestase (manutenção da polaridade apical) c) Secreção membranar canalicular: <u>sais biliares</u> - proteína BSEP; <u>fosfolípidios</u> - proteína MDR3; <u>colesterol</u> - sitosterolemia
5. Complexos juncionais hepatocelulares: Colestase Intra-hepática Progressiva Familiar tipo 4; Síndrome NISCH
6. Distúrbios complexos ou multiorgânicos a) Distúrbio da translocação da fosfatidilserina: Colestase Intra-hepática Progressiva Familiar tipo 1; Colestase Intra-hepática Recorrente Benigna tipo 1; Artrogripose, Disfunção Renal e Colestase; Xantomatose Cérebro-tendinosa; Defeitos Congênitos de Glicosilação b) Distúrbios peroxissomais: Síndrome de Zellweger/ Adrenoleucodistrofia / Doença de Refsum Neonatal/ Síndrome de Heimler c) Colestase Intra-hepática Neonatal causada por Deficiência de Citrina: Citrulinemia tipo II d) Distúrbio da cadeia respiratória mitocondrial: Síndrome de Depleção Mitocondrial; Deficiência do Complexo III da Cadeia Respiratória (Síndrome de GRACILE); Deficiência de 3-Hidroxiacil-CoA Desidrogenase de Cadeia Longa
7. Doenças hepáticas metabólicas a) Com envolvimento do sistema biliar: Doença de Alfa 1-antitripsina; Fibrose Quística b) Sem envolvimento do sistema biliar: Doença de armazenamento de Glicogénio tipo IV c) Intoxicação metabólica: Galactosemia; Intolerância Hereditária à Frutose; Tirosinemia Tipo 1 d) Doença endócrina (distúrbio glandular): Hipotireoidismo; Hipopituitarismo e) Distúrbio do metabolismo lipídico (armazenamento): Síndrome de Wolman; Doença de Niemann-Pick; Doença de Gaucher tipo II; Doença de Farber tipo IV

<p>8. Infecções congénitas:</p> <p>a) Bacteriana: Sífilis; Sépsis Bacteriana; Infecção do Trato Urinário; Tuberculose; Listeriose</p> <p>b) Parasítica: Toxoplasmose</p> <p>c) Viral: Citomegalovírus; Rubéola; Herpes Simples; Vírus Hepatotrópicos (A, B e C); HIV; Parvovírus B19; Varicela Zoster; Paramixovírus, Sépsis Entérica Viral (Echovirus, Coxsackievirus e Adenovírus)</p>
<p>9. Doenças imunes: Lúpus Eritematoso Neonatal; Hepatite Neonatal com Anemia Hemolítica Autoimune; Doença Hepática Alo-imune Gestacional</p>
<p>10. Associado à nutrição parentérica total</p>
<p>11. Outras causas: Cirrose hepática; Histiocitose X; Choque e Hipoperfusão; Asfixia neonatal; Hepatite Fibrosante com Leucemia Transitória (Trissomia do 21); Obstrução intestinal; Lesão Hepática Induzida por Medicamentos</p>
<p><u>COLESTASE EXTRA-HEPÁTICA</u></p>
<p>1. Atresia biliar</p>
<p>2. Quisto do colédoco</p>
<p>3. Perfuração espontânea do ducto colédoco</p>
<p>4. Lama biliar e colelitíase</p>

É fundamental conhecer as causas mais comuns de CN: atresia biliar é a mais comum e representa 25%-45% dos casos, doenças genéticas e metabólicas em 10%-20%, síndrome de Alagille em 2%-14% dos casos, hipopituitarismo em até 5% dos casos e ainda, colestase associada à nutrição parentérica e colestase neonatal transitória (13).

Apesar de incomuns, a infecção do trato urinário, bacteriemia, herpes-vírus simples e citomegalovírus são etiologias importantes e tratáveis. A colestase pode ainda ocorrer em 10%-20% dos bebés prematuros devido à imaturidade da circulação enterohepática, à inflamação ou disfunção intestinal, a infecções bacterianas ou fúngicas repetidas e ao uso de nutrição parentérica (13).

A distinção entre as causas intra-hepáticas e extra-hepáticas é crucial porque em algumas destas patologias a abordagem diagnóstica e terapêutica precoce prolonga a sobrevivência do doente e/ou a sobrevida do fígado nativo, ao postergar a necessidade de um transplante hepático (14), como é o caso da atresia biliar.

3. Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo uma revisão bibliográfica sobre os métodos capazes de diferenciar a atresia biliar de outras causas de colestase neonatal. O diagnóstico atempado da atresia biliar continua a ser essencial para um maior sucesso do tratamento cirúrgico e, conseqüentemente, um melhor prognóstico. Assim, nesta dissertação serão abordadas inúmeras opções diagnósticas disponíveis até à data, focando nos métodos promissores que poderão ser úteis neste diagnóstico diferencial complexo.

4. Métodos

Para a realização desta revisão bibliográfica foi realizada uma pesquisa na base de dados da PubMed, no dia 8 de novembro de 2022, através da seguinte chave de palavras: “*biliary atresia*” AND (*Diagnosis OR diagnosis, differential OR “early diagnosis”*) AND (*infants OR neonates*) AND (*Clinical Laboratory Techniques OR “stool color” OR hypochol* OR achol* OR GGT OR “gamma-glutamyltransferase OR Diagnostic imaging OR Ultrasonography, doppler OR Gallbladder Emptying OR Neovascularization, Pathologic OR Artery, Hepatic OR scintigraphy OR Laparoscopy OR Cholangiopancreatography, Endoscopic Retrograde OR ERCP OR biopsy, needle OR biopsy, aspiration OR puncture biopsy OR cholangiography OR High-Throughput Nucleotide Sequencing OR Next-Generation Sequencing OR Genetic Techniques*).

Utilizando o filtro temporal (10 anos), nesta pesquisa obtiveram-se 571 resultados. A seleção dos artigos foi feita na plataforma Rayyan e foram usados critérios de inclusão e exclusão.

Critérios de inclusão:

- Estudos observacionais, retrospectivos, de coorte e caso-controle
- Artigos de revisão sistemática e/ou meta-análise
- Artigos de revisão bibliográfica
- Artigos relacionados com o tema
- Artigos em português, inglês ou espanhol
- Artigos publicados entre novembro de 2012 e novembro de 2022

Critérios de exclusão:

- Estudos de descrição de casos isolados
- Estudos experimentais realizados em animais
- Artigos que não se relacionam com o tema da dissertação
- Artigos escritos em línguas que não sejam as enumeradas nos critérios de inclusão
- Artigos publicados anteriormente a novembro de 2012

Foram excluídos 456 artigos depois da aplicação dos critérios de inclusão e exclusão descritos acima e da leitura do título e *abstract*. Por fim, as restantes 115 referências bibliográficas foram lidas na íntegra e avaliadas, e um total de 59 foram incluídas nesta dissertação. Para além disso, foram incluídas outras referências bibliográficas consideradas relevantes pelo orientador.

5. Atresia biliar

5.1. Conceito

A atresia biliar (AB) é uma colangiopatia obliterante com doença hepatobiliar progressiva e corresponde a 25%-45% dos casos de CN (13,15). Esta patologia é a causa mais comum de icterícia obstrutiva nos primeiros três meses de vida, levando à fibrose progressiva e destruição dos ductos biliares, tanto a nível intra-hepático como extra-hepático (12,16). Quando não tratada, a fibrose progride a cirrose e culmina na morte até aos 2 anos de vida (15).

A patogénese da AB pode ocorrer no período embrionário ou após o mesmo, através de um processo disruptivo que afeta estruturas hepatobiliares previamente normais. O património imunogenético parece ser modulador do dano hepatobiliar e a patogénese depende de um conjunto de respostas tecidulares a diferentes fatores (17).

Ainda não foi possível clarificar a etiologia específica da AB, tendo a mesma sido associada a vários fatores etiológicos como toxinas, infeção viral, variantes genéticas, distúrbios no desenvolvimento dos ductos biliares e na circulação arterial, lesões inflamatórias, processos de hipóxia/isquemia, processos autoimunes e fatores de suscetibilidade (17–20).

De acordo com as diretrizes da Sociedade Japonesa de Cirurgias Pediátricas, a classificação anatómica da AB pode ser dividida em três tipos: Tipo I no qual ocorre atresia do ducto colédoco mas preservando a permeabilidade das estruturas proximais e possível presença de estrutura quística a montante da obstrução (5% dos casos), Tipo II caracterizado por atresia no ducto hepático comum (2% dos casos) e Tipo III é o mais comum e afeta toda a região proximal do trato biliar extra-hepático (*porta hepatis*), tornando-a num cordão fibroso, com a presença de um remanescente proximal denso e inflamatório com ou sem presença de quisto distal à obstrução (90% dos casos) (21,22). Em todos os tipos anatómicos existe processo degenerativo dos ductos biliares intra-hepáticos e fibrogénese intra-hepática precoce e progressiva, variando a extensão da fibrose (16). Na figura 4 encontram-se representados os três tipos de AB, tendo em consideração a classificação anatómica.

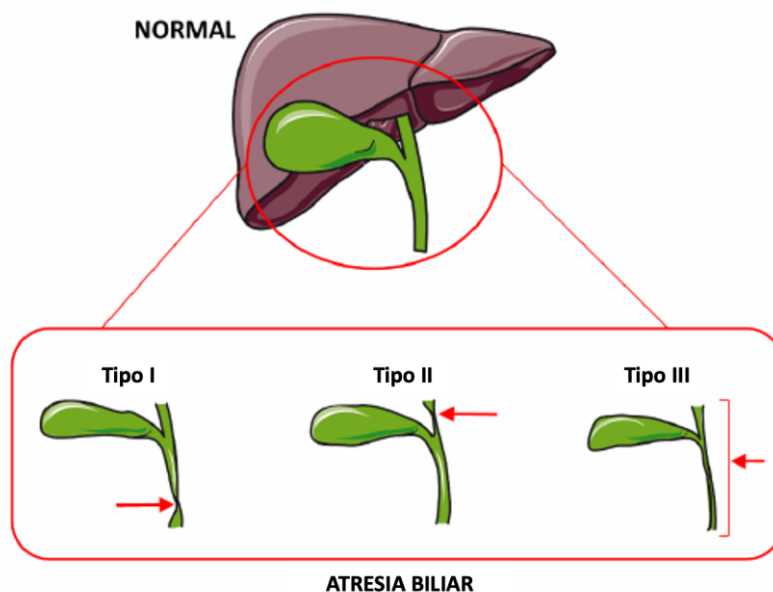


Figura 4. Classificação anatômica da atresia biliar segundo a Sociedade Japonesa de Cirurgiões Pediátricos. Tipo I: Atresia limitada ao ducto colédoco; Tipo II: Ducto hepático atrésico, mas ductos proximais permeáveis; Tipo III: Ductos hepáticos direito e esquerdo e *porta hepatis* atrésicos. Adaptado de: (17).

Em alguns casos, podem existir estruturas biliares intra-hepáticas com configuração semelhante à “malformação de placa ductal”, que consiste na persistência de estruturas biliares irregulares e alargadas, circundantes aos ramos da veia porta. Estas estruturas com características embrionárias são típicas das doenças poliquísticas hepáticas. Contudo, nos casos de AB não parece existir um processo de malformação propriamente dito, mas sim uma reação estrutural biliar ao processo obstrutivo com achados histopatológicos semelhantes (21).

A nível clínico, a AB pode ser classificada em diferentes tipos: AB quística, AB associada a IgM positiva para citomegalovírus, síndrome de malformação esplênica da AB (BASM) e AB isolada (17), esta última englobando a grande maioria dos casos.

A forma quística representa cerca de 10% dos casos e está relacionada com a presença de quistos biliares extra-hepáticos. Nesta forma clínica, os ductos intra-hepáticos são irregulares e hipoplásicos e a vesícula biliar está atrésica (17). A forma quística de AB necessita de cirurgia precoce para a otimização dos resultados, como todos os casos de AB. No entanto, esta possui melhor prognóstico comparativamente a outras formas de AB (23).

A infecção perinatal por citomegalovírus afeta cerca de 2% dos bebés e pode existir associação entre a infecção e a colestase neonatal, na forma de AB associada a IgM positiva para citomegalovírus. Este subgrupo é caracterizado pela presença de IgM anti-CMV positiva no soro, independente de sintomatologia evidente de infecção ou deteção do vírus nas estruturas biliares. Os mecanismos etiológicos continuam por esclarecer, mas este

grupo parece responder pior ao tratamento e ser mais suscetível à morte precoce, uma vez que apresenta um padrão de patogênese imunodestrutiva após o processo viral (17).

Devido à presença de anomalias extra-hepáticas num grupo de casos de AB, criou-se a classificação da doença em AB perinatal/isolada (65% dos casos) e formas embrionárias/fetais (35% dos casos) (15). As formas embrionárias têm evidência clínica de colestase mais precocemente e ausência de remanescentes biliares na *porta hepatis* e com prognóstico ligeiramente pior após cirurgia. Existem diversos grupos e classificações para a forma de AB embrionária, contudo, esta pode ser dividida em dois principais grupos. O primeiro associado à anomalia da sequência de lateralidade, que inclui a síndrome de malformação esplênica da AB (BASM) e o segundo denominado grupo não sindrômico, mais numeroso, que inclui o padrão não sindrômico de anomalias congénitas e subgrupo associado à má rotação intestinal isolada (17,21).

A forma isolada da AB é a forma clínica mais comum e não apresenta características clínicas distintas, nem anomalias congénitas. A etiologia ainda não está totalmente esclarecida, não se sabendo se a atresia resulta de um evento teratogénico primário precoce ou se é originada devido a um processo disruptivo que ocorre nas estruturas fetais normalmente desenvolvidas. Existem evidências que suportam o envolvimento de processos imunológicos localizados sobretudo nas tríades portais, onde ocorre um aumento significativo na expressão de antigénios e moléculas de adesão no epitélio vascular e biliar. Além disso, há proliferação de células mononucleares ativadas, como células de Kupffer e mastócitos, e há a participação direta dos colangiócitos na resposta imune, sendo considerados a primeira linha de defesa contra substâncias externas (17).

Nos últimos anos, verificou-se que em 35% dos casos de AB isolada se observa um perfil molecular e imunohistoquímico compatível com hipoxia-isquemia, designado de AB Hipóxico-Isquémica. Esta variante, segundo hipótese em investigação, parece estar relacionada com um processo de hipoxia/isquemia em que o endotélio do plexo vascular peribiliar é lesionado por um elemento nocivo (vírus, distúrbio imunológico, toxina ou metabólito), desencadeando disfunção endotelial e, posteriormente, induzindo a colangiopatia isquémica com progressão para fibrose. Este processo pode afetar as estruturas portais, começando na *porta hepatis* e está associado com a extensão da proliferação biliar e o espessamento da camada medial (17–19).

Na tabela 2 encontram-se divididos os tipos de AB tendo em conta características anatómicas e clínicas.

Tabela 2. Tipos de AB propostos considerando os aspetos anatómicos e clínicos (17,21)

<u>ASPETOS ANATÓMICOS</u>
1. Relacionado com o local da obstrução extra-hepática* a) Tipo I (5%) b) Tipo II (2%) c) Tipo III (90%)
2. Relacionado com a presença de quisto biliares (independentemente do local da obstrução) a) Sem quistos b) Forma quística extra-hepática i. Associada ao tipo I ii. Associada ao tipo III
3. Relacionado com a presença de malformação da placa ductal
4. Correlação com histopatologia/análise molecular a) Forma inflamatória b) Forma fibrogénica c) Forma hipóxico-isquémica d) Forma mista
<u>ASPETOS CLÍNICOS</u> (associação a anomalias congénitas extra-hepáticas)
1. Forma isolada ou perinatal (65%) a) Variante da AB isolada – AB Hipóxico-Isquémica
2. Forma embrionária (35%) a) Associada a anomalia de lateralidade b) Padrão não sindrómico de anomalias congénitas c) Má rotação intestinal isolada associada
3. Outras: Forma associada à IgM positiva para Citomegalovírus; Forma quística de AB

*De acordo com a Sociedade Japonesa de Cirurgiões Pediátricos

5.2. Clínica

Tal como descrito na CN, esta patologia cursa com icterícia com fezes acólicas e colúria presentes nos primeiros dias ou semanas de vida (16). A maioria dos bebés apresenta crescimento e aparência normal e saudável, apesar da icterícia prolongada (superior a 14 dias). A CN num lactente com aparência normal com fezes acólicas com duração ≥ 7 dias e níveis séricos aumentados de GGT indica a suspeita de AB (14,15). As alterações laboratoriais da colestase podem estar presentes ao nascimento. Contudo, o quadro completo é evidenciado na segunda semana de vida (17).

Com o desenvolvimento da AB, podem surgir problemas no crescimento devido a fenómenos de má absorção a médio prazo. A esplenomegalia e hepatomegalia ocorrem numa fase mais tardia com a progressão da doença devido ao desenvolvimento de hipertensão portal. Alguns casos cursam com sintomas neurológicos ou outros sintomas por deficiência de certas vitaminas. O prurido está presente na fase final da doença, sendo raro inicialmente (15,21).

Dentro das anomalias da sequência de lateralidade associadas à AB, a BASM engloba alterações esplênicas (poliesplenia ou asplenia). As restantes formas embrionárias, grupo não sindrômico, podem ainda estar associadas a má rotação intestinal, acompanhada ou não de veia porta pré-duodenal, e ainda, anomalias da veia cava inferior (VCI ausente ou interrompida) e da artéria hepática (16,21). Para além destas alterações, as formas embrionárias podem ter anomalias a nível cardiovascular (*cardiac-associated biliary atresia*, CABA), pulmonar, gastrointestinal e geniturinário (17). Estas características clínicas adicionais podem levar ao desenvolvimento de complicações próprias como a síndrome hepatopulmonar (15). Na tabela 3 encontra-se listada a prevalência das principais anomalias extra-hepáticas na forma embrionária de AB.

Tabela 3. Características clínicas e prevalência das anomalias extra-hepáticas (15)

CARACTERÍSTICA CLÍNICA	PREVALÊNCIA (%)
Poliesplenia	90
Veia porta pré-duodenal	75
Veia cava inferior ausente	50
Má rotação intestinal	50
<i>Situs inversus</i>	50
Malformações cardíacas	30
Asplenia	5
<i>Shunts</i> intrapulmonares (posteriormente síndrome hepatopulmonar)	5

5.3. Epidemiologia

A AB é uma doença rara e a sua prevalência varia de 4,2 a 32 por 100 000 nascimentos (17). A prevalência desta patologia varia geograficamente, sendo cerca de 1 em cada 6 000 nascimentos em Taiwan (área com maior prevalência), 1 em 12 000 nos Estados Unidos e 1 em 18 000 na Europa (12,16).

5.4. Tratamento cirúrgico

O tratamento da AB passa, normalmente, por um procedimento cirúrgico designado portoenterostomia hepática de Kasai (KPE). Esta intervenção cirúrgica ganhou popularidade crescente a partir de 1960 (24), e consiste na ressecção dos remanescentes do colédoco, da vesícula biliar e da placa portal e na construção de uma anastomose jejunal tipo Roux-en-Y ou de uma colecistostomia para restaurar a drenagem biliar (16).

Se a portoenterostomia hepática de Kasai não for bem-sucedida ou se existir cirrose avançada, com padrão clínico de insuficiência hepática, poderá ser realizado o transplante hepático (TxH) (16). Mesmo em pacientes que inicialmente mostram resposta adequada à portoenterostomia, o distúrbio hepatobiliar costuma progredir, vindo a ser necessário um TxH posterior, sendo a AB a indicação mais comum deste procedimento na infância. São indicações para o TxH a cirrose, a falência hepática, a hemorragia gastrointestinal devido à hipertensão portal, o atraso no crescimento, o prurido, a síndrome hepatopulmonar e as colangites de repetição (25).

5.4.1. Fatores que influenciam a evolução pós-cirúrgica:

Uma série de fatores influenciam a evolução pós-operatória de uma portoenterostomia, sendo um deles a idade. O prognóstico pós-operatório da KPE é afetado pela idade no momento do procedimento (14). Se a KPE for realizada nos primeiros 60 dias de vida, o fluxo biliar é restabelecido em cerca de 70% dos pacientes. Já após os 90 dias, a percentagem é inferior a 25% (12).

A idade tem um papel crucial no prognóstico dos pacientes porque a cirurgia tardia pode levar a progressão para falência hepática precoce (17). O principal objetivo da KPE é adiar a necessidade de transplante hepático, ou seja, prolongar a sobrevida do fígado nativo, uma vez que mesmo quando a portoenterostomia hepática de Kasai é realizada nas condições ideais existe necessidade de TxH em 78% dos pacientes até à terceira década de vida devido a colangiopatia (14).

Para além da idade, existem outros fatores modificáveis e não modificáveis que influenciam o prognóstico pós-cirúrgico. A experiência do cirurgião e a capacitação dos centros cirúrgicos são dois fatores a ter em conta, nomeadamente, os centros cirúrgicos que operam mais de 5 casos por ano têm melhores resultados comparativamente aos outros centros. Alguns países, como o Reino Unido, adotaram uma política de centralização do atendimento a casos de atresia biliar em instituições reconhecidamente capacitadas (21,22).

A extensão do dano hepático no momento da KPE é outro indicador do prognóstico, sendo que presença de hipertensão portal precoce, proliferação biliar extensa e outros achados histopatológicos estão associados a pior prognóstico. Casos com vesícula biliar permeável têm melhores resultados comparativamente a casos com fibrose extensa ou presença de remanescente de tecido fibroso na *porta hepatis* (21,26).

Por último, a AB associada a IgM positiva para citomegalovírus, o tipo III de AB e/ou a presença de anomalia extra-hepática associada (como BASM e CABA) estão associadas a pior prognóstico (17,21,27).

Como vários fatores que influenciam o prognóstico dependem do fator tempo, um diagnóstico rápido e atempado tem um papel crucial no tratamento cirúrgico precoce, idealmente no intervalo de 30 a 60 dias de vida (16).

6. Desafio do diagnóstico diferencial da atresia biliar

O diagnóstico de AB, e especialmente o seu diagnóstico diferencial com outras causas de CN, é complexo pois existem características clínicas, bioquímicas, de imagem e histopatológicas que se sobrepõem. Um estudo de 2014 revelou uma percentagem de diagnósticos de AB errados que rondava os 6,8% (28).

Patologias como a deficiência de alfa-1-antitripsina (DAAT), fibrose quística e síndrome de Alagille (SALG) podem assemelhar-se à AB e devem ser excluídas (12). Uma questão importante das doenças que se confundem com AB é que estas podem apresentar padrão histopatológico semelhante sem as características específicas esperadas.

O tipo de AB quística mais frequente é o tipo I (80% a 90% dos casos) (29). A forma quística de AB tem como principal diagnóstico diferencial o quisto do colédoco. As duas patologias são difíceis de distinguir nos exames de imagem pré-natal, nomeadamente na ecografia. Os quistos do colédoco são dilatações congénitas dos ductos biliares e apresentam, ao contrário da AB, ductos intra-hepáticos dilatados que comunicam com o quisto e a vesícula biliar distendida (17,25). Estas diferenças podem ser demonstradas por exames de imagem como a ecografia e a colangiopancreatografia por ressonância magnética (25). Apesar dos sintomas do quisto do colédoco normalmente ocorrerem em crianças mais velhas ou adultos, os sintomas aparecem no primeiro ano de vida em 22% dos casos. A forma quística de AB e o quisto do colédoco têm diferentes abordagens cirúrgicas, sendo o prognóstico melhor no caso do quisto do colédoco (30).

Existem distúrbios genéticos que se assemelham à AB e cujo prognóstico pode ser reservado, como é o caso da síndrome de Alagille. A SALG é uma doença genética autossómica dominante composta por malformações multissistémicas. A maioria é causada por mutações ou deleções no gene JAGGED1 e menos de 1% é causada por mutações no gene NOTCH2. Nesta síndrome existe diminuição da quantidade de ductos biliares intra-hepáticos conjuntamente com outras características, nomeadamente anomalias a nível cardíaco, vertebral e facial (25,31). A colestase crónica, a anomalia cardíaca congénita, os fenótipos faciais típicos, as vértebras em formato de borboleta e as anomalias oculares (*embriotoxon posterior*) são os cinco “critérios clássicos” que caracterizam esta patologia. Para além disso, podem existir problemas a nível do sistema renal, pancreático e cerebrovascular. O diagnóstico de SALG pode ser difícil porque as suas manifestações clínicas são altamente variáveis, e nem sempre presentes, e as características nos meios

complementares de diagnóstico podem sobrepor-se a outras etiologias de CN, como é o caso da AB. Na SALG, devido ao fluxo deficiente ou ausente de bÍlis nos ductos biliares maiores, pode ocorrer hipoplasia destas estruturas, sendo difícil ou até mesmo impossível de diferenciar da AB através da colangiografia intraoperatória. Acresce ainda que a realização da portoenterostomia de Kasai, baseada num resultado falso-positivo de AB, pode piorar o prognóstico da SALG. Os testes genéticos são importantes para confirmar o diagnóstico de SALG, nomeadamente em casos atÍpicos, e para o aconselhamento genético. Contudo, o tempo necessário para obter e analisar os resultados continua a ser uma barreira na obtenção de um diagnóstico precoce (14,31).

Outro distúrbio genético que faz diagnóstico diferencial com a AB é a deficiência de alfa-1-antitripsina. É a causa hereditária mais comum de CN e cursa com lesão hepatocelular, obstrução mecânica com colestase geralmente grave. A nível laboratorial, há alterações nos níveis das enzimas hepáticas. No entanto, a icterícia desaparece normalmente até aos 4 meses de idade. O diagnóstico é baseado no fenótipo (normal: MM, anormal: ZZ ou SZ, heterozigoto: MZ ou MS). Pode partilhar características com a AB, principalmente em recém-nascidos com fenótipo ZZ, tais como ausência de excreção biliar na cintilografia hepatobiliar, achados compatÍveis com cirrose na ecografia e características obstrutivas na biópsia hepática. Portanto, obter o fenótipo precocemente na avaliação da CN pode evitar biópsias desnecessárias. Pode ainda existir coexistência de AB e DAAT (12,25).

A fibrose quística é outra doença genética que pode cursar com alterações nos níveis das enzimas hepáticas que é sugestivo de obstrução biliar. Estas alterações podem ocorrer no período neonatal, embora isso seja raro (12). Podem ainda existir alterações hepáticas do parênquima não específicas e achados ecográficos compatÍveis com cirrose. Contudo, estes costumam ocorrer mais tarde na infância ou na idade adulta (25). É importante verificar o rastreio neonatal, em Portugal incluído no Programa Nacional de Diagnóstico Precoce, e se necessário avançar para testes de sequenciação do gene CFTR e teste do suor. A quantidade de suor produzida pelos recém-nascidos pode não ser suficiente para realizar o último teste e os valores da concentração dos eletrólitos no suor são diferentes dos encontrados nos adultos (12).

A colestase intra-hepática familiar progressiva (PFIC) é um grupo heterogéneo de distúrbios monogénicos. Na PFIC há mutações nos genes envolvidos no transporte hepatobiliar canalicular e, como resultado, os hepatócitos não conseguem libertar bÍlis. A PFIC apresenta-se clinicamente com colestase progressiva e lesão hepática, geralmente numa fase mais tardia da infância (12,25). Na ecografia abdominal, este conjunto de patologias pode apresentar uma vesícula biliar distendida e ecogenicidade aumentada a nível periportal, que pode simular o sinal do cordão triangular (característico da AB) (25).

Enquanto a PFIC tipo 1 e 2 apresenta GGT normal ou baixa e desproporcional ao grau de colestase, a PFIC tipo 3 tem elevação significativa dos níveis séricos de GGT e de ácidos biliares totais podendo haver dificuldade no diagnóstico diferencial com a AB (12).

O diagnóstico diferencial da AB tem por base a anamnese, a avaliação clínica, os achados laboratoriais sugestivos de colestase obstrutiva e o recurso a outros meios complementares de diagnóstico, nomeadamente estudos de imagem.

7. Diagnóstico da atresia biliar

7.1. Estudo clínico

Para o diagnóstico de AB, como em qualquer outro diagnóstico, é essencial colher uma anamnese completa, incluindo o período pré-natal e neonatal, história familiar e história gestacional. Quanto ao exame físico, este deve ser o mais completo possível, tendo em consideração não só a região abdominal, mas também outros sinais extra-hepáticos (12).

Num bebé com icterícia, especialmente se for prolongada (a partir de 14 dias de vida) é ainda fundamental avaliar a cor da urina e das fezes. A presença de icterícia prolongada, colúria e de acolia fecal são sugestivas de CN (12), sendo a acolia prolongada (a partir de 7 dias de duração) um dado fortemente sugestivo de obstrução mecânica extra-hepática ao fluxo biliar. Num recém-nascido colúria é considerada uma urina com coloração amarela uma vez que a sua urina normal é totalmente incolor (21). As fezes pálidas costumam estar presentes no primeiro mês após o nascimento na maioria dos bebés (76,5% dos casos) e entre 2 a 5 meses nos restantes casos (32,33). Um estudo de 2016 mostrou que reconhecer fezes acólicas não é fácil e mais de um terço dos profissionais de saúde não identificou fezes suspeitas (34). Os resultados foram independentes da formação profissional dos mesmos, tal como foi demonstrado num estudo português em que médicos e enfermeiros tiveram uma capacidade semelhante de reconhecer fezes acólicas. A especialização, e não os anos de experiência, foi associada a melhores práticas clínicas e habilidade para reconhecer fezes acólicas (34). Acresce ainda à dificuldade clínica o facto de os bebés com AB parecerem saudáveis, apesar de ictéricos, serem eutróficos e ganharem peso adequadamente (21).

Uma meta-análise de 2018 analisou sete estudos sobre o valor diagnóstico das fezes acólicas na AB e a sensibilidade variou entre 58% e 100% e a especificidade entre 56% e 100%. A sensibilidade e especificidade agrupada foram de 87% e 78%, respetivamente. O valor preditivo positivo (VPP) foi de 70,4% e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 91,2% (35). De referir que, no que diz respeito ao exame físico, existem inúmeros achados, nomeadamente fezes claras, que podem estar presentes em diferentes etiologias de CN, não sendo exclusivos da AB.

O cartão da escala cromática das fezes (SCC, *Stool Color Card*) é um método de rastreio para identificar recém-nascidos com fezes claras. É fornecido um cartão com fotografias coloridas de fezes normais e pálidas aos pais/cuidadores, cuja utilização visa detetar a AB mais cedo e de forma custo-efetiva. Inovações mais recentes incluem aplicações que avaliam a cor das fezes de forma digital (33).

O SCC foi utilizado pela primeira vez em 1994, no Japão, e apresentou sensibilidade, especificidade, VPP e VPN de 76,5%, 99,9%, 12,7% e 99,9%, respectivamente. A idade média na realização de KPE com o programa SCC foi de 60 ± 19 dias (54 ± 16 dias para os 26 casos identificados pelo rastreio), tendo sido mais precoce do que previamente à implementação do SCC (70 dias). A sobrevivida sem TxH em 5, 10 e 15 anos foi de 87,6%, 76,9% e 48,5%, em comparação com 68,0%, 60,0% e 51,0% previamente ao uso do SCC, respectivamente (32,33).

O programa de rastreio com SCC foi posteriormente aplicado, em 2002-2003, em 96 hospitais em Taiwan e obteve sensibilidade, especificidade e VPP de 89,7%, 99,9% e 28,6% para detetar AB até 60 dias de vida, respectivamente. A implementação do mesmo levou à realização de um maior número de KPE antes dos 60 dias de vida (65,7% com o SCC comparativamente a 49,4% sem rastreio). Além disso, o rastreio também foi associado a uma melhoria na taxa de sobrevivência de três anos sem icterícia com fígado nativo (56,9% com o SCC comparativamente a 31,5% previamente) (33).

Após os sucessos no Japão e em Taiwan, outros países, incluindo Alemanha, Brasil, Canadá e Suíça, adotaram variações do programa SCC (33), através da utilização de imagens fotográficas digitais que visam melhorar as cores das fezes e permitem uma maior reprodutibilidade. Contudo, não é fácil para os pais/cuidadores classificarem as fezes de cor intermediária (36,37).

Devido aos avanços tecnológicos e ao aumento do acesso a *smartphones*, nos últimos anos o número de aplicações em saúde aumentou significativamente. Desde 2015, foram desenvolvidas algumas aplicações com o objetivo de reconhecer fezes acólicas através da câmara digital e de *softwares* de reconhecimento de diferenças subtis de cores (36,38–40). Dentro deste âmbito surgiram duas aplicações: uma japonesa que obteve sensibilidade e especificidade de 100% para detetar fezes acólicas, e uma italiana (PopòApp) cuja sensibilidade e especificidade foi de 100% e 99%, respectivamente (39,40). Apesar destas aplicações apresentarem valores promissores no que diz respeito à precisão diagnóstico de fezes acólicas, são necessários mais dados para confirmar a sua utilidade clínica e o impacto que têm no diagnóstico de AB comparativamente ao SCC.

7.2. Estudo laboratorial

Para além do método de rastreio mencionado anteriormente, também sido investigado um rastreio baseado na medição de bilirrubina direta/conjugada sérica.

Num estudo retrospectivo de 2011, Harpavat S. e colaboradores (41) demonstraram que todos os pacientes com AB (34 casos) apresentavam níveis elevados de BD sérica durante os primeiros quatro dias de vida. Em 2016, Harpavat S. e colaboradores (42) estimaram que a sensibilidade e a especificidade de um rastreio com medição de BD sérica seriam de 100% e 98,2%, respetivamente. No mesmo ano, através de um estudo piloto prospetivo, foi realizado um rastreio de BD sérica em 11 636 recém-nascidos (98,8% de todos os nascimentos) em quatro grandes hospitais no Texas. O estudo consistiu em duas fases: a primeira em que os recém-nascidos eram considerados positivos se apresentassem uma concentração de BD que ultrapassasse o intervalo de referência do percentil 95 estabelecido pelo laboratório; e uma segunda fase em que os bebés positivos na fase 1 apresentavam concentrações superiores de BD comparativamente com a fase 1. Dos 121 casos considerados positivos na primeira fase, 11 bebés continuaram positivos (idade média de 14 dias). Deste modo, a sensibilidade foi de 100%, a especificidade de 99,9% e o VPP foi de 18,2% (43). Num estudo prospetivo de 2020 com 123 279 casos, 1,1% (n=1354) apresentaram um nível inicial elevado de BD sérica. Desses, 8,8% (n=119) mantiveram níveis elevados até duas semanas de vida, incluindo sete bebés com AB. A sensibilidade, a especificidade e o VPP de detetar BA foram 100,0%, 99,9% e 5,9%, respetivamente, semelhante ao constatado no estudo piloto (44).

Existem algumas limitações quanto à implementação do rastreio neonatal com BD, nomeadamente a discordância sobre o intervalo de referência entre diferentes laboratórios, pelo que é recomendado que este rastreio seja efetuado em hospitais de referência (33,36).

Este rastreio foi associado a uma idade significativamente mais precoce aquando da KPE (36 dias com rastreio vs. 56 dias antes da implementação do mesmo), e também permitiu identificar outras doenças hepáticas, como a SALG e a DAAT (44). Não obstante, são necessários estudos adicionais para avaliar a viabilidade e a relação custo-efetiva deste rastreio (33,36).

Após avaliação inicial do bebé com icterícia, e caso a bilirrubina direta sérica preencha os critérios de diagnóstico de CN, é essencial pedir alguns exames laboratoriais que possibilitem uma avaliação direcionada para identificar a AB e excluir outras causas (12).

Todos os lactentes com CN devem ser avaliados quanto à deficiência de A1AT a nível sérico ou por genotipagem, e o teste de triagem neonatal deve ser revisto para excluir hipotiroidismo, tirosinemia do tipo 1, galactosemia e fibrose quística. Culturas de sangue e de urina podem ser obtidas caso se suspeite de infeção e muitos outros testes podem ser pedidos tendo em conta as hipóteses diagnósticas, entre eles, níveis de ácidos gordos de cadeia muito longa, teste do suor, aminoácidos séricos, ácidos orgânicos urinários e

acilcarnitina. Recomenda-se ainda a colheita de 5 mL de sangue para eventual análise por sequenciação de nova geração (12,13).

A avaliação inicial da CN, e nomeadamente da AB, deve incluir marcadores séricos de gravidade da doença hepática (lesão hepática) como alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transpeptidase (GGT). Devem incluir ainda marcadores de função hepática como tempo de protrombina (PT) com o índice internacional normalizado (INR), glicose e albumina. Estes marcadores séricos isolados raramente diferenciam as etiologias (13).

A AB normalmente tem uma GGT significativamente elevada (>150–200 U/L). Contudo, existem outras patologias com envolvimento extenso do sistema biliar que podem cursar com GGT elevada tais como obstrução mecânica do ducto biliar, escassez de ductos biliares interlobulares, DAAT, fibrose quística, colangite esclerosante neonatal ou PFIC tipo 3 (13,14).

Uma meta-análise de 2018 analisou sete estudos sobre os testes de função hepática sérica no diagnóstico de AB, a sensibilidade variou entre 66% e 100% e a especificidade entre 32% e 98%. A sensibilidade e especificidade agrupada foi de 84% e 97%, respetivamente. O VPP foi de 62,5% e o VPN foi de 79,3% (35).

Nos últimos anos, tem-se investigado o papel potencial de biomarcadores séricos, principalmente da metaloproteinase de matriz 7 (MMP7). Estudos têm associado a presença de MMP7 ao surgimento de fibrose hepática na AB (45). As metaloproteinases de matriz são um grupo de enzimas que separam a matriz extracelular de compostos de zinco. São produzidas e secretadas por várias células diferentes, tais como células endoteliais sinusoidais, células satélite e células de Kupffer. Numa fase inicial, estas enzimas estão inativas. Quando as células são sujeitas a determinados estímulos, tais como a isquemia e reperfusão dos hepatócitos, as MMP7 são ativadas e libertadas. A sua libertação crónica pode destruir o tecido hepático (46).

Num estudo prospetivo de 2019, os níveis séricos de MMP7 foram significativamente superiores no grupo AB comparativamente ao grupo não-AB ($p < 0,001$). Foi também encontrada uma correlação significativa entre os níveis séricos de MMP7 e o estadio de fibrose da biópsia hepática ($R = 0,47$; $p < 0,001$). (45).

Considerando o estudo de 2019 e um estudo multicêntrico de 2022, a sensibilidade da MMP7 para diferenciar a AB de outras causas de CN variou entre 95,2% e 95,5% e a especificidade entre 93,1% e 94,5%. O VPP variou entre 81,8% e 97,3% e o VPN entre 91,4% e 93,8% (45,46). Apesar do potencial promissor do MMP7 são necessários mais estudos multicêntricos de maior escala para avaliar o papel do biomarcador sérico na AB.

7.3. Estudos de imagem

7.3.1. Ecografia

A ecografia abdominal é o método imagiológico usado inicialmente por ser amplamente disponível, não invasivo e permitir descartar outras causas extra-hepáticas de CN (14,25). Este método pode não diferenciar a AB de causas intra-hepáticas de CN, como por exemplo a SALG (14).

Uma meta-análise de 2018 analisou 23 estudos sobre este método no diagnóstico de AB e a sensibilidade variou entre 31% e 99% e a especificidade entre 71% e 100%. A ecografia apresentou sensibilidade e especificidade agrupada de 77% e 93%, respectivamente. O VPP foi de 88,6% e o VPN foi de 85,3% (35).

A ecografia, para além de permitir avaliar achados gerais de CN como o tamanho, a posição e a composição do fígado, presença de ascite, de quisto do colédoco, de massa ou cálculo biliar e de lama obstrutiva, permite ainda visualizar achados ecográficos sugestivos de AB (13). Entre os parâmetros associados e sugestivos de AB estão incluídos o sinal do cordão triangular, a morfologia anormal da vesícula biliar, a ausência de contração da vesícula biliar após a alimentação oral, a não visualização do ducto biliar extra-hepático, o fluxo sanguíneo subcapsular hepático e o diâmetro da artéria hepática no hilo hepático (12,16).

O sinal do cordão triangular, definido como uma área ecogénica de tecido mole na parede anterior da veia porta direita (47), corresponde ao remanescente fibroso do ducto biliar obliterado e é geralmente positivo quando é superior a 3-4 mm, variando consoante a posição em que é medido (16,25). Numa revisão sistemática e meta-análise de 2020, a sensibilidade deste parâmetro foi de 68% e a especificidade de 95%, sendo este o parâmetro com melhor *Odds Ratio* de diagnóstico quando avaliado individualmente (16).

Apesar da presença do sinal do cordão triangular ser um dos parâmetros mais fiáveis a avaliar na ecografia, este nem sempre é positivo, nomeadamente em casos de idade mais precoce e pode não ser detetado quando há inflamação do hilo nas doenças intra-hepáticas (14,47). Torna-se então necessário investigar outros parâmetros relacionados com o cordão triangular e que possam auxiliar o diagnóstico.

Com este propósito, um estudo japonês de 2021 avaliou dois novos parâmetros em lactentes com tipo III de AB: a razão de espessura anterior/posterior na área ecogénica anterior à parede da veia porta direita e a presença ou ausência de uma lesão quística no cordão triangular. O primeiro parâmetro revelou ser significativamente superior nos casos de AB tipo III ($p < 0,01$) e o segundo encontrava-se apenas presente nos casos de AB ($p < 0,01$) (47).

Contudo, este estudo tem algumas limitações por se tratar de um estudo retrospectivo com uma amostra de apenas dez casos de AB.

As alterações da vesícula biliar incluem a ausência de visibilidade do lúmen, vesícula biliar pequena (comprimento inferior a 15 mm-19 mm em jejum), morfologia anormal e ausência de contração e esvaziamento da vesícula após a alimentação (16,25). Para uma correta medição e visualização da vesícula biliar na ecografia, deve-se garantir jejum de 3-4 horas para reduzir interferências e permitir a distensão completa da vesícula (25). Num estudo de Zhang K. e colaboradores (48), a vesícula biliar anormal estava presente na maioria dos pacientes com AB, mas também em 40% dos casos não AB (48). Na meta-análise de 2020 referida, o parâmetro vesícula biliar anormal obteve sensibilidade e especificidade de 79% e 81%, respetivamente. Por sua vez, a ausência da vesícula biliar apresenta sensibilidade baixa (20%) e especificidade muito elevada (98%), sendo um parâmetro pouco frequente, mas muito sugestivo de AB quando presente. Quanto ao comprimento da vesícula biliar, este parâmetro tem sensibilidade de 72% e especificidade de 79% (16).

A combinação do sinal do cordão triangular com o parâmetro vesícula biliar anormal apresenta o melhor *Odds Ratio* de diagnóstico com a sensibilidade e a especificidade de 87% e de 90%, respetivamente (16).

O parâmetro não visualização do ducto biliar extra-hepático apresenta sensibilidade de 93%-95%, contudo, tem valores discordantes entre estudos na especificidade variando entre 48% e 92% (16).

A ecografia com Doppler pode fornecer informações relevantes para o diagnóstico de AB. Permite avaliar o diâmetro da artéria hepática, que se mostrou ser superior em lactentes com AB, dilatação que pode indicar um mecanismo compensatório, uma malformação vascular ou uma possível associação com cirrose hepática (25,49). Permite ainda avaliar o fluxo subcapsular hepático, que é o fluxo arterial hepático que se estende até a superfície hepática (49).

El-Guindi e colaboradores (49), num estudo com objetivo de avaliar o valor diagnóstico da ecografia com Doppler, analisaram uma amostra de lactentes cuja idade rondava os $61,8 \pm 15,1$ dias no grupo de AB. No seu estudo, constataram que o diâmetro da artéria hepática era significativamente superior em bebés com AB quando comparado com os grupos não atrésico ($p=0,001$) e quando comparado com o grupo controlo saudável ($p<0,001$). A frequência do fluxo subcapsular hepático foi significativamente superior no grupo com AB em comparação com o grupo não atrésico ($p<0,001$). Tendo por base os resultados do estudo e idade dos lactentes, este estudo coloca a hipótese de que o fluxo subcapsular hepático pode auxiliar no diagnóstico precoce da patologia (49).

O diâmetro da artéria hepática, na meta-análise de 2020 referida, apresenta sensibilidade de 82% e especificidade de 70% (16). A sensibilidade do fluxo sanguíneo subcapsular hepático varia entre 96% e 100% e a especificidade entre 86% e 97% (16). Outra meta-análise de 2020, com 9 estudos sobre o fluxo hepático subcapsular e o diagnóstico de AB, obteve a sensibilidade agrupada de 95% e a especificidade agrupada de 92% (50).

Num estudo de 2017, Hwang S. e colaboradores (51) compararam os achados ecográficos num grupo de lactentes com menos de 30 dias e num grupo com idade superior a 30 dias. O sinal do cordão triangular estava presente em 17% do grupo mais jovem e em 56% do grupo mais velho ($p=0,024$). Já as alterações na vesícula biliar foram comumente identificadas nos dois grupos. O diâmetro da artéria hepática no grupo com menos de 30 dias foi menor comparativamente ao grupo mais velho ($p<0,001$) (51). Este estudo, para além de corroborar o carácter progressivo da AB, realça a maior dificuldade no diagnóstico numa fase inicial da patologia. Não obstante, é necessária a realização de estudos multicêntricos com um maior número de casos avaliados.

Dentro das inúmeras formas clínicas de AB, aborda-se nos próximos parágrafos a forma quística de AB. Existem dois tipos de quistos que podem estar associados à AB: os macroquistos (diâmetro entre 5 mm e 40 mm) e os microquistos (diâmetro entre 2 mm e 4 mm). Os microquistos devem ser avaliados com ecografia Doppler para excluir a possibilidade de serem pequenos vasos (25). Os macroquistos são observados na forma quística de AB e estabelecem diagnóstico diferencial com o quisto do colédoco. Ao contrário da AB, este último associa-se, por norma, à dilatação dos ductos biliares intra-hepáticos (16).

Koob e colaboradores (52) avaliaram a sensibilidade e especificidade dos macroquistos e microquistos no diagnóstico da forma quística de AB. Isoladamente, a presença de macroquistos apresentou sensibilidade de 10% e especificidade de 99% e a presença de microquistos teve sensibilidade superior (20%) e especificidade semelhante (98%). A combinação de macroquistos e microquistos obteve sensibilidade e especificidade de 25% e 97%, respetivamente (52). A presença de macroquistos ou microquistos é um achado ecográfico com sensibilidade baixa sendo, contudo, muito específico.

No período pré-natal, através do uso de ecografia, podem ser detetadas malformações quísticas biliares que incluem tanto a forma quística de AB como o quisto do colédoco. Ambas partilham características ecográficas e clínicas (53).

Num estudo de 2021, o volume do quisto na forma quística de AB não apresentou uma mudança significativa entre o período pré-natal e pós-natal. Contrariamente, o volume do quisto do colédoco aumentou significativamente nesse período. O volume do quisto pré-

operatório (valor ponto-de-corte de 5,86) apresentou sensibilidade de 75% e especificidade de 80,7% para diferenciar AB quística de quisto do colédoco. O tamanho e morfologia da vesícula biliar mostraram diferença significativa nos dois grupos ($p=0,034$ e $p<0,001$, respectivamente) e o sinal do cordão triangular foi detetado em dez lactentes com AB quística e em nenhum com quisto do colédoco ($p<0,001$) (53). A utilização da ecografia pré-natal e pós-natal e posterior comparação podem ser úteis no diagnóstico diferencial da forma quística de AB e do quisto do colédoco.

Um estudo de 2017 comparou os achados ecográficos relativos às dimensões dos quistos entre um grupo de pacientes com quisto do colédoco e outro com forma quística de AB. Os resultados demonstraram que a dimensão quística foi significativamente superior no grupo com quisto do colédoco ($54,3\text{mm} \pm 20\text{mm}$) comparativamente à forma quística de AB ($15,9\text{mm} \pm 10\text{mm}$) ($p<0,001$). A sensibilidade e especificidade do tamanho do quisto (valor ponto-de-corte de 3,5 cm) foram de 83,9% e 95,5%, respectivamente (23). Posteriormente, em 2021 e 2022, outros estudos confirmaram os achados, tendo o valor de sensibilidade variado entre 90% e 90,9% e o da especificidade entre 78,6% e 95%. Destaca-se ainda que, nos casos de quisto do colédoco, a vesícula biliar se encontrava dentro dos parâmetros de normalidade na maioria dos casos e a dilatação dos ductos biliares intra-hepáticos foi mais frequentemente observada, ao contrário do que se observa na AB (54,55).

A síndrome de Alagille é outro diagnóstico diferencial a ter em consideração aquando do estudo ecográfico da AB. Han S. e colaboradores (56) compararam os achados ecográficos de lactentes com SALG e com AB. A percentagem de casos com vesícula biliar pequena foi semelhante no grupo com SALG (86%) e no grupo com AB (81%). Contudo, as irregularidades na parede da vesícula foram significativamente mais comuns no grupo com AB ($p=0,003$). Para além disso, o sinal do cordão triangular e o aumento da artéria hepática foram ambos negativos nos lactentes com SALG, mas presentes em 48% ($p=0,034$) e 77% ($p<0,001$) dos pacientes com AB, respectivamente. Os sinais de hipertensão portal foram significativamente mais comuns na AB comparativamente à SALG ($p=0,01$) (56).

A presença de BASM, ou seja, achados como heterotaxia abdominal, fígado no eixo médio, poliesplenia, asplenia, veia porta pré-duodenal, veia cava inferior ausente ou interrompida, artéria hepática anormal aumentam a suspeita de BA sindrómica (12,16). Estes achados associados à colestase apresentam baixa sensibilidade, mas alta especificidade no diagnóstico de AB (16).

Nos últimos anos, outras técnicas não invasivas baseadas em ultrassom têm sido desenvolvidas, como é o caso da elastografia. O objetivo da elastografia é quantificar a fibrose hepática, um indicador indireto de AB, através da medição da velocidade da onda de

cisalhamento (m/s) ou da rigidez (kPa). As ondas de cisalhamento movem-se mais rapidamente em tecidos fibrosos e rígidos, tal como ocorre na fibrose hepática (16,25,57).

Existem diferentes tipos de elastografia, mas os estudos analisados focam-se principalmente na elastografia *Shear Wave* (2D e *point*) e, com menor frequência, na elastografia transitória. Nesta última é feita pressão mecânica sobre a parede abdominal para gerar ondas de cisalhamento e tem como vantagem não ser necessário uma formação específica. No entanto, não pode ser usada se estiver presente ascite. A elastografia *Shear Wave* usa ondas sonoras para criar ondas de cisalhamento. Por um lado, permite a utilização de imagens em tempo real e pode ser usada na presença de ascite, mas por outro lado é um método mais complexo e que requer formação especializada (57).

Num estudo prospetivo publicado em 2019, Dillman e colaboradores (58) compararam duas modalidades de elastografia *Shear Wave* (2D e *point*). A velocidade da onda de cisalhamento foi superior no grupo com AB e existiu diferença significativa entre o grupo com e sem AB nos dois modos de elastografia estudados ($p < 0,001$ e $p = 0,0014$) (58). Noutro estudo prospetivo de 2021 foram comparadas as mesmas modalidades de elastografia e a velocidade da onda de cisalhamento foi significativamente maior ($p < 0,001$) nos casos de AB para ambas as modalidades (59). O aumento da idade mostrou ter uma correlação com o aumento da rigidez hepática medida ($p < 0,001$) (59,60). A sensibilidade da elastografia *Shear Wave* variou entre 80% e 92,3% e a especificidade entre 64% e 78,6% (58–60). Contudo, o desempenho diagnóstico não superou o da ecografia tradicional (59,60). O intervalo de sensibilidade e especificidade pode ser explicado, em parte, pelas diferentes modalidades de elastografia utilizadas e pelo valor ponto-de-corte que variou entre estudos.

Wu J. e colaboradores (61), num estudo prospetivo de 2018, avaliaram a elastografia transitória. Os lactentes com AB tiveram valores significativamente mais altos de rigidez hepática comparativamente com os lactentes com colestase não relacionada à AB ($p < 0,001$) e a sensibilidade e especificidade foram 80% e 97%, respetivamente (61).

Uma meta-análise de 2022 analisou 11 artigos relevantes sobre elastografia no diagnóstico de AB, incluindo as várias modalidades. A sensibilidade e a especificidade agrupada foram de 83% e 79%, respetivamente (62).

A elastografia parece ser um método adicional promissor com vantagens no diagnóstico diferencial de AB. No entanto, é necessário aprofundar a pesquisa, nomeadamente através de estudos prospetivos e multicêntricos.

7.3.2. Cintilografia Hepatobiliar (HBS) – Medicina Nuclear

A cintilografia hepatobiliar (HBS) é uma técnica de Medicina Nuclear que pode ser utilizada para confirmar a permeabilidade do trato biliar. Permite visualizar a anatomia e função do sistema biliar e avaliar a excreção de bÍlis pelo fÍgado (12,25). Nesta tÉcnica, um radiomarcador, por exemplo derivados do ácido iminodiacÉtico marcados com tecnécio-99m, é injetado e é observado se este é capturado pelos hepatÓcitos e se é excretado com a bÍlis (25,63). A não captação de radiofármaco e não excreção no intestino dentro de um intervalo de 24 horas é sugestivo, mas não confirma definitivamente AB (25,64).

A preparação para a realizaçÓo da HBS deve incluir o uso de fenobarbital, durante pelo menos 3 a 5 dias antes do exame, para ativar as enzimas hepáticas e aumentar o fluxo de bÍlis (63).

Existem patologias com funçÓo hepatocelular e excreçÓo biliar anormal que podem cursar com ausÉncia de excreçÓo de radiofármaco (falso-positivos). Contudo, se existir radiofármaco no intestino delgado, o diagnÓstico de AB é excluÍdo (25).

A excreçÓo renal ou urinária do radiomarcador pode ser confundida e considerado como uma movimentaçÓo do radiofármaco para o intestino e levar a um falso-negativo (63).

Chan W. e colaboradores (64), num estudo de 2022, investigaram a influÉncia de alguns fatores na precisÓo da HBS. Dentro dos mesmos, destaca-se a prematuridade, onde a taxa de verdadeiro-positivos foi baixa. Por sua vez, a taxa de falso-positivos foi superior neste grupo comparativamente aos bebÉs de termo. Isto pode ser causado pela imaturidade da funçÓo hepática com reduçÓo na captação do marcador radioativo ou pelo facto da AB ser uma doençA progressiva no perÍodo perinatal. A idade foi tambÉm avaliada (≤ 45 dias e >45 dias), tendo sido constatada uma maior taxa de falso-positivos no grupo com idade >45 dias. Outro parâmetro que parece ter influÉncia na precisÓo da HBS é a bilirrubina conjugada. Nos casos com bilirrubina conjugada $\leq 66 \mu\text{mol/L}$, que reflete o grau de colestase, a taxa de falso-positivos foi superior. Por outro lado, para bilirrubina conjugada $>66 \mu\text{mol/L}$, a taxa de falso-negativos foi superior (64).

Uma meta-análise de 2018 analisou 18 estudos sobre a HBS e a sensibilidade variou entre 84% e 100% e a especificidade entre 35% e 93%. A cintilografia hepatobiliar apresentou sensibilidade e especificidade agrupada de 96% e 73%, respetivamente. O VPP foi de 64,5% e o VPN foi de 97,2% (35). Outra meta-análise realizada por Kianifar H. e colaboradores (63) incluiu 81 artigos sobre HBS e a sensibilidade e especificidade agrupada foi de 99,3% e 75,1%, respetivamente (63). A especificidade da HBS é baixa a moderada, pelo que a não captação de radiofármaco e não excreção no intestino não deve ser consideradas

confirmatórias do diagnóstico de AB. À luz do conhecimento atual, é um método que não é comumente utilizado.

A HBS é um método de medicina nuclear com sensibilidade elevada e especificidade baixa a moderada, detetando a colestase, mas não a causa da mesma. Para melhorar a precisão, principalmente devido à especificidade, pode ser adicionada a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (*Single-Photon Emission Computed Tomography*, SPECT) ou SPECT/TC. Um estudo dinamarquês de 2021 mostrou alta sensibilidade (100%) tanto na HBS como na SPECT/TC. Porém, a especificidade foi mais alta na SPECT/TC (78%) comparativamente à HBS (67%). Este estudo recente está em concordância com outros dois estudos em que a adição de SPECT levou a uma melhoria da especificidade (89% e 90%) em relação à HBS tradicional (46% e 67%) (64). Como ainda existem poucos estudos e com poucos casos, o conhecimento do valor que a SPECT acrescenta à cintilografia hepatobiliar tradicional é limitado e este método de imagem não é utilizado.

7.3.3. Colangiopancreatografia Retrógrada Endoscópica (CPRE)

A colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) permite avaliar a permeabilidade das vias biliares extra-hepáticas e pode ser usada como método diagnóstico ou terapêutico, consoante o distúrbio biliar em causa. Esta técnica requer profissionais experientes, equipamentos específicos de endoscopia infantil e anestesia geral, sendo por isso realizada em centros de referência (12,63). A CPRE é um procedimento pouco realizado e cujos duodenoscópios adequados (para crianças com peso < 10kg) deixaram de ter produção e manutenção pelo fabricante desde 2014 (65).

Na última década, os avanços tecnológicos permitiram o desenvolvimento da colangiopancreatografia por ressonância magnética (CPRM), que substituiu em muitos casos a CPRE. Contudo, a CPRM não tem a melhor resolução em recém-nascidos, nem permite a realização de intervenções terapêuticas (65–67). Segundo as diretrizes da Sociedade Europeia de Endoscopia Gastrointestinal e da Sociedade Europeia de Gastroenterologia Pediátrica, Hepatologia e Nutrição, a CPRE é recomendada em recém-nascidos e lactentes (≤ 1 ano de idade) com doenças colestáticas caso os métodos não invasivos não sejam conclusivos ou para evitar cirurgia desnecessária em casos suspeitos de AB (66).

A taxa de sucesso da CPRE em lactentes varia de 85% a 94%, segundo diversas fontes (65). Esta técnica pode falhar devido à presença de diferentes alterações anatómicas em distintos

órgãos, como estenose do piloro, estenose do duodeno, ampola de Vater pequena, entre outros (68).

A CPRE é um método invasivo e que não é isento de risco. A taxa geral de complicações em crianças com idade ≤ 1 ano varia entre 13,7% e 14,7%. A maioria (12,9% a 13,8%) é devido à hiperamilasemia assintomática, contudo, é dúbio se esta deve ser ou não contemplada na taxa de complicações (67,69). Uma das complicações mais preocupantes é o risco de pancreatite pós-CPRE (PEP). Num estudo multicêntrico de 2019, foi investigado o risco de PEP em crianças ≤ 1 ano de idade e não foi observado nenhum episódio PEP nos 126 casos em investigação (66). O mesmo foi verificado noutro estudo do mesmo ano (0/225 casos) (67). O risco de PEP em crianças ≤ 1 ano de idade parece ser significativamente menor comparativamente ao risco em adultos e parece não ser necessário fazer profilaxia. Os fatores de risco em adultos podem não se aplicar a crianças com menos de 1 ano (66).

A visualização completa do sistema biliar exclui o diagnóstico de AB. Um parâmetro a analisar adicionalmente é a presença ou ausência de bÍlis na ampola de Vater (63). A ausência de fluidos biliares na ampola é sugestiva de AB. A AB cursa, ainda, com visualização apenas do ducto pancreático ou do ducto cístico com a vesícula biliar e/ou observação de um ducto colédoco rudimentar (68).

Num estudo com 251 casos de CN com indicação para CPRE, o diagnóstico de AB por este método estava em concordância com o diagnóstico cirúrgico em 95% dos casos. Dos falso-positivos, alguns casos necessitariam de cirurgia para esclarecimento da etiologia. Deste modo, a utilização correta da CPRE permitiu evitar cerca de 25% de intervenções cirúrgicas desnecessárias, estando associada apenas a 3,1% das mesmas (68).

Num estudo com casos em que mesmo após a realização de biópsia hepática o diagnóstico de AB não estava confirmado, a CPRE evitou a colangiografia intraoperatória em 42% dos casos (65).

Numa revisão com quatro estudos com ampla faixa etária (19-175 dias), a CPRE apresentou sensibilidade que variou entre 86% e 100%, especificidade de 79% a 94%, VPP de 88% a 96% e VPN de 100% (63).

A especificidade alta e o VPN de 100% da CPRE para a AB permitem que se evite uma possível cirurgia em casos com ductos biliares normais ou patologia passível de ser tratada endoscopicamente. Contudo, esta é uma técnica que requer material específico e profissionais capacitados, sendo por isso recomendada a sua realização em centros de referência (69).

7.3.4. Colangiopancreatografia por Ressonância Magnética (CPRM) e Ressonância Magnética (RM)

A colangiopancreatografia por ressonância magnética (CPRM) é uma técnica não invasiva para visualizar o sistema biliar, incluindo os ramos de primeira ordem dos ductos biliares intra-hepáticos, os ductos biliares extra-hepáticos e a vesícula biliar (12). É uma técnica que normalmente necessita de algum tipo de sedação (25,63).

A ressonância magnética (RM), para além de avaliar a presença ou ausência do ducto colédoco que é avaliado na CPRM, permite também avaliar parâmetros como a ausência ou alterações da vesícula biliar, o espessamento periportal (equivalente ao sinal do cordão triangular visualizado na ecografia) e aumento da intensidade de sinal na *porta hepatis* nas imagens ponderadas em T2 (25,63). A não visualização do ducto colédoco em RM e CPRM é sugestivo de AB. A sua presença exclui o diagnóstico de AB (25).

A visualização de todo o sistema biliar, incluindo a confluência dos ductos biliares extra-hepáticos através da CPRM foi avaliada em casos sem patologia hepatobiliar e com idade inferior a 3 meses, num estudo piloto prospetivo. A visualização de todo o sistema biliar foi possível em apenas 62,5% dos casos fisiologicamente normais com idade inferior a 90 dias e 50% se idade inferior a 30 dias (70). Isto compromete a capacidade diagnóstica deste exame de imagem na AB e aumenta o risco de falso-positivos.

Num estudo de 2016, foi avaliado o valor acrescido da CPRM em relação à ecografia no diagnóstico diferencial da AB. A precisão diagnóstica e o VPP aumentaram significativamente com o uso de CPRM associado à ecografia comparativamente ao uso isolado da ecografia ($p < 0,05$ em ambos). A junção destes dois métodos complementares de diagnóstico também permitiu diminuir o número de diagnósticos errados. Os falso-positivos de AB na CPRM podem dever-se à produção insuficiente de bÍlis no ducto biliar pequeno e hipoplásico que simula a AB e leva a um diagnóstico errado (71).

Han S. e colaboradores (56), num estudo que compara métodos de imagem para diferenciar AB de SALG, concluíram que a não visualização do ducto hepático comum e do ducto colédoco por CPRM não diferiu significativamente entre os dois grupos ($p=1,00$ e $p=0,33$, respetivamente). A não visualização das vias biliares extra-hepáticas por CPRM na SALG pode deve-se à produção e secreção insuficientes de bÍlis por causa da escassez de ductos biliares interlobulares característica desta patologia (56), conduzindo a falso-positivos.

Uma meta-análise de 2018 analisou cinco estudos sobre CPRM e a sensibilidade variou entre 85% e 100% e a especificidade entre 36% e 96%. A sensibilidade e especificidade agrupada foi de 96% e 58%, respetivamente. O VPP foi de 68% e o VPN foi de 94,3% (35).

Outra meta-análise, realizada por He J-P e colaboradores (63), incluiu sete artigos sobre CPRM cuja sensibilidade e especificidade agrupada foram de 89,7% e 64,7%, respectivamente (63).

A CPRM é um método de exame que pode ser útil quando outros métodos, como a ecografia, são inconclusivos no diagnóstico de AB. Pode ainda evitar a necessidade da colangiografia intraoperatória em casos nos quais é possível visualizar todo o sistema biliar (71).

Nos últimos anos, tem-se avaliado outros parâmetros em adição à visualização das vias biliares extra-hepáticas em ressonância magnética, como a ausência ou alterações da vesícula biliar e o espessamento periportal. Num estudo de 2018, a não visualização do ducto colédoco, a morfologia anormal da vesícula biliar e o espessamento periportal foram considerados preditores significativos para diferenciar os casos de AB dos casos com outras formas de CN ($p < 0,001$ em todos os parâmetros). Comparando estes três parâmetros na ecografia e na ressonância magnética, não houve diferenças significativas entre as duas modalidades ($p = 0,110$). Contudo, o modelo de árvore de decisão da RM com os três parâmetros, permitiu que 75% (9/12) dos falso-negativos na ecografia passassem a ser positivos. Para além disso, todos os falso-positivos na ecografia foram corretamente classificados como negativos para AB (72).

A sensibilidade, especificidade, VPP e VPN da ressonância magnética foram 97,3%, 94,8%, 95,6% e 96,8%, respectivamente. Estes valores consideravelmente superiores aos valores observados na CPRM podem ser justificados pela inclusão de dois parâmetros extra (morfologia da vesícula biliar e espessamento periportal) à avaliação da visualização do ducto colédoco (72). De realçar que este é um estudo retrospectivo e que estudos futuros prospetivos são necessários para avaliar a precisão diagnóstica deste método.

7.3.5. Colecisto-colangiografia percutânea

A colecisto-colangiografia percutânea (*percutaneous cholecysto-cholangiography*, PCC) é uma técnica guiada por ecografia realizada com anestesia. É usada uma agulha para perfurar a vesícula biliar através do parênquima hepático e injeta-se um meio de contraste. Pode, ainda, ser aspirada bÍlis se a vesícula biliar estiver distendida e permite a realização de estudos bioquímicos em casos com suspeita de colestase genética (63).

Pode ser útil para confirmar ou descartar a AB em casos difíceis, sendo que a ausência de preenchimento retrógrado de contraste nos ductos biliares intra-hepáticos é sugestiva de AB. Se existir colestase não relacionada com AB, observa-se opacificação dos ductos biliares intra-hepáticos e extra-hepáticos e do duodeno (63).

Contudo, esta técnica pode não demonstrar a permeabilidade retrógrada das vias biliares no fígado e não identificar obstruções proximais. A PCC pode ser realizada em combinação com a biópsia hepática, mas não está esclarecido se esta técnica é desnecessária em casos em que a biópsia seria suficiente (12).

Num estudo de 2022 em que se utilizou a PCC em casos suspeitos de AB com vesícula biliar com comprimento >1,5 cm, 90,8% dos casos foram submetidos com sucesso a este método e em todos os lactentes (6/6) com vesículas biliares contraídas não foi possível utilizar este método. 33,8% dos lactentes apresentaram acumulação de líquido à volta do fígado e da vesícula biliar relacionada com a punção, mas nenhum necessitou de tratamento. Quando a PCC e a biópsia hepática foram combinadas, todos os casos foram diagnosticados corretamente e em 35 lactentes (35/36) a AB foi excluída sem recorrer à colangiografia intraoperatória. A PCC parece ser um método com sensibilidade e especificidade elevadas, contudo, para ser realizada é preciso que o lúmen da vesícula biliar seja acessível e não contraído (73). São ainda necessários estudos para validar esta opção de diagnóstico, para avaliar as possíveis complicações e limitações e para perceber o valor que acresce aos métodos já existentes e usados.

7.4. Estudo histopatológico – Biópsia hepática

A biópsia hepática pré-colangiografia intraoperatória é importante na investigação da CN de causa não diagnosticada (74). A biópsia hepática percutânea guiada por ecografia não é um exame isento de riscos e apresenta uma taxa geral de complicações de 1,7% a 4,6% dos casos (63). A taxa de precisão diagnóstica da biópsia hepática para o diagnóstico de AB, descrita em vários estudos, varia entre 60% e 95% (63). A variabilidade pode dever-se a fatores como experiência do patologista, momento em que é feita a biópsia e até evolução da própria doença (74).

As características histológicas clássicas da obstrução biliar (vide figura 5), encontradas em casos de AB, são a reação ductular, os tampões biliares nos ductos/dúctulos biliares neoformados, a fibrose portal ou perilobular e o edema, com preservação da arquitetura básica dos lóbulos hepáticos (12,16). Em 20%-50% dos bebés com AB são encontradas células gigantes (12). No entanto, as características histológicas evoluem e variam com a idade e podem sobrepor-se a várias das doenças que cursam com CN (63). As biópsias hepáticas realizadas precocemente podem levar a resultados falso-negativos pois as alterações histológicas mais precoces da AB podem ser inespecíficas (63). Por este motivo, a histologia hepática não deve ser sobrevalorizada nessa idade (antes das 4 semanas de idade) (75).

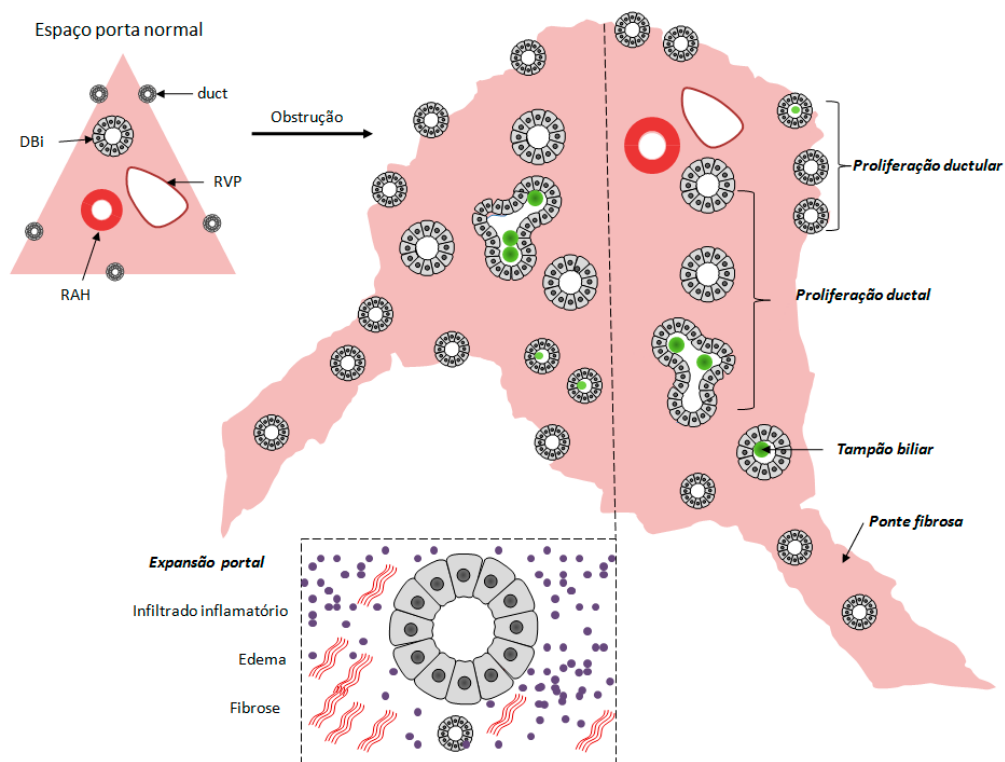


Figura 5. Representação esquemática das alterações histopatológicas indicadoras de obstrução mecânica extra-hepática, comparativamente ao normal. Abreviações: DBi: ducto biliar interlobular; duct: ductulos biliares; RAH: ramo da artéria hepática; RVP: ramo da veia porta. Fonte: (21).

Existem algumas doenças que se podem assemelhar histologicamente à AB como a SALG, a CN associada à nutrição parentérica, a fibrose quística e a DAAT (12,14). Se a biópsia for realizada antes das 6 semanas, os achados podem não ser distinguíveis de achados histopatológicos de hepatite neonatal (16). Num estudo de 2017, 12,2% das biópsias pré-operatórias realizadas eram falso-positivos para AB (68).

Um estudo prospectivo multicêntrico, realizado por Russo P. e colaboradores (74), observou que existia variabilidade na gravidade das alterações histológicas na AB. A maioria dos casos de AB tinha fibrose portal estadio 1 ou 2, mas 23,6% estavam no estadio 3 ou 4. A reação ductular e os tampões biliares nos ductos/ductulos biliares portais são característicos da AB, contudo, a reação ductular estava ausente em 22,8% dos casos e os tampões biliares estavam ausentes em 25% dos casos. Foi também verificado que existia sobreposição entre o grupo de AB e o grupo com outras causas de CN. Mais de 40% dos casos do último grupo apresentaram algum grau de reação ductular e os tampões biliares estavam presentes em 15% dos casos (74).

No estudo anterior, cinco características foram consideradas preditores de AB usando análise multivariada: tampões biliares ($p < 0,001$), edema portal ($p < 0,006$), ausência de escassez de ductos biliares ($p < 0,003$), ausência/rara transformação de células gigantes ($p = 0,054$) e ausência/rara hematopoiese lobular extramedular. Se observadas juntas, estas

características revelaram um índice de concordância de 0,89 no diagnóstico de AB (valores do índice de concordância variando de 0 a 1). Foi ainda demonstrado que uma idade avançada estava associada a reação ductular moderada a acentuada, presença de tampões biliares, formação de pseudo-rosetas e estadios avançados de fibrose portal ($p < 0,05$) (74).

A forma quística da AB tem como diagnóstico diferencial o quisto do colédoco. Num estudo de 2022, em que se compararam diversos métodos de diagnóstico entre estas duas patologias, comparou-se os achados histológicos. A maioria dos casos no grupo com forma quística da AB apresentou fibrose hepática leve ou moderada [10/29 (34,5%) e 10/29 (34,5%), respetivamente]. Já no grupo com quisto do colédoco a maioria dos lactentes não tinham fibrose hepática [55/67 (82,1%)]. O grau de fibrose hepática no grupo com forma quística da AB foi significativamente maior do que no grupo com quisto do colédoco ($p < 0,001$). Quanto à reação ductular, a maior parte dos casos com forma quística da AB apresentaram reação leve a moderada [10/29 (34,5%) e 10/29 (34,5%), respetivamente], e nos casos com quisto do colédoco a maioria não apresentou reação ductular [54/67 (80,6%)]. O grau de reação ductular em lactentes com forma quística da AB foi mais grave do que nos casos de quisto do colédoco ($p < 0,001$). Neste estudo não foram considerados outros achados histológicos característicos de AB que poderiam ajudar no diagnóstico diferencial, como os tampões biliares nos ductos/dúctulos biliares (55).

A SALG pode partilhar algumas características histológicas com a AB. Porém, na SALG existe escassez de ductos biliares que é definida histologicamente pela relação entre ducto biliar interlobular/ramo da artéria hepática nos tratos portais $< 0,4$. O número ideal de tríades portais para realizar a relação descrita seria 20, mas tal não é possível com a biópsia percutânea, e considera-se um número aceitável igual ou superior a cinco tríades portais. É preciso também ter em conta que a relação varia com o desenvolvimento do sistema biliar e após o nascimento. A escassez de ductos biliares, para além de ocorrer em distúrbios de desenvolvimento, pode ser secundária a isquemia, toxicidade, atrofia e/ou inflamação (14).

Uma meta-análise de 2018 analisou 11 estudos sobre biópsia hepática e a sensibilidade variou entre 90% e 100% e a especificidade entre 84% e 100% no diagnóstico de AB. Este método de diagnóstico apresentou sensibilidade e especificidade agrupada de 98% e 93%, respetivamente. O VPP foi de 93% e o VPN foi de 97,7% (35). Outra meta-análise, realizada por Lee e colaboradores (76), incluiu 22 artigos e a sensibilidade obtida foi de 91,2%, a especificidade foi de 93%, o VPP de 91,2% e o VPN de 92,5% (76).

A biópsia hepática percutânea é um método utilizado para se obter um diagnóstico pré-operatório. Contudo, o resultado da biópsia pode levar a atrasos na cirurgia de Kasai e pode ter complicações, embora raríssimas, entre elas hemorragia potencialmente grave. Num

estudo japonês de 2019 foi avaliada a necessidade da biópsia hepática percutânea na era da laparoscopia. A avaliação laparoscópica (inspeção de fígado fibrótico, avaliação da *porta hepatis* e colangiografia) apresentou precisão diagnóstica de 100% para a AB e permitiu a progressão imediata para portoenterostomia de Kasai. Neste estudo foi ainda demonstrado que a biópsia percutânea não foi necessária e nenhum caso foi diagnosticado de forma errada. A percentagem de sobrevivência com o fígado nativo aumentou de 24% para 61%, em parte após introdução da via laparoscópica em detrimento da biópsia hepática percutânea, mas também por modificações técnicas na portoenterostomia de Kasai e pela revisão do protocolo pós-cirúrgico. A biópsia mostrou ser pouco necessária quando é realizada laparoscopia. Por outro lado, pode ser importante para esclarecer o diagnóstico de outras causas de CN, quando a AB é excluída (77).

7.5. Colangiografia intraoperatória

A colangiografia intraoperatória e o exame histológico do remanescente do ducto biliar são considerados o *gold standard* para diagnosticar a AB. A colangiografia intraoperatória é geralmente realizada após a suspeita de obstrução biliar em biópsia hepática ou se existirem outras indicações suspeitas de AB. Se a AB for confirmada com a não visualização de uma árvore biliar extra-hepática permeável, a KPE é geralmente realizada (12).

Os achados que podem ser encontrados e que são sugestivos de AB são a ausência do lúmen da vesícula biliar, vesícula biliar pequena e atrésica e, ainda, se for injetado contraste, ausência de agente de contraste nos ductos biliares e intestino delgado (25).

A colangiografia intraoperatória deve ser realizada o mais precocemente possível em casos suspeitos de forma quística de AB. Esta é útil quer para confirmar o diagnóstico, diferenciando-o dos casos de quisto do colédoco, quer para permitir uma intervenção cirúrgica precoce. Nos quistos do colédoco, é possível observar a vesícula biliar, o quisto, os ductos biliares intra-hepáticos e extra-hepáticos e o intestino. Em oposição, nos casos de forma quística de AB, o meio de contraste não é eliminado no duodeno (54,55).

No estudo de Han S. e colaboradores (56), a não visualização do ducto colédoco por CPRM não diferiu significativamente entre o grupo com SALG e com AB ($p=0,330$). Todavia, recorrendo à colangiografia intraoperatória, a presença do ducto colédoco foi mais comumente observada no grupo com SALG (100%) do que no grupo com AB (21%) ($p=0,023$), ajudando a diferenciar estas duas patologias (56).

Não obstante, em até 20% dos casos, a colangiografia pode sugerir um diagnóstico incorreto (12,14). O bloqueio do fluxo de bÍlis extra-hepático pode ocorrer por obstrução mecânica

(como é o caso da AB), mas também por agenesia dos ductos biliares extra-hepáticos ou por hipoplasia dos ductos extra-hepáticos causada pela diminuição do fluxo de bÍlis intra-hepática (ambos relacionados com a SALG). De realçar que a realização da portoenterostomia de Kasai, baseada num resultado falso-positivo de AB, pode piorar o prognóstico da SALG. A otimização técnica da colangiografia e a excisão da *porta hepatis* para a análise histológica para confirmação do diagnóstico pode aumentar a precisão do método e evitar uma portoenterostomia desnecessária (14).

7.5.1. Laparoscopia

A colangiografia pode ser realizada via laparotomia ou laparoscopia. A laparoscopia é um procedimento minimamente invasivo que pode excluir causas cirúrgicas e ajudar a evitar laparotomias desnecessárias (78) e, por isso, tem sido alvo de pesquisa nos últimos anos.

Alkan M. e colaboradores (78) compararam a colangiografia via laparoscopia e a colangiografia via laparotomia em relação à duração do procedimento, ao tempo de início da alimentação enteral pós-operatória e ao tempo para alcançar a alimentação enteral completa. Todos os parâmetros avaliados tiveram significativamente menor tempo na colangiografia laparoscópica comparativamente à técnica tradicional por laparotomia ($p < 0.001$, $p = 0.003$ e $p = 0.001$, respetivamente) (78).

É possível excluir o diagnóstico de AB através da confirmação da permeabilidade dos ductos biliares com a laparoscopia. Em dois estudos distintos, foi demonstrado que o uso da colangiografia laparoscópica e identificação da permeabilidade dos ductos biliares evitou a laparotomia em 66,7% e 70% dos lactentes (78,79).

Recentemente tem sido investigado o papel de um novo achado patológico encontrado na superfície hepática em doentes com AB via laparoscopia – o sinal de telangiectasias subcapsulares hepáticas tipo aranha (HSST). Este sinal é composto por vários plexos vasculares, em forma de aranha, tortuosos e aumentados com quatro a oito ramificações distribuídas pela superfície do fígado. Pode ser do subtipo descentralizado/disperso se as ramificações se originam em mais de um ponto central, mas próximas umas das outras para formar um sinal em forma de aranha ou do subtipo centralizado/concentrado se as ramificações se originam de um único ponto central (48,80,81). Na figura 6 encontra-se representado os dois tipos de sinal de HSST. A sensibilidade deste sinal foi de 100%, a especificidade variou entre 96,2% e 98,1%, VPN de 100% e VPP entre 97,8% e 99,2% (48,80,81). O sinal de HSST não parece relacionar-se com o nível de fibrose ou cirrose hepática (48,80), nem com a idade (81).

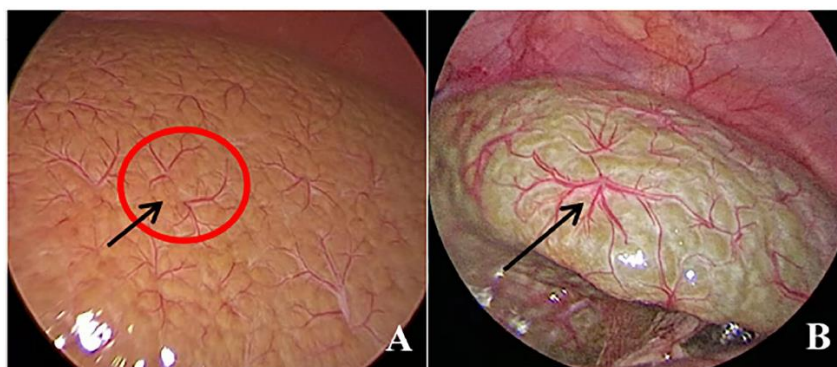


Figura 6. Dois tipos de sinal de HSST na AB. A: Tipo descentralizado/disperso num menino de 69 dias com AB (seta preta). B: Tipo centralizado/concentrado num menino de 75 dias com AB (seta preta). Fonte: (48)

Contudo, o sinal HSST pode ser atípico e é apresentado como pequenos vasos sanguíneos na superfície hepática, ausência de ramos em forma de aranha ou dilatação de capilares na região subcapsular hepática, em vez dos ramos da artéria hepática. No estudo multicêntrico de 2022, os casos com sinal de HSST atípico foram encontrados em lactentes com SALG, síndrome de hepatite neonatal e na infecção por citomegalovírus (81). A figura 7 representa exemplos de sinal de HSST típico e atípico.

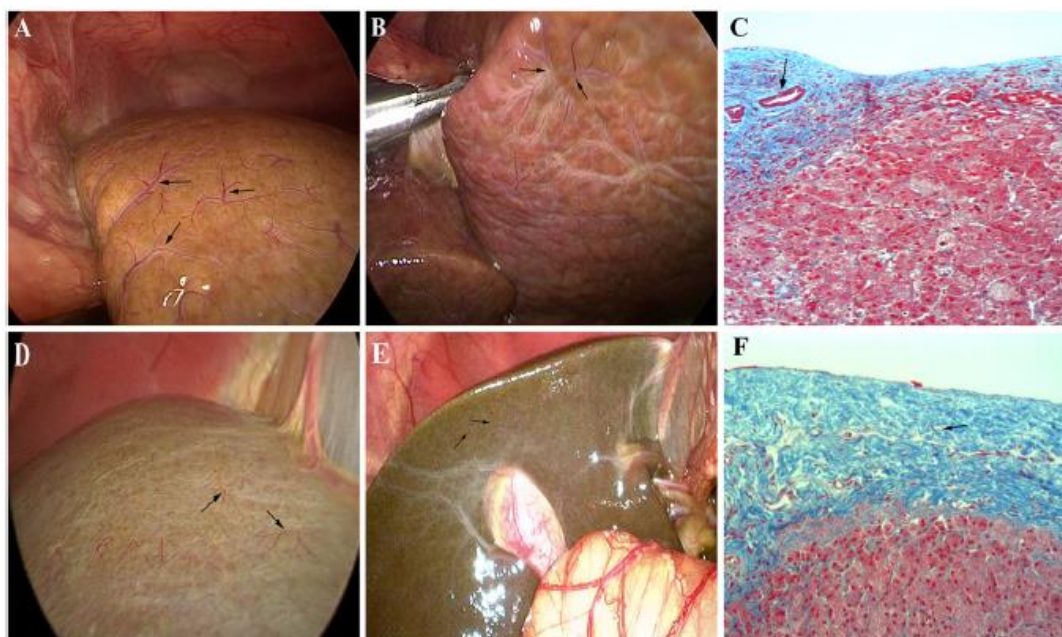


Figura 7. Sinal HSST típico e atípico. Sinal HSST típico: A. Tipo concentrado (seta) do sinal HSST num caso de 58 dias com atresia biliar (AB); B. Tipo disperso (seta) do sinal HSST num caso de 61 dias com AB; C. Artérias dilatadas (seta) na área subcapsular hepática na AB (Masson; aumento de 100x). Sinal HSST atípico: D. Plexos de vasos pequenos num caso de 55 dias com síndrome de Alagille (SALG); E. Plexos de vasos pequenos num caso com 51 dias de hepatite neonatal idiopática; F. Os vasos no SAGL revelaram ser capilares dilatados (seta) na região subcapsular hepática (Masson; aumento de 100x). Fonte: (81).

Num dos estudos sobre o sinal HSST foi avaliada ainda a capacidade diagnóstica isolada do sinal HSST e da colangiografia intraoperatória. Quando comparadas, a precisão diagnóstica do sinal HSST (99,2%) foi superior à da colangiografia (95,0%) ($p=0,012$) (81).

A laparoscopia e o sinal HSST parecem ser promissores e com grande capacidade para diagnosticar a AB. No entanto, são precisos mais estudos no futuro, de preferência estudos multicêntricos com amostras maiores.

7.6. Sequenciação de Nova Geração (NGS)

A sequenciação de nova geração (NGS) inclui painéis de genes direcionados que analisam dezenas de genes associados à colestase neonatal, sequenciação do exoma completo ou sequenciação do genoma completo. A NGS está disponível em muitos centros e países e pode identificar todas as variantes genéticas conhecidas que foram associadas a CN, incluindo JAGGED1 e NOTCH2 (síndrome de Alagille), ATP8B1 (PFIC tipo 1), ABCB11 (PFIC tipo 2), ABCB4 (PFIC tipo 3), SERPINA1 (deficiência de alfa-1-antitripsina), ABCC2 (síndrome de Dubin-Johnson) e SLC25A13 (colestase intra-hepática neonatal causada por deficiência de citrina), bem como outras condições mais raras. Estes testes genéticos permitem a descoberta de novas causas genéticas de CN (75).

Vários estudos sobre a utilidade da NGS na avaliação da CN mostraram que a NGS estabeleceu um diagnóstico molecular em cerca de um quarto dos casos de CN (22%-27% dos casos). Contudo, existem variantes de significado desconhecido que precisam de ser interpretadas caso a caso (75).

Os resultados destes testes genéticos em alguns centros experientes podem ser obtidos após pelo menos dez dias, mas normalmente são obtidos em semanas (trinta a noventa dias). Este tempo de espera é muito prolongado para implementar o uso rotineiro de NGS numa primeira etapa da investigação de CN (14).

Num estudo retrospectivo com casos de CN tratados no Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra foi realizado um teste genético com painel de genes direcionado que incluiu 54 genes relacionados à CN. Dos 15 lactentes diagnosticados com BA, 80% apresentaram variantes genéticas relevantes. Para além disso, 3 dos 15 apresentaram um diagnóstico molecular de DAAT, de fibrose quística e de SALG. É importante ressaltar que a presença de variantes genéticas patogénicas pode coincidir com a presença de AB (14).

A utilização de sequenciação de nova geração pode ser, futuramente, um método eficaz e custo-efetivo para determinar a etiologia em casos em que a AB foi excluída e em que o diagnóstico final permanece desconhecido (75), não sendo tão útil para o diagnóstico específico de AB.

8. Conclusão

A atresia biliar é uma causa de morbimortalidade significativa na população pediátrica, sendo a principal causa de transplante hepático nesta faixa etária. O tratamento da doença consiste, normalmente, na realização da cirurgia designada portoenterostomia hepática de Kasai. O diagnóstico rápido e atempado permite o tratamento precoce e a adia a necessidade de transplante hepático.

A avaliação inicial deve sempre basear-se numa anamnese detalhada e num exame físico completo. Os recém-nascidos com AB apresentam aparência saudável com a tríade clínica de icterícia prolongada, colúria e acolia das fezes. No âmbito de deteção precoce das fezes claras foi desenvolvido um método de rastreio, o cartão da escala cromática das fezes, que apresenta sensibilidade e especificidade elevada.

A nível laboratorial, existe aumento da bilirrubina total e direta sérica (que preenche os critérios de CN), aumento de marcadores séricos de gravidade da doença hepática como a elevação da GGT e, recentemente, tem-se investigado o papel potencial da MMP7. A MMP7 parece estar significativamente aumentada e ter uma precisão diagnóstica elevada na AB, contudo, são precisos estudos de maior escala para este biomarcador.

Os exames complementares de diagnóstico devem ser dirigidos à suspeita clínica e laboratorial. A tabela 4 resume os testes que podem ser realizados aquando do diagnóstico de AB, com a sensibilidade e especificidade dos estudos incluídos e com alguns comentários.

Tabela 4. Tabela-resumo com os métodos complementares de diagnóstico na AB

Teste	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Comentários	
Ecografia	Geral e achados ecográficos sugestivos de AB	77 (geral) 68 (Ct) 79 (AVB) 20 (aVB) 93 a 95 (NVDB) 25 (LQ)	93 (geral) 95 (Ct) 81 (AVB) 98 (aVB) 48 a 92 (NVDB) 97 (LQ)	Muito dependente do operador Método não invasivo Permite descartar outras causas extra-hepáticas de CN Poucos estudos (na elastografia)
	Eco-Doppler	82 (DAH) 95 (FSCH)	70 (DAH) 92 (FSCH)	
	Elastografia	83	79	
HBS	Isolada	84 a 100	35 a 93	Especificidade baixa a moderada
	HBS-SPCET	100	78 a 90	Poucos estudos Indisponível
CPRE	86 a 100	79 a 94	Técnica que requer material específico e profissionais capacitados Requer anestesia geral Realizada em centros de referência	

CPRM	Isolada	85 a 100	36 e 96	Requer sedação ou anestesia Poucos estudos
	Associada a RM	97,3 (1 estudo)	94,8 (1 estudo)	
PCC		n.d.	n.d.	Técnica que necessita que o lúmen da vesícula biliar seja acessível e não contraído Necessários estudos para avaliar precisão
Biópsia hepática		90 a 100	84 a 100	Método com alta precisão Método invasivo Importante no diagnóstico diferencial histológico de outras causas de CN

Abreviações: ABV: Alterações da vesícula biliar; aVB: Ausência de vesícula biliar; CPRE: Colangiopancreatografia retrógrada endoscópica; CPRM: Colangiopancreatografia por ressonância magnética; Ct: Sinal do cordão triangular; DAH: Dilatação da artéria hepática; FSCH: Fluxo subcapsular hepático; HBS: Cintilografia hepatobiliar; LQ: Lesões quísticas (macroquistos e microquistos); NVDB: Não visualização do ducto biliar extra-hepático; PCC: Colecisto-colangiografia percutânea; RM: Ressonância magnética; SPECT: Tomografia computadorizada por emissão de fóton único. Adaptado de: (21).

Quanto à colangiografia intraoperatória, o *gold standard* no diagnóstico definitivo de AB, nos últimos anos, tem sido estudada uma alternativa à laparotomia. A realização de colangiografia intraoperatória via laparoscopia mostrou ter maior precisão diagnóstica, devido à avaliação adicional do sinal de telangiectasias subcapsulares hepáticas tipo aranha, e permitiu evitar a laparotomia numa grande percentagem de lactentes.

A utilização de sequenciação de nova geração não é uma abordagem de primeira linha viável no diagnóstico diferencial de AB, à luz do conhecimento atual, sendo útil para determinar a etiologia da colestase neonatal em casos em que a AB foi excluída, mas o diagnóstico permanece desconhecido.

Houve avanços significativos no diagnóstico da AB e da CN, mas é necessária investigação adicional de modo a elucidar a precisão diagnóstica, principalmente dos biomarcadores (nomeadamente o promissor MMP7), da elastografia e do sinal HSST na colangiografia intraoperatória via laparoscopia. Quanto à CN, quando o diagnóstico de AB é excluído, é fundamental a identificação de mais genes associados à CN e um acesso atempado e generalizado à sequenciação de nova geração.

Por último, apresento de seguida um fluxograma para orientação do diagnóstico de um lactente nas primeiras semanas de vida com icterícia, especificando a abordagem diagnóstica de AB.

Últimos 10 anos no Diagnóstico da Atresia Biliar

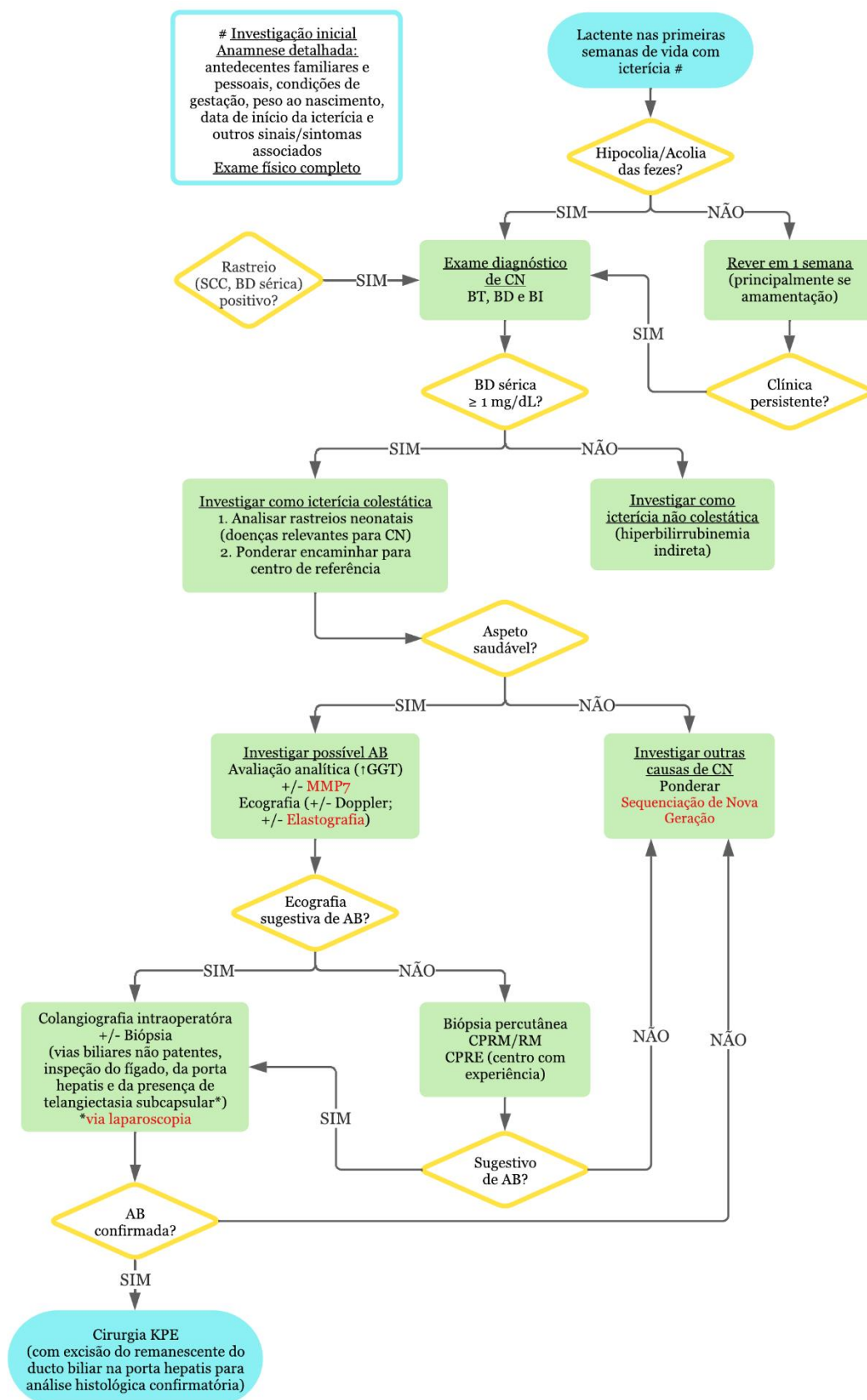


Figura 8. Fluxograma de diagnóstico de AB. O cerne deste fluxograma é a identificação de um lactente com icterícia, identificação de CN e orientações no diagnóstico de AB. A vermelho encontram-se os métodos promissores, mas que ainda requerem investigação adicional como o biomarcador MMP7, a elastografia, a colangiografia intraoperatória via laparoscopia e a sequenciação de nova geração (continuação na página seguinte).

Na ecografia considera-se sugestivo de AB o sinal do cordão triangular, a vesícula biliar anormal/ausente, a não visualização do ducto biliar extra-hepático, o aumento do diâmetro da artéria hepática no hilo hepático e o fluxo sanguíneo subcapsular na ecografia com Doppler, e o aumento da rigidez hepática/velocidade da onda de cisalhamento na elastografia. Na biópsia percutânea é possível observar-se um padrão obstrutivo na AB. Na CPRM, a visualização completa do sistema biliar exclui o diagnóstico de AB, sendo que nos casos de AB não se visualiza o ducto biliar extra-hepático. A CPRM substituiu na maioria dos casos a CPRE. Por último a colangiografia intraoperatória permite confirmar o diagnóstico de AB, sendo que a via laparoscópica para além de avaliar a permeabilidade das vias biliares, inspecionar o fígado fibrótico e avaliar a *porta hepatis*, permite a visualização do sinal de telangiectasias subcapsulares hepáticas tipo aranha, presente em casos de AB. Se a AB for confirmada, a KPE é geralmente realizada. No fluxograma não se incluiu a cintilografia hepatobiliar por não ser uma técnica rotineiramente usada atualmente. Também não foi incluída a colecisto-colangiografia percutânea por ser uma técnica de último recurso e apenas em bebés com o lúmen da vesícula biliar acessível e não contraído. É ainda necessário perceber o valor que acresce aos métodos já existentes.

Abreviações: AB: atresia biliar; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; BT: bilirrubina total; CPRM: colangiopancreatografia por ressonância magnética; CN: colestase neonatal; CPRE: colangiopancreatografia retrógrada endoscópica; GGT: Gama-glutamil transpeptidase; KPE: Portoenterostomia hepática de Kasai; MMP7: Metaloproteinase de matriz 7; SCC: cartão da escala cromática das fezes.

9. Referências bibliográficas

1. Halliday N, Chung H. Abdomen. In: BRS Gross Anatomy. 9th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2019. p. 109–69.
2. Moore K, Dalley A, Agur A. Abdomen. In: Clinically oriented anatomy. 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2018. p. 404–552.
3. Hansen J. Abdomen. In: Netter's Clinical Anatomy. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. p. 157–232.
4. Nagy P, Thorgeirsson S, Grisham J. Organizational Principles of the Liver. In: Arias I, Alter H, Boyer J, Cohen D, Shafritz D, Thorgeirsson S, et al., editors. The liver: Biology and Pathobiology. 6th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Ltd; 2020. p. 3–13.
5. Santos J. Metabolismo e fluxo biliar. In: Silva L, Ferreira C, Carvalho E, editors. Hepatologia em Pediatria – Série Gastroenterologia e Hepatologia em Pediatria. 1st ed. Barueri, São Paulo: Manole; 2012. p. 47–71.
6. Lodge P. Liver. In: Standring S, editor. Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice. 41st ed. Elsevier; 2016. p. 1160–72.
7. Aboughalia H, Helen K, Dick AAS, Pacheco MC, Cilley RE, Iyer RS. Pediatric biliary disorders: Multimodality imaging evaluation with clinicopathologic correlation. Clin Imaging. Elsevier Inc.; 2021;75:34–45. DOI: 10.1016/j.clinimag.2021.01.006
8. Kriegermeier A, Green R. Pediatric Cholestatic Liver Disease: Review of Bile Acid Metabolism and Discussion of Current and Emerging Therapies. Front Med (Lausanne). Frontiers Media S.A.; 2020;7:149. DOI: 10.3389/fmed.2020.00149
9. Li T, Chiang J. Bile Acid Metabolism in Health and Disease: An Update. In: Arias I, Alter H, Boyer J, Cohen D, Shafritz D, Thorgeirsson S, et al., editors. The liver: Biology and Pathobiology. 6th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Ltd; 2020. p. 271–85.
10. Cheung AC, Lorenzo Pisarello MJ, LaRusso NF. Pathobiology of biliary epithelia. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. Elsevier B.V.; 2018;1864(4):1220–31. DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.06.024

11. Santos J, Carvalho E, Seixas R. Colestase neonatal. In: Silva L, Ferreira C, Carvalho E, editors. *Hepatologia em Pediatria – Série Gastroenterologia e Hepatologia em Pediatria*. 1st ed. Barueri, São Paulo: Manole; 2012. p. 225–68.
12. 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 gastroenterology, hepatology, and nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. Lippincott Williams and Wilkins; 2017;64(1):154–68. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001334
13. Feldman AG, Sokol RJ. Neonatal cholestasis: emerging molecular diagnostics and potential novel therapeutics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. Nature Publishing Group; 2019;16(6):346–60. DOI: 10.1038/s41575-019-0132-z
14. Quelhas P, Jacinto J, Cerski C, Oliveira R, Oliveira J, Carvalho E, et al. Protocols of Investigation of Neonatal Cholestasis—A Critical Appraisal. *Healthcare*. MDPI; 2022;10(10):2012. DOI: 10.3390/healthcare10102012
15. Baumann U, Ure B. Biliary atresia. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2012;36(3):257–9. DOI: 10.1016/j.clinre.2012.03.017
16. Napolitano M, Franchi-Abella S, Damasio MB, Augdal TA, Avni FE, Bruno C, et al. Practical approach to imaging diagnosis of biliary atresia, Part 1: prenatal ultrasound and magnetic resonance imaging, and postnatal ultrasound. *Pediatr Radiol*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021;51(2):314–31. DOI: 10.1007/s00247-020-04840-9
17. Quelhas P, Cerski C, dos Santos JL. Update on Etiology and Pathogenesis of Biliary Atresia. *Curr Pediatr Rev*. Bentham Science Publishers Ltd.; 2022;19(1):48–67. DOI: 10.2174/1573396318666220510130259
18. Quelhas P, Breton MC, Oliveira RC, Cipriano MA, Teixeira P, Cerski CT, et al. HIF-1 α -pathway activation in cholangiocytes of patients with biliary atresia: An immunohistochemical/molecular exploratory study. *J Pediatr Surg*. W.B. Saunders; 2023;58(3):587–94. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2022.08.020
19. Fratta LXS, Hoss GRW, Longo L, Uribe-Cruz C, Da Silveira TR, Vieira SMG, et al. Hypoxic-ischemic gene expression profile in the isolated variant of biliary atresia. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. Blackwell Publishing Asia; 2015;22(12):846–54. DOI: 10.1002/jhbp.297

20. Dos Santos JL, Da Silveira TR, Da Silva VD, Cerski CT, Wagner MB. Medial thickening of hepatic artery branches in biliary atresia. A morphometric study. *J Pediatr Surg*. W.B. Saunders; 2005;40(4):637–42. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2004.12.002
21. Santos J, Silveira T. Atresia biliar. In: Silva L, Ferreira C, Carvalho E, editors. *Hepatologia em Pediatria – Série Gastroenterologia e Hepatologia em Pediatria*. 1st ed. Barueri, São Paulo: Manole; 2012. p. 269–302.
22. Sanchez-Valle A, Kassira N, Varela VC, Radu SC, Paidas C, Kirby RS. Biliary Atresia: Epidemiology, Genetics, Clinical Update, and Public Health Perspective. *Adv Pediatr*. Academic Press Inc.; 2017;64(1):285–305. DOI: 10.1016/j.yapd.2017.03.012
23. Tang J, Zhang D, Liu W, Zeng JX, Yu JK, Gao Y. Differentiation between cystic biliary atresia and choledochal cyst: A retrospective analysis. *J Paediatr Child Health*. Blackwell Publishing; 2018;54(4):383–9. DOI: 10.1111/jpc.13779
24. Asai A. 50 Years Ago - Diagnosis of Biliary Atresia: Relative Accuracy of Percutaneous Liver Biopsy, Open Liver Biopsy, and Operative Cholangiography. *Journal of Pediatrics*. Mosby Inc.; 2017;189:188. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.04.040
25. Brahee DD, Lampl BS. Neonatal diagnosis of biliary atresia: a practical review and update. *Pediatr Radiol*. 2022;52(4):685–92. DOI: 10.1007/s00247-021-05148-y
26. Santos JL, Kieling CO, Meurer L, Vieira S, Ferreira CT, Lorentz A, et al. The extent of biliary proliferation in liver biopsies from patients with biliary atresia at portoenterostomy is associated with the postoperative prognosis. *J Pediatr Surg*. 2009;44(4):695–701. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2008.09.013
27. Aldeiri B, Giamouris V, Pushparajah K, Miller O, Baker A, Davenport M. Cardiac-associated biliary atresia (CABA): A prognostic subgroup. *Arch Dis Child*. BMJ Publishing Group; 2021;106(1):68–72. DOI: 10.1136/archdischild-2020-319122
28. Sira MM, Taha M, Sira AM. Common misdiagnoses of biliary atresia. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. Lippincott Williams and Wilkins; 2014;26(11):1300–5. DOI: 10.1097/MEG.000000000000198
29. Humphrey TM. The role of ultrasound in the investigation of neonatal jaundice. *Clin Radiol*. W.B. Saunders Ltd; 2020;75(11):815–21. DOI: 10.1016/j.crad.2020.01.018
30. Suzuki T, Hashimoto T, Hussein MH, Hara F, Hibi M, Kato T. Biliary atresia type I cyst and choledochal cyst: Can we differentiate or not? *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. Blackwell Publishing Asia; 2013;20(5):465–70. DOI: 10.1007/s00534-013-0605-3

31. Liu Y, Wang H, Dong C, Feng J xiong, Huang Z hua. Clinical Features and Genetic Analysis of Pediatric Patients with Alagille Syndrome Presenting Initially with Liver Function Abnormalities. *Curr Med Sci. Huazhong University of Science and Technology*; 2018;38(2):304–9. DOI: 10.1007/s11596-018-1879-0
32. Gu YH, Yokoyama K, Mizuta K, Tsuchioka T, Kudo T, Sasaki H, et al. Stool color card screening for early detection of biliary atresia and long-term native liver survival: A 19-year cohort study in Japan. *Journal of Pediatrics. Mosby Inc.*; 2015;166(4):897-902.e1. DOI: 10.1016/j.jpeds.2014.12.063
33. Rabbani T, Guthery SL, Himes R, Shneider BL, Harpavat S. Newborn Screening for Biliary Atresia: a Review of Current Methods. *Curr Gastroenterol Rep. Springer*; 2021;23(12):28. DOI: 10.1007/s11894-021-00825-2
34. Santos Silva E, Moreira Silva H, Azevedo Lijnzaat L, Melo C, Costa E, Martins E, et al. Clinical practices among healthcare professionals concerning neonatal jaundice and pale stools. *Eur J Pediatr. Springer Verlag*; 2017;176(3):361–9. DOI: 10.1007/s00431-016-2847-y
35. Wang L, Yang Y, Chen Y, Zhan J. Early differential diagnosis methods of biliary atresia: a meta-analysis. *Pediatr Surg Int. Springer Verlag*; 2018;34(4):363–80. DOI: 10.1007/s00383-018-4229-1
36. Matsui A. Screening for biliary atresia. *Pediatr Surg Int. Springer Verlag*; 2017;33(12):1305–13. DOI: 10.1007/s00383-017-4175-3
37. Kong YY, Zhao JQ, Wang J, Qiu L, Yang HH, Diao M, et al. Modified stool color card with digital images was efficient and feasible for early detection of biliary atresia—a pilot study in Beijing, China. *World Journal of Pediatrics. Institute of Pediatrics of Zhejiang University*; 2016;12(4):415–20. DOI: 10.1007/s12519-016-0061-7
38. Franciscovich A, Vaidya D, Doyle J, Bolinger J, Capdevila M, Rice M, et al. Poop MD, a mobile health application, accurately identifies infant acholic stools. *PLoS One. Public Library of Science*; 2015;10(7):e0132270. DOI: 10.1371/journal.pone.0132270
39. Hoshino E, Hayashi K, Suzuki M, Obatake M, Urayama KY, Nakano S, et al. An iPhone application using a novel stool color detection algorithm for biliary atresia screening. *Pediatr Surg Int. Springer Verlag*; 2017;33(10):1115–21. DOI: 10.1007/s00383-017-4146-8
40. Angelico R, Liccardo D, Paoletti M, Pietrobattista A, Basso MS, Mosca A, et al. A novel mobile phone application for infant stool color recognition: An easy and effective tool

- to identify acholic stools in newborns. *J Med Screen*. SAGE Publications Ltd; 2020;0(0):1–8. DOI: 10.1177/0969141320974413
41. Harpavat S, Finegold MJ, Karpen SJ. Patients With Biliary Atresia Have Elevated Direct/Conjugated Bilirubin Levels Shortly After Birth. *Pediatrics*. 2011;128(6):1428–33. DOI: 10.1542/peds.2011-1869
 42. Harpavat S, Ramraj R, Finegold MJ, Brandt ML, Hertel PM, Fallon SC, et al. Newborn direct or conjugated bilirubin measurements as a potential screen for biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016;62(6):799–803. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001097
 43. Harpavat S, Garcia-Prats JA, Shneider BL. Newborn Bilirubin Screening for Biliary Atresia. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(6):605–6. DOI: 10.1056/NEJMc1601230
 44. Harpavat S, Garcia-Prats JA, Anaya C, Brandt ML, Lupo PJ, Finegold MJ, et al. Diagnostic Yield of Newborn Screening for Biliary Atresia Using Direct or Conjugated Bilirubin Measurements. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2020;323(12):1141–50. DOI: 10.1001/jama.2020.0837
 45. Jiang J, Wang J, Shen Z, Lu X, Chen G, Huang Y, et al. Serum MMP-7 in the diagnosis of biliary atresia. *Pediatrics*. American Academy of Pediatrics; 2019;144(5):e20190902. DOI: 10.1542/peds.2019-0902
 46. Rohani P, Mirrahimi SB, Bashirrad H, Rahmani P, Kamran N, Alimadadi H, et al. Serum matrix metalloproteinase-7 levels in infants with cholestasis and biliary atresia. *BMC Pediatr*. BioMed Central Ltd; 2022;22(1):351. DOI: 10.1186/s12887-022-03409-9
 47. Ohyama K, Fujikawa A, Okamura T, Furuta S, Nagae H, Tanaka K, et al. The triangular cord ratio and the presence of a cystic lesion in the triangular cord. Suggested new ultrasound findings in the early diagnosis of Biliary Atresia. *Pediatr Surg Int*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021;37(12):1693–7. DOI: 10.1007/s00383-021-04997-w
 48. Zhang K, Tang Y, Liu R, Zheng Z, Tang C, Liu Y, et al. Intraoperative hepatic subcapsular spider-like telangiectasia sign for the definitive diagnosis of biliary atresia. *BMC Pediatr*. BioMed Central Ltd; 2023;23(1):63. DOI: 10.1186/s12887-022-03831-z

49. El-Guindi MAS, Sira MM, Konsowa HAS, El-Abd OL, Salem TAH. Value of hepatic subcapsular flow by color Doppler ultrasonography in the diagnosis of biliary atresia. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. Blackwell Publishing; 2013;28(5):867–72. DOI: 10.1111/jgh.12151
50. Sun C, Wu B, Pan J, Chen L, Zhi W, Tang R, et al. Hepatic Subcapsular Flow as a Significant Diagnostic Marker for Biliary Atresia: A Meta-Analysis. *Dis Markers*. Hindawi Limited; 2020;2020:1–9. DOI: 10.1155/2020/5262565
51. Hwang SM, Jeon TY, Yoo SY, Choe YH, Lee SK, Kim JH. Early US findings of biliary atresia in infants younger than 30 days. *Eur Radiol*. Springer Verlag; 2018;28(4):1771–7. DOI: 10.1007/s00330-017-5092-5
52. Koob M, Pariente D, Habes D, Ducot B, Adamsbaum C, Franchi-Abella S. The porta hepatitis microcyst: an additional sonographic sign for the diagnosis of biliary atresia. *Eur Radiol*. Springer Verlag; 2017;27(5):1812–21. DOI: 10.1007/s00330-016-4546-5
53. Yu P, Dong N, Pan YK, Li L. Ultrasonography is useful in differentiating between cystic biliary atresia and choledochal cyst. *Pediatr Surg Int*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021;37(6):731–6. DOI: 10.1007/s00383-021-04886-2
54. Chen YT, Gao MJ, Zheng ZB, Huang L, Du Q, Zhu DW, et al. Comparative analysis of cystic biliary atresia and choledochal cysts. *Front Pediatr*. Frontiers Media S.A.; 2022;10:947876. DOI: 10.3389/fped.2022.947876
55. Yu P, Dong N, Pan YK, Li L. Comparison between cystic biliary atresia and choledochal cyst: a clinical controlled study. *Pediatr Surg Int*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022;38(1):109–14. DOI: 10.1007/s00383-021-05004-y
56. Han S, Jeon TY, Hwang SM, Yoo S-Y, Choe YH, Lee S-K, et al. Imaging findings of Alagille syndrome in young infants: differentiation from biliary atresia. *Br J Radiol*. 2017;90(1077):20170406.
57. Dike PN, Mahmood N, Harpavat S. Recent advances in the use of ultrasound and related techniques in diagnosing and predicting outcomes in biliary atresia. *Curr Opin Pediatr*. Lippincott Williams and Wilkins; 2021;33(5):515–20. DOI: 10.1097/MOP.0000000000001048

58. 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. *Journal of Pediatrics*. Mosby Inc.; 2019;212:60–5. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.05.048
59. Sandberg JK, Sun Y, Ju Z, Liu S, Jiang J, Koci M, et al. Ultrasound shear wave elastography: does it add value to gray-scale ultrasound imaging in differentiating biliary atresia from other causes of neonatal jaundice? *Pediatr Radiol*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021;51(9):1654–66. DOI: 10.1007/s00247-021-05024-9
60. Zhou L yao, Jiang H, Shan Q yuan, Chen D, Lin X na, Liu B xian, et al. Liver stiffness measurements with supersonic shear wave elastography in the diagnosis of biliary atresia: a comparative study with grey-scale US. *Eur Radiol*. Springer Verlag; 2017;27(8):3474–84. DOI: 10.1007/s00330-016-4710-y
61. Wu J-F, Lee C-S, Lin W-H, Jeng Y-M, Chen H-L, Ni Y-H, et al. Transient Elastography Is Useful in Diagnosing Biliary Atresia and Predicting Prognosis After Hepatportoenterostomy. *Hepatology*. 2018;68(2):616–24. DOI: 10.1002/hep.29856
62. Wagner ES, Azzam R, Abdelgawad HAH, Landry M, Asfour B, Slidell MB. Use of shear wave elastography for the diagnosis and follow-up of biliary atresia: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*. Baishideng Publishing Group Inc; 2022;28(32):4726–40. DOI: 10.3748/wjg.v28.i32.4726
63. Napolitano M, Franchi-Abella S, Damasio BM, Augdal TA, Avni FE, Bruno C, et al. Practical approach for the diagnosis of biliary atresia on imaging, part 2: magnetic resonance cholecystopancreatography, hepatobiliary scintigraphy, percutaneous cholecysto-cholangiography, endoscopic retrograde cholangiopancreatography, percutaneous liver biopsy, risk scores and decisional flowchart. *Pediatr Radiol*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021;51(8):1545–54. DOI: 10.1007/s00247-021-05034-7
64. Chan WK, Chung PHY, Wong KKY. The Value of Hepatic Scintigraphy in the Diagnosis of Biliary Atresia. *Front Pediatr*. Frontiers Media S.A.; 2022;10. DOI: 10.3389/fped.2022.874809
65. Koot BGP, Kelly DA, Hadzic N, Gonzales E, Hierro L, Davenport M, et al. Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography in Infants: Availability Under Threat: A Survey on Availability, Need, and Clinical Practice in Europe and Israel. *J Pediatr*

- Gastroenterol Nutr. Lippincott Williams and Wilkins; 2020;71(2):E54–8. DOI: 10.1097/MPG.0000000000002752
66. Goetz M, Andersen P, Bergman J, Frei N, Schmidt A, Kähler G, et al. ERCP in babies: Low risk of post-ERCP pancreatitis – results from a multicentre survey. *United European Gastroenterol J.* SAGE Publications Ltd; 2020;8(1):77–80. DOI: 10.1177/2050640619874187
 67. Keil R, Drábek J, Lochmannová J, Štovíček J, Koptová P, Wasserbauer M, et al. ERCP in infants, children, and adolescents—Different roles of the methods in different age groups. *PLoS One. Public Library of Science*; 2019;14(1):e0210805. DOI: 10.1371/journal.pone.0210805
 68. Negm AA, Petersen C, Markowski A, Luettig B, Ringe KI, Lankisch TO, et al. The Role of Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography in the Diagnosis of Biliary Atresia: 14 Years' Experience. *European Journal of Pediatric Surgery.* Georg Thieme Verlag; 2018;28(3):261–7. DOI: 10.1055/s-0037-1602260
 69. Stovicek J, Hlava S, Keil R, Drabek J, Lochmannova J, Koptová P, et al. Conjugated Hyperbilirubinemia in Infants: Is There Still a Role for ERCP? *Can J Gastroenterol Hepatol.* Hindawi Limited; 2021;2021:9969825. DOI: 10.1155/2021/9969825
 70. Siles P, Aschero A, Gorincour G, Bourliere-Najean B, Roquelaure B, Delarue A, et al. A prospective pilot study: Can the biliary tree be visualized in children younger than 3 months on Magnetic Resonance Cholangiopancreatography? *Pediatr Radiol.* Springer Verlag; 2014;44(9):1077–84. DOI: 10.1007/s00247-014-2953-9
 71. Sung S, Jeon TY, Yoo SY, Hwang SM, Choi YH, Kim WS, et al. Incremental Value of MR cholangiopancreatography in diagnosis of biliary atresia. *PLoS One. Public Library of Science*; 2016;11(6):e0158132. DOI: 10.1371/journal.pone.0158132
 72. Kim YH, Kim MJ, Shin HJ, Yoon H, Han SJ, Koh H, et al. MRI-based decision tree model for diagnosis of biliary atresia. *Eur Radiol.* Springer Verlag; 2018;28(8):3422–31. DOI: 10.1007/s00330-018-5327-0
 73. Zhou L, Xie J, Gao P, Chen H, Chen S, Wang G, et al. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocholangiography with microbubbles combined with liver biopsy for the assessment of suspected biliary atresia. *Pediatr Radiol.* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022;52(6):1075–85. DOI: 10.1007/s00247-022-05280-3

74. Russo P, 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: A multicenter study. *American Journal of Surgical Pathology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016;40(12):1601–15. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000755
75. Feldman AG, Sokol RJ. Recent developments in diagnostics and treatment of neonatal cholestasis. *Semin Pediatr Surg*. W.B. Saunders; 2020;29(4):150945. DOI: 10.1016/j.sempedsurg.2020.150945
76. Lee JYJ, Sullivan K, El Demellawy D, Nasr A. The value of preoperative liver biopsy in the diagnosis of extrahepatic biliary atresia: A systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Surg*. W.B. Saunders; 2016;51(5):753–61. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.02.016
77. Okazaki T, Ochi T, Nakamura H, Tsukui T, Koga H, Urao M, et al. Needle liver biopsy has potential for delaying Kasai portoenterostomy and is obsolete for diagnosing biliary atresia in the laparoscopic era. *J Pediatr Surg*. W.B. Saunders; 2019;54(12):2570–3. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2019.08.028
78. Alkan M, Tutus K, Fakioglu E, Ozden O, Hatipoglu Z, Iskit SH, et al. Laparoscopy-Assisted Percutaneous Cholangiography in Biliary Atresia Diagnosis: Comparison with Open Technique. *Gastroenterol Res Pract*. Hindawi Publishing Corporation; 2016;2016:5637072. DOI: 10.1155/2016/5637072
79. Kishore R, Kisku SMC, Thomas RJ, Jeenipalli SK. Laparoscopic cholangiogram in biliary atresia: a refinement in the gallbladder hitch technique. *Pediatr Surg Int*. Springer Verlag; 2018;34(4):395–8. DOI: 10.1007/s00383-018-4236-2
80. Zhou Y, Jiang M, Tang ST, Yang L, Zhang X, Yang DH, et al. Laparoscopic finding of a hepatic subcapsular spider-like telangiectasis sign in biliary atresia. *World J Gastroenterol*. Baishideng Publishing Group Co; 2017;23(39):7119–28. DOI: 10.3748/wjg.v23.i39.7119
81. Li Y, Rong L, Tang J, Niu H, Jin Z, Zhou Y, et al. Re-evaluation of Laparoscopic Hepatic Subcapsular Spider-Like Telangiectasis Sign: A Highly Accurate Method to Diagnose Biliary Atresia in Infants. *Front Pediatr*. Frontiers Media S.A.; 2022;10:850449. DOI: 10.3389/fped.2022.850449