



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: OPCIONES TERAPÉUTICAS EN LA
ATRESIA BILIAR (I)**

Autor: Sonsoles Torres Souviron

Fecha: Julio 2019

Tutor: Blanca María Herrera Gonzalez

INDICE

1	RESUMEN.....	3
2	INTRODUCCIÓN	3
2.1	Hígado, bilis y conductos biliares.....	3
2.2	Colestasis neonatal	4
2.3	Atresia biliar	6
3	OBJETIVO.....	6
4	MÉTODO.....	7
5	DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	7
5.1	Etiología.....	7
5.1.1	Virus.....	8
5.1.2	Toxinas biliares	8
5.1.3	Susceptibilidad genética.....	9
5.1.4	Factores epigenéticos	10
5.2	Patogenia	11
5.2.1	Inflamación y autoinmunidad.....	11
5.2.2	Apoptosis.....	11
5.2.3	Fibrosis	12
5.3	Tratamiento.....	12
5.3.1	Tratamiento quirúrgico: Técnica de Kasai.....	12
5.3.2	Nuevas dianas terapéuticas.....	13
6	CONCLUSIONES	18
7	BIBLIOGRAFÍA.....	19

ABREVIATURAS

AB	Atresia biliar
ADD	Aducin
Ag-(1-7)	Angiotensina (1-7)
AgNps	Nanopartículas de plata
BASM	Síndrome de malformación esplénica
CD4+	Linfocito T CD4+
CD8+	Linfocito T CD8+
CDH1	Cadherina 1
CMV	Citomegalovirus
CYBB	Citicromo b-245 beta
DC	Célula dentrítica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNAMT	DNA metil transferasa
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
EMT	Transición epitelial-mesenquimal
GSTA-1	S-transferasa alfa 1
HPE	Hepatoportoenterosomía
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
INF-γ	Interferón γ
Ig G	Inmunoglobulina G
IL	Interleuquina
IL-17	Interleuquina 17
IVIG	Inmunoglobulinas
Kg	Kilogramo
miRNA	Micro RNA
NK	Células <i>Natural killer</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RRV	Rheus rotavirus
SRA	Sistema renina angiotensina
Th17	Linfocito T <i>helper</i> 17
TNFα	Factor de necrosis tumoral α
TNFβ	Factor de necrosis tumoral β
TNFR	Receptor de factor de necrosis tumoral
TGFβ	Factor de crecimiento transformante β
VCAM-1	Molécula de adhesión vascular 1

1 RESUMEN

La atresia biliar es una colangiopatía destructiva de los conductos biliares intrahepáticos y extrahepáticos que afecta a los niños recién nacidos, causando colestasis severa. Se caracteriza por una inflamación crónica, colestasis y fibrosis que progresa hasta cirrosis, hipertensión portal y causando finalmente fallo hepático.

La etiología de la enfermedad sigue siendo desconocida. Tradicionalmente se ha asociado a infecciones víricas o toxinas biliares, sin embargo, las últimas tendencias apuntan a una posible susceptibilidad genética o a una respuesta autoinmunitaria. Al igual que la etiología, la patogénesis aún está por dilucidar. Se sabe, que independientemente de la etiología, todas ellas convergen en una misma expresión fenotípica: la inflamación de las células que recubren los conductos biliares. En su evolución natural, los colangiocitos van destruyéndose dando lugar a una masa fibrótica que acaba por obstruir los conductos biliares, impidiendo el paso de la bilis por ellos, conduciendo a una cirrosis precoz y ocasionando el fallecimiento antes de los tres años de edad.

Actualmente el único tratamiento curativo es la técnica de Kasai, un procedimiento quirúrgico que tiene como objetivo reestablecer el flujo biliar y evitar el desarrollo de cirrosis biliar y fallo hepático secundario. Sin embargo, en la mayoría de los casos se trata de una solución provisional, ya que el 85% de los bebés que se someten requieren un trasplante hepático antes de los 20 años de edad. Además, el éxito de la intervención quirúrgica no solo depende de una correcta técnica quirúrgica sino también de la precocidad con la que se realiza ésta, siendo lo óptimo antes de los 45 días desde el nacimiento. Debido a que no siempre existe un diagnóstico tan temprano, en algunos casos ya es tarde para realizar la portoenterostomía y solo queda como única opción el trasplante hepático.

En base a la dificultad que presenta el tratamiento de esta enfermedad, las líneas de investigación actuales se están centrando en el estudio y entendimiento de la etiopatogenia de la atresia biliar, con la finalidad de encontrar nuevas dianas terapéuticas que ofrezcan nuevas opciones para su tratamiento. El objetivo del presente trabajo es hacer una revisión bibliográfica de lo que se conoce a día de hoy de la etiopatogenia y las nuevas opciones terapéuticas que se ofrecen para la atresia biliar.

Palabras clave: Atresia biliar, etiopatogenia, inflamación, nuevas dianas terapéuticas.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 Hígado, bilis y conductos biliares

El hígado es *“la glándula de mayor tamaño del organismo, es esencial para la vida por cuanto lleva a cabo una vasta gama de funciones bioquímicas y metabólicas, entre ellas, eliminar del cuerpo las sustancias que podrían ser nocivas si se acumulasen y excretar los metabolitos de fármaco y sustancias”*¹. *“Es el primer órgano donde llega la mayoría de los nutrientes que se absorben a través de la pared intestinal, asimismo, abastece la mayoría de las proteínas plasmáticas y sintetiza la bilis que optimiza la absorción de lípidos y también funciona como líquido excretor”*¹.

La bilis es un líquido amarillo constituido por ácidos biliares, pigmentos biliares y otras sustancias, sintetizado en el hepatocito por la degradación de glóbulos rojos, y almacenado en la vesícula biliar. La secreción biliar, tiene dos funciones principales dentro de la fisiología humana:

- En primer lugar, dado que el hígado es el principal centro de reciclado celular y de desintoxicación, el transporte de la bilis permite la evacuación de toxinas y de metabolitos celulares normales, drenándolas hacia el intestino y los riñones donde finalmente son eliminados².
- En segundo lugar, las sales biliares tienen un papel esencial en la ayuda a la absorción de ácidos grasos y vitaminas liposolubles (A, D, E y K)².

La bilis es secretada a los canalículos biliares, dispuestos entorno a cada hepatocito. Estos conductos se unen para formar pequeños canales biliares, llamados *conductos biliares intrahepáticos* derecho e izquierdo, los cuales se unirán dando lugar al *conducto hepático común*, encargado de transportar la bilis hasta la vesícula biliar, para su almacenamiento, o bien continuar hasta desembocar en el duodeno. El conducto que drena la vesícula biliar es el *conducto cístico*, en ella se acumula unos 30-60 mL de bilis como reservorio extrahepático. El conducto que va a desembocar en el duodeno es el *conducto colédoco*, que, en su porción distal, antes de unirse al duodeno, se fusiona con el conducto pancreático, ahora llamado *conducto hepatopancreático*, que finalmente es el que se inserta en el duodeno, controlado por el esfínter de Oddi o esfínter hepatopancreático^{1,2}.

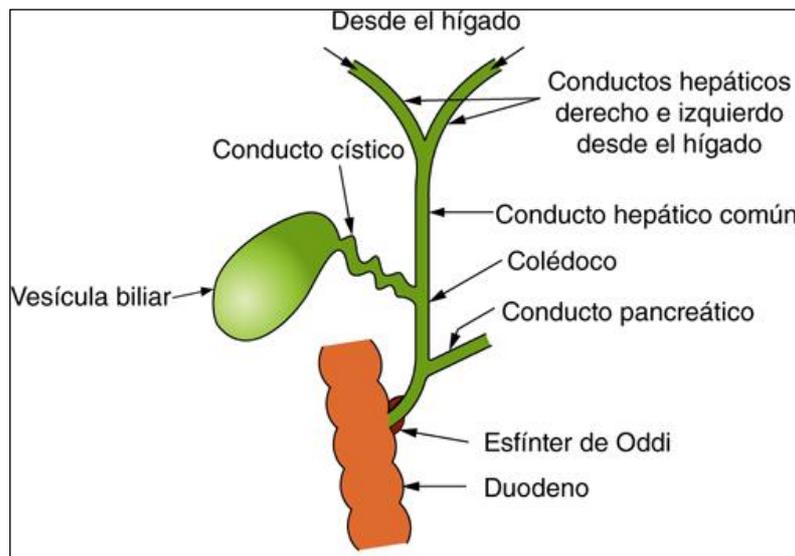


Figura 1.- Anatomía del árbol biliar³

2.2 Colestasis neonatal

El término colestasis hace referencia a una alteración del flujo biliar, de forma parcial o total, impidiendo la llegada de bilis al duodeno. Como consecuencia de ello, toda sustancia normalmente excretada por la bilis ahora queda retenida; con la consiguiente acumulación en tejidos y plasma. Los componentes de la bilis son los ácidos biliares, la bilirrubina, el colesterol, oligoelementos y otros componentes. El deterioro de metabolismo hepático puede alterar el equilibrio hormonal y el uso de nutrientes. Y la afectación progresiva del hígado puede terminar en una cirrosis, con hipertensión portal e insuficiencia hepática⁴.

Forma parte de la condición fisiológica, que los recién nacidos y lactantes sanos presenten una alteración del flujo biliar, debido a la inmadurez anatómica y funcional del hígado, que progresivamente irá madurando en la etapa postnatal. Esta inmadurez justifica que las

enfermedades hepáticas, que inciden en estas edades tan tempranas, desencadenen ictericia y acolia como principales manifestaciones clínicas y que otras patologías extrahepáticas de suficiente gravedad, como una cardiopatía, sepsis o un shock, puedan ir acompañadas de una colestasis en el recién nacido o lactante ⁴.

Desde un punto de vista bioquímico la colestasis neonatal se define como “la elevación prolongada de la concentración sérica de bilirrubina pasados los primeros 14 días de vida” ⁵. No obstante, la hiperbilirrubinemia, es muy común en los neonatos, aproximadamente el 60% de los niños nacidos a término y el 80% de los prematuros presentan ictericia la primera semana de vida (como expresión de una condición fisiológica y que en la mayoría de los casos es benigna) ⁶. Pero si pasadas las dos semanas, la ictericia no se ha resuelto, o sigue progresando, se debe proceder a determinar el nivel de bilirrubina directa o conjugada para descartar una colestasis ⁵.

La colestasis en el recién nacido puede corresponder a infecciones o, anomalías genéticas, metabólicas, o de carácter indefinido, que causan la obstrucción mecánica del flujo de la bilis⁵. En la mayoría de los casos debutan en el periodo neonatal o durante el primer año de vida, bien porque su causa tiene un trasfondo genético o por cierta “predisposición” del recién nacido a desarrollar una colestasis frente a ciertas causas que en otra etapa de la vida no la producirían⁴.

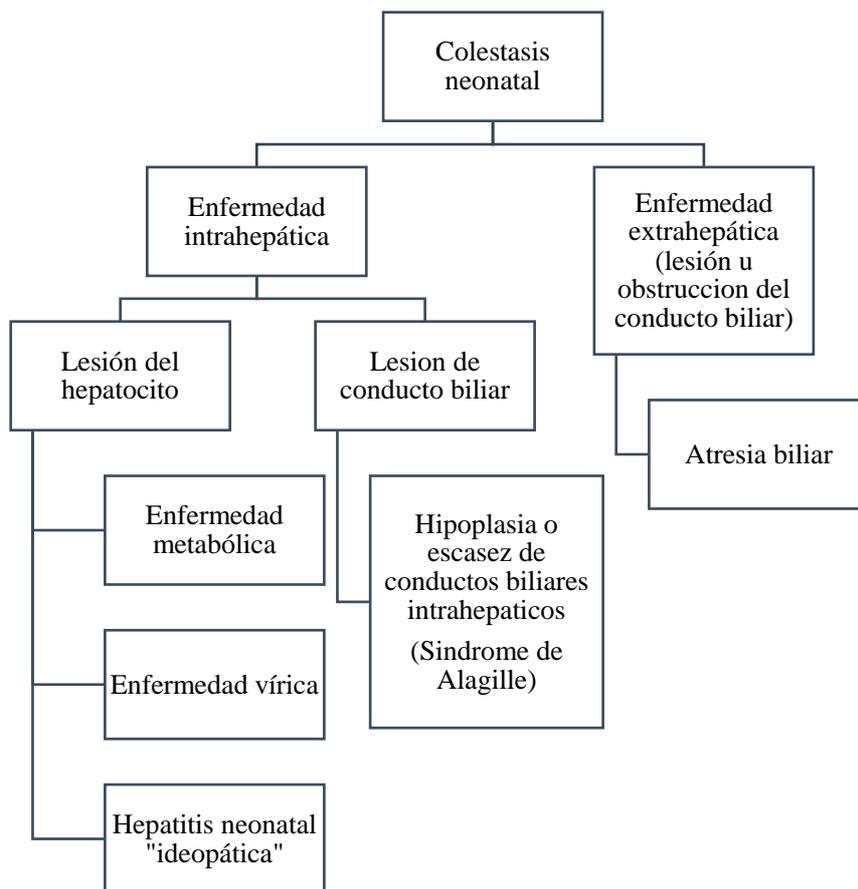


Figura 1.- Colestasis neonatal. Enfoque conceptual de las enfermedades que se presentan como colestasis en el recién nacido.²

2.3 Atresia biliar

La atresia de vías biliares es “una colangiopatía obstructiva neonatal, consecuencia de un proceso inflamatorio destructivo idiopático que afecta a los conductos intrahepáticos y extrahepáticos; esto conlleva a una fibrosis y obliteración del tracto biliar con obstrucción del flujo biliar y posterior desarrollo de cirrosis biliar secundaria”⁷.

Es una enfermedad hepática grave poco frecuente que se presenta en todas las regiones del mundo, y se estima que tiene una incidencia de 1 por cada 10.000-12.000 nacidos vivos en el ámbito mundial ⁷. Tiene una incidencia variable, siendo más común en los países asiáticos y afectando más al sexo femenino ^{5,8}. En Taiwán y Japón se estima que hay 1 afectado por cada 5-10.000 nacidos vivos, sin embargo, en Europa y Norteamérica la incidencia es menor, resultando 1 afectado de cada 15-20.000 nacidos vivos ⁹.

A pesar de ser una enfermedad poco frecuente, es la causa más habitual de colestasis crónica infantil, la segunda causa más común de ictericia obstructiva en los primeros meses de vida y la razón más habitual para un trasplante hepático infantil ^{4,7}.

Tabla 2.- Características de la atresia biliar.

Carácter	Idiopática No hereditaria	
Incidencia	Variable En ámbito mundial: 1/10- 12.000 nacidos vivos.	Mayor incidencia en países asiáticos Sexo femenino
Manifestación clínica	Desde muy temprana edad Órgano primario afectado: Hígado	- Ictericia a partir de las dos semanas de vida - Hipocolia* o acolia** - Coliuria*** - Hepatoesplenomegalia**** - Ascitis***** - Pícores - Hipertensión portal
Pronóstico	En su evolución natural conduce a cirrosis precoz y ocasiona el fallecimiento antes de los 3 años de vida.	El diagnóstico precoz seguido del tratamiento en las primeras semanas de vida mejora sustancialmente el pronóstico de la enfermedad.

***Hipocolia:** Decoloración de las heces a causa de una menor llegada de bilis al intestino.

****Acolia:** Ausencia o disminución del flujo de bilis al intestino. El síntoma es la pérdida de color de las heces, que se vuelven blanquecinas.

*****Coliuria:** Producción y excreción de una cantidad anormalmente alta de orina.

******Hepatoesplenomegalia:** Aumento del tamaño del hígado y del bazo.

*******Ascitis:** Acumulación anormal de líquido seroso en la cavidad abdominal. Si es abundante puede causar hinchazón del abdomen o edema.

3 OBJETIVO

El presente trabajo tiene como objetivo principal hacer una revisión, detallada y actualizada, sobre los nuevos avances en el conocimiento de la etiopatogenia de la atresia biliar, con la finalidad de conocer las nuevas dianas farmacológicas que brindan nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento de la atresia biliar.

4 MÉTODO

Para la realización del trabajo y cumplimiento de los objetivos propuestos, se han realizado diferentes búsquedas bibliográficas. Se han consultado libros de la Biblioteca de la Facultad de Farmacia y Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, así como distintas bases de datos.

La base de datos utilizada ha sido PubMed - NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), SciElo y Google. Para facilitar la búsqueda y obtener resultados concretos se emplearon palabras claves como “atresia biliar”, “bilary atresia” o “tratamiento atresia biliar”.

5 DISCUSIÓN Y RESULTADOS

5.1 Etiología

La etiología de la atresia biliar se desconoce⁷. La comunidad pediátrica sugiere que, por el hecho de no manifestarse en forma de brotes, no hay un solo agente etiológico desencadenante de la atresia biliar⁸, sino más bien, un gran grupo de múltiples causas pueden desencadenar su desarrollo⁹. Lo que, sí que resulta evidente, es que, independientemente de la causa, todas ellas provocan la inflamación de los conductos biliares, y, por consiguiente, la obstrucción de los conductos biliares. De este modo, se podría concluir, que la atresia biliar tiene una etiología multifactorial⁹, pero una misma expresión fenotípica.

En cuanto a su patogénesis, no esta clara, se describen dos formas¹⁰:

1. La forma fetal o embrionaria, la más grave de ellas, en la que se sugiere que es secundaria a un evento adverso durante la embriogénesis y se caracteriza por la aparición de colestasis desde el nacimiento.
 - Atresia biliar asociada a otras malformaciones previas: Representa el 15-30% de los casos de atresia biliar. Se deben a malformaciones congénitas. Como consecuencia de algo ocurrido durante el desarrollo embrionario, o como consecuencia de un defecto hereditario. Esta variedad, a su vez, puede subdividirse en grupos:
 - *Síndrome BASM*: incluye malformaciones esplénicas y asimetría visceral. *“Esta forma de atresia biliar predomina en el sexo femenino y, en algunos casos, se vincula con antecedentes maternos de diabetes y tirotoxicosis. Se considera que la malformación del conducto biliar se produce al mismo tiempo que las otras anomalías mencionadas, entre la 5ª y 6ª semana de embarazo. Esto ocurre antes de la formación del sistema ductal intrahepático que es entre la 7ª y 10ª semana de embarazo.”*⁸
 - Otros pacientes con atresia biliar presentan hallazgos de *otros síndromes*, como el síndrome del ojo de gato, que se caracteriza por la existencia de 3 o 4 copias de un fragmento del cromosoma 22.⁸
 - Atresia biliar quística: En alrededor, del 10% de los casos de atresia biliar se desarrolla por la formación de un quiste. Esta presentación tiene mejor pronóstico, ya que se puede diagnosticar durante el embarazo por medio de una ecografía a partir de la semana 18-20 de embarazo. Tras el nacimiento, se realiza una cirugía para extirpar el quiste y de esta manera se restablece el flujo que estaba impedido⁸.

2. La forma postnatal o perinatal, en la cual se postula una obliteración ductal adquirida, no acompañada de malformaciones. No está asociado a ningún otro tipo de malformación o anomalía, sino que se desarrolla en la etapa perinatal. El feto desarrolla un tracto biliar completo y la obliteración sería un fenómeno secundario que ocurriría después de su nacimiento, como consecuencia de la agresión por un daño perinatal (viral, toxicológico, genético o inmunológico) al epitelio biliar, que desencadena un proceso inflamatorio progresivo que irá obstruyendo los conductos biliares hasta provocar finalmente una lesión en el parénquima hepático (cirrosis).^{4,7} Aparentemente la atresia biliar no está vinculada con medicamentos que haya tomado la madre, enfermedades que haya tenido, ni con nada que haya hecho la madre durante el embarazo.

A caballo entre las dos formas se encuentra la hipótesis de algunos expertos, que creen que los bebés nacen con atresia biliar. Que la lesión inicial se produce antes del nacimiento, y su progreso después de este, lo que implica que los problemas con los conductos biliares se producen durante el embarazo, cuando el hígado se encuentra en desarrollo¹¹. Estudios recientes respaldan esta hipótesis. El mecanismo que se propone es que durante el embarazo agentes ambientales, como virus o toxinas colangiogénicas, dañan los conductos biliares extrahepáticos del feto, aumentando la susceptibilidad de estos a lesiones o secuelas fibróticas. Estas últimas pueden ser causadas mediante dos vías. Por un lado, la exposición a autoantígenos o nuevos antígenos, desencadenaría una respuesta inmunitaria. Por otro lado, la propia infección podría ser la causante de la desregulación del sistema inmunitario, desarrollando una reacción autoinmune contra los conductos biliares intrahepáticos y extrahepáticos^{5,12}.

5.1.1 Virus

Desde los años 90 se ha estudiado mucho como agente potencial, llegando a la conclusión de que ninguno específico está implicado. Se ha intentado asociar a virus hepatotropos como el citomegalovirus (CMV) o rotavirus⁷, que han sido los más estudiados debido a evidencias científicas, tales como, una temprana infección postnatal por rotavirus en ratones de laboratorio que desencadena atresia biliar, o, la identificación de DNA de citomegalovirus en el 60% de las biopsias de hígado en niños con atresia biliar en China¹³.

En experimentación con modelos murinos, se les inocula Rhesus rotavirus (RRV) para que desarrollen atresia biliar. Sin embargo, no se ha demostrado que rotavirus cause atresia biliar en humanos, y, además un estudio reciente demostró que la incidencia de atresia biliar no ha cambiado a pesar de la vacunación generalizada a los niños frente a rotavirus, que es obligatoria desde 2006 en Estados Unidos¹⁴. A su vez, se han descartado los virus de la hepatitis A, B y C, como agentes etiológicos, ya que nunca han sido causantes de atresia biliar, ni hay evidencias de ello¹³. No hay conclusiones confirmatorias de la asociación entre atresia biliar y CMV, las evidencias que hay son en base a que la infección congénita por CMV es la más frecuente en nuestro medio, así como una de las causas de morbilidad perinatal más conocidas y en base a las asociaciones existentes entre la atresia biliar y las infecciones virales¹⁵.

5.1.2 Toxinas biliares

Recientemente se ha aislado, de una planta australiana, una isoflavona no conocida anteriormente, a la que se le ha llamado bilitresona, y se le ha relacionado con ser causante de atresia biliar, después de varios brotes de atresia biliar en el ganado recién nacido de madres que habían pastado esas plantas mientras estaban preñadas¹⁶. Fue un veterinario y un científico veterinario quienes diagnosticaron la atresia biliar en corderos durante la sequía de 2007, y

correlacionaron los brotes con la ingestión de plantas del género *Dysphania*. Es una planta, que normalmente, crece bajo el agua, y que debido a la sequía quedaba al acceso del ganado, lo que sugería que podía ser la causa. Ante esta situación, se cultivó la planta y de ella se aisló una isoflavona no descrita anteriormente, la bilitresona.

La bilitresona es una toxina vegetal que causa atresia biliar en las larvas de pez cebra y ratones. Actúa de forma selectiva sobre los conductos extrahepáticos, lesionando los colangiocitos, por medio del agotamiento del glutatión¹⁶, pero es poco probable que cause atresia biliar en humanos, aun así, es útil como modelo para conocer el mecanismo de acción de las toxinas, ya que es posible que haya toxinas ambientales similares que conduzcan a la enfermedad humana¹⁶.

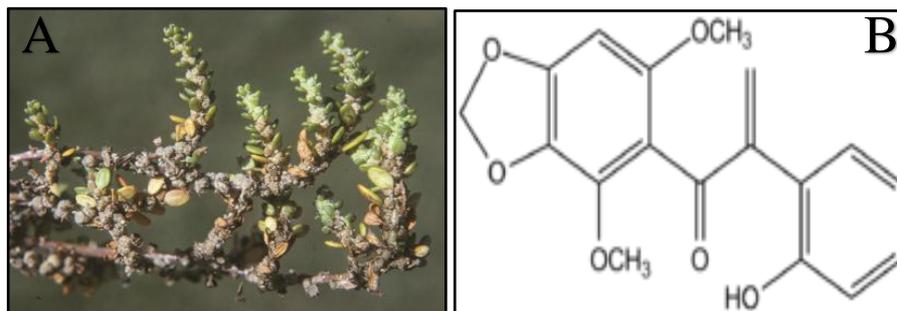


Figura 2.- A. *Dysphania littoralis* (coloquialmente conocida como “red crumbweed”, traducido al castellano como “desmenuzado rojo”) **B:** Molécula de la bilitresona.

5.1.3 Susceptibilidad genética

La atresia biliar no es una enfermedad hereditaria o que se asocie directamente a un gen. Sin embargo, se han descrito asociaciones con genes, como NOTCH o el gen que codifica para el citocromo b 245 β , que pueden aumentar la susceptibilidad a desarrollar atresia biliar, convirtiéndose estas modificaciones en factores riesgo.

La vía de señalización NOTCH desempeña un papel fundamental en los diferentes procesos celulares, como la proliferación, crecimiento, diferenciación y apoptosis¹⁷. Se ha detectado un aumento de la expresión del receptor NOTCH 3 en pacientes con atresia biliar. Los resultados de esa investigación sugieren que una señalización anormal de NOTCH puede predisponer a atresia biliar¹².

También se ha detectado un incremento de la expresión del gen que codifica para el citocromo b - 245 beta (CYBB) en atresia biliar. Observándose que, los pacientes con una mayor expresión del citocromo b-245, tuvieron un mayor riesgo de incidencia de atresia biliar, inflamación del hígado y cirrosis, correlacionándose positivamente la atresia biliar con el daño oxidativo¹⁸. Estudiando esta posible asociación se descubrió que la expresión de los genes antioxidantes estaba reducida en los colangiocitos, de tal manera, que el glutatión S - transferasa alfa 1 (GSTA1) se relaciona, negativamente, con la incidencia de atresia biliar y la cirrosis³². Siendo así, el GSTA1 podría ser un indicador de diagnóstico novedoso. En base a estos resultados, tomados en conjunto, la terapia de antioxidantes después de la cirugía de Kasai podría tener un gran potencial para aliviar la inflamación hepática y la fibrosis en pacientes con AB¹⁸.

A su vez, continúan habiendo numerosos estudios que relacionan la atresia biliar con un polimorfismo genético que predispone a esta entidad. Como, por ejemplo, el llevado a cabo por

Layva Vega et al.¹⁹ en el que se observó que la delección o supresión de la región 2q373 (o también llamada la monosomía de 2q373) estaba asociada con esta entidad; sugiriendo que los genes de esta región pueden conferir susceptibilidad para la atresia biliar. En esa región se encuentra el gen GPC1 que codifica para glypican 1²⁰, que es una proteína presente en las membranas celulares y tiene acciones de control de la división celular y crecimiento.

También se ha asociado mutaciones en el gen ADD-3 con un incremento en el riesgo de sufrir atresia biliar, estos genes codifican para la proteína aducina 3 que se encuentra en el citoesqueleto de la membrana y favorece la unión entre espectrina y la actina^{9,20}.

5.1.4 Factores epigenéticos

Estudios recientes indican que los factores epigenéticos, como la metilación del DNA o como los miRNA pueden estar involucrados en la patogenia de la atresia biliar²¹. La metilación del DNA en dinucleótidos CpG es uno de los mecanismos epigenéticos implicados en la regulación de la expresión génica en mamíferos. La maquinaria implicada comprende diferentes proteínas reguladoras como las DNA metiltransferasas, encargadas de introducir el grupo metilo (-CH₃), enzimas modificadoras de histonas o complejos remodeladores de la cromatina. La metilación del DNA es esencial para regular de manera adecuada la expresión de los genes y asegurar un desarrollo normal del ser humano, por lo que su alteración se relaciona con enfermedad. Los cambios en la expresión génica pueden deberse a problemas en la maquinaria implicada en la metilación, tales como mutaciones en los genes que codifican a las DNA metiltransferasas, o en aquellos que codifican para las proteínas de unión al DNA metilado, o por cambios en la secuencia de nucleótidos del DNA^{21,22}. La atresia biliar se ha asociado con una hipermetilación del promotor regulador de la expresión de CD11a en linfocitos T CD4+, disminuyendo su expresión. La expresión anormal de CD11a ayuda a la patogénesis de la atresia biliar. La CD11a es una proteína presente en los monocitos, macrófagos y linfocitos, que se une con CD18 para formar una molécula de adhesión leucocitaria. Estas moléculas de CD11a/CD18 participan de manera esencial en el proceso de migración y activación de muchos leucocitos, por permitir la unión de estos con el endotelio por medio de la interacción con la molécula de adhesión endotelial ICAM. Comienza así el proceso por el cual los leucocitos atraviesan la pared del endotelio y se incorporan al tejido dañado para combatir la infección.

Por otro lado, también se ha relacionado la atresia biliar con los micro-RNAs. Son pequeños fragmentos de RNA no codificantes que participan en múltiples funciones fisiológicas y en patología celular por la regulación de expresión de genes^{17,21}. El micro-RNA es complementario de una parte o más del RNA mensajero, de esta forma actúan como regulador de la expresión génica a nivel postranscripcional. Es de gran importancia su papel regulador sobre las DNA metiltransferasas (DNMT) que, a su vez - estas enzimas-, intervienen en la regulación de la expresión génica interviniendo en la metilación del DNA.²²

Se ha observado, que pacientes con atresia biliar, hay un descenso significativo de miRNA 29c en sangre frente a pacientes sanos. Se ha comprobado que la baja expresión de miRNA29c induce a fibrosis y está asociado a altos niveles de DNMT3²¹. El miRNA29c, tienen como diana, la regulación de la expresión de la DNMT3; pero a su vez, la expresión de miRNA29c está regulada por la DNMT3.

5.2 Patogenia

Aunque el proceso de patogénesis aún está por acabar de entender debido a la falta de consenso sobre la etiología, el proceso que parece ser el más claro, es el de la inflamación de los colangiocitos, seguida de su por apoptosis y finalmente el desarrollo de fibrosis a lo largo del árbol biliar, creando una obstrucción que impide el paso de la bilis por ellos, desencadenando así la correspondiente sintomatología (ictericia, acolia, prurito, ascitis, hepatoesplenomegalia e hipertensión portal).

5.2.1 Inflamación y autoinmunidad

La IL-17 es una citoquina proinflamatoria, producida por un tipo de células T, denominadas Th17, en presencia de citoquinas como la IL-6 o el TFG- β (Factor de crecimiento Transformante beta). La IL-17 actúa sobre las células epiteliales, endoteliales, fibroblastos u otras células del sistema inmunitario, activándolas para que produzcan citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 o TNF α). De tal manera que desencadena una respuesta inflamatoria. Debido a esta importante función es clave su correcta regulación, ya que un aumento en la expresión podría provocar inflamaciones crónicas, lesiones en los tejidos y como consecuencia enfermedades autoinmunitarias²³. Recientemente se ha visto, en ratones infectados con rotavirus -con la finalidad de que desarrollen atresia biliar- que había un aumento de RNA mensajero que codificaba para IL-17 y, que el tratamiento con anticuerpos anti-IL-17 reducía el daño. En niños con atresia biliar también se observó este incremento de IL-17 comparado con niños que no tenían esta colangiopatía¹³.

Hay evidencias indirectas de que la autoinmunidad juega un papel en la atresia biliar. De hecho, cada vez, la investigación se está enfocando más en ello. En un estudio *in vivo*¹³, se inocularon paralelamente linfocitos T y B de ratones con atresia biliar a otros que no tenían. El resultado fue que los ratones que en un principio estaban sanos, acabaron desarrollando atresia biliar. La idea de que la atresia biliar tenga un origen autoinmunitario viene abalada por la ineficacia del tratamiento con antiinflamatorios, incluyendo los esteroides e inmunoglobulinas, después de la cirugía de Kasai, que no consiguen revertir la progresión de la inflamación y la fibrosis. Por todo ellos la investigación se está centrando en esta posible etiopatogenia de la atresia biliar, que tiene cada vez mayor peso.

5.2.2 Apoptosis

La apoptosis de colangiocitos juega un papel fundamental en la patogénesis de varias colangiopatías como la atresia biliar. Puede ser activada mediante vía intrínseca o extrínseca. Esta última empieza fuera de la célula por la acción de mediadores pro-apoptóticos y receptores de la muerte. Los receptores de la muerte son miembros del receptor del factor necrótico tumoral (TNFR) e incluyen TNFR1, TNFR2, Fas, TRAIL-R2, etc. Uno de los ligandos que se unen es el TNF α , que ha sido estudiado en el marco de la atresia biliar por haberse encontrado asociaciones entre la incidencia de la atresia biliar y la expresión de los receptores TNFR^{23,24}.

TNF α es un mediador proinflamatorio con capacidad de inducir apoptosis. Provoca la muerte celular programada en las células que revisten el conducto biliar, en presencia de IFN- γ ²³. En pacientes afectados de atresia biliar se encontró un aumento de los receptores TNFR1 y TNFR2 en las células mencionadas con anterioridad cuando se realizó el diagnóstico. Para confirmar la posible asociación, en un estudio se induce atresia biliar, por la inoculación de Rhesus rotavirus (RRV), en ratones recién nacidos, y se ve que hay un incremento de receptores TNFR frente al control quedando confirmada la hipótesis de que existe una relación entre TNF alfa, apoptosis y muerte celular. El mecanismo de lesión parece ser el siguiente: la activación

de células NK provocan la liberación de $\text{TNF}\alpha$, que en presencia de $\text{IFN-}\gamma$ provocan la muerte celular de los colangiocitos²³. Las nuevas terapias se basan en la inhibición de la apoptosis de los colangiocitos para mantener la masa celular, que parece perdida en la colangiopatía.

5.2.3 Fibrosis

La fibrosis es el desarrollo de tejido conectivo en exceso. Los miRNAs se han relacionado con procesos fibróticos. En el estudio realizado por Wang *et al*²¹, se estudió la involucración del miRNA29c en el desarrollo de fibrosis en la atresia biliar. Para investigar el papel que jugaba el miRNA29c, se trataron los colangiocitos intrahepáticos con un factor de crecimiento transformante, $\text{TGF-}\beta 1$, para inducir en ellos un proceso de transición epitelial-mesenquimal (EMT) y así crear un modelo *in vitro* de células con atresia biliar. En ellas se observaron que el miRNA29c estaba significativamente disminuido, y que también lo estaba la cadherina-E.

La cadherina-E es un tipo de molécula de adhesión encargada de la unión intercelular entre cadherinas de células adyacentes. Desempeña un papel fundamental en la diferenciación celular y el mantenimiento de la estructura epitelial. Esta codificada por el gen CDH1 y regulada por múltiples vías de señalización celular. Cuando la expresión de miRNA29c esta disminuida, aumenta la expresión de la DNMT3, que actúa hipermetilando la región del promotor CDH1 impidiendo, de este modo, su expresión; lo que conlleva a una disminución de cadherina-E. La disminución de la expresión de la cadherina-E provoca la pérdida de la adhesión celular y se relaciona con las primeras etapas del tránsito epitelio-mesenquimal (EMT) y más tarde con la fibrosis. El proceso de transición epitelial-mesenquimal (EMT) es un periodo que se caracteriza por un cambio en el fenotipo celular: las células epiteliales se transforman en células mesenquimales, y de estas últimas derivan células como los fibroblastos (células del tejido conectivo).^{21,25}

5.3 Tratamiento

5.3.1 Tratamiento quirúrgico: Técnica de Kasai

En 1957, Kasai y Susuki, describieron la hepático portoentero anastomosis como operación en el tratamiento de la atresia biliar. La técnica de Kasai es un procedimiento quirúrgico realizado en niños con atresia biliar, que consiste en conectar, de forma directa, el hígado con el yeyuno, con la finalidad de restablecer el flujo biliar y evitar el desarrollo de cirrosis biliar y fallo hepático secundario⁸. Este procedimiento cambió el rumbo de la historia natural de esta patología, que hasta ese momento no contaba con ningún tratamiento, de tal manera que los niños fallecían antes de cumplir los dos años²⁶. Actualmente sigue siendo el tratamiento de elección en los niños diagnosticados con esta colangiopatía biliar.

La eficacia de esta corrección quirúrgica está directamente relacionada con la precocidad de esta, de modo que los mejores resultados se obtienen si se realiza antes de los 2 meses de vida, siendo lo óptimo antes de los 45 días⁸. El éxito de esta intervención depende asimismo de otros factores como: la realización de una técnica quirúrgica correcta, la presencia de una mínima fibrosis y la intensidad de la lesión hepática en el momento de la cirugía y por último de la prevención de episodios de colangitis⁸. Sin embargo, la técnica de Kasai sigue teniendo un mínimo éxito en la curación completa de la atresia biliar y una modesta prolongación hasta el trasplante hepático²⁷.

Si el diagnóstico es tardío y la insuficiencia hepática es avanzada, el trasplante hepático pasa a ser la primera opción terapéutica. Pese a la mejoría en el trasplante, la actitud generalizada es la realización de la técnica de Kasai como primera opción terapéutica, fundamentalmente por dos motivos: en primera lugar porque los resultados de los trasplantes mejoran con la edad y el segundo motivo es porque en niños que pesan menos de 10 Kg, el pronóstico es peor y el tratamiento con inmunosupresores a tan temprana edad tiene más efectos nocivos sobre ellos⁸.

La atresia biliar es la causa más frecuente de trasplante hepático pediátrico^{7,13}. Hasta el 60% de los pacientes pueden requerir un trasplante en los primeros 10 años de vida e, incluso, en los que la cirugía consigue restablecer el flujo biliar pueden precisar un trasplante en la segunda o tercera década o antes, si se tiene un fallo. Los resultados de este grupo de pacientes son excelentes. La manipulación quirúrgica previa no empeora su pronóstico¹³.

Tras la intervención quirúrgica puede ser útil la administración de corticoides durante unos días para disminuir la inflamación de la *porta hepatis* y facilitar el flujo biliar. Actualmente, el uso de corticosteroides es controvertido, debido a que no han demostrado una eficacia significativa disminuyendo la inflamación pues desde siempre se ha postulado que por su efecto antiinflamatorio producía un mejor drenaje biliar, pero últimamente se ha descubierto que no aumenta la supervivencia. Para mejorar el flujo biliar administra ácido ursodesoxicólico y resinas captadoras de ácidos biliares por su efecto colerético. También se propone la administración de antibióticos como profilaxis de episodios de colangitis. Se eligen antibióticos con eliminación preferentemente por vía biliar, como amoxicilina/ácido clavulánico, siendo igualmente una buena opción la combinación de un aminoglucósido con alguna cefalosporina de tercera generación. Aunque la colangitis suele ser causada por bacterias Gram negativas, sería conveniente internar identificar el agente causal. Si no se consigue el restablecimiento del flujo biliar mediante la corrección quirúrgica, el tratamiento médico paliativo deberá afrontar los siguientes problemas: evitar el desarrollo de un estado de malnutrición y tratar las complicaciones asociadas, como la hiperlipemia, el prurito, la hipertensión portal y las complicaciones secundarias a la cirugía, especialmente la colangitis⁷.

5.3.2 Nuevas dianas terapéuticas

En base a la dificultad que presenta el tratamiento de la atresia biliar debido a su bajo éxito en la curación completa de la atresia biliar después de la técnica de Kasai y a la elevada necesidad de trasplante hepático a edades muy tempranas nace la necesidad de investigar a cerca de nuevas dianas terapéuticas que ofrezcan una mejora en el abordaje y tratamiento de esta.

Ig G y esteroides

El uso de los corticoesteroides después de la realización de la técnica de Kasai es, hoy en día, un tema controvertido, pues desde siempre se ha postulado que por su efecto antiinflamatorio producía un mejor drenaje biliar, pero últimamente se ha descubierto que no aumenta la supervivencia. En un ensayo clínico realizado en Estados Unidos (ClinicalTrials.gov: NCT00294684) se determinó que el uso de corticosteroides después de la portoenterosomía no mejoraba el resultado clínico de los lactantes con atresia biliar. Los resultados mostraron que no había diferencias significativas en el drenaje biliar, los niveles séricos totales de bilirrubina, o la supervivencia del hígado nativo entre los dos grupos de estudio. Y, además, se vio, que en el grupo que habían usado corticosteroides desarrollaron eventos adversos graves, antes que el grupo control^{28,29}.

En la actualidad, el uso de inmunoglobulinas intravenosas (IVIG) se realiza en muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunes. En términos de la atresia biliar, se ha demostrado que altas dosis de Ig G disminuye significativamente la inflamación y la obstrucción³⁰. Las inmunoglobulinas son glicoproteínas plasmáticas sintetizadas por los linfocitos B maduros y las células plasmáticas, en respuesta a la estimulación por un antígeno. Actúan como defensa específica del organismo. Se ha demostrado que altas dosis de IgG reduce la producción de citoquinas proinflamatorias y también de los linfocitos CD4+ y CD8+ e incrementa el número de células T reguladoras de la inflamación, por lo que puede ser más efectivo en la atresia biliar que el uso de corticoesteroides²⁹.

También se ha observado que disminuye la concentración de moléculas de adhesión, lo cual reduce la migración de células inmunitarias a los conductos biliares. Actualmente, se está llevando a cabo un ensayo clínico (<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01854827>) para estudiar la eficacia y seguridad de la administración de IgG a los pacientes con atresia biliar después de la técnica de Kasai²⁹.

Nanopartículas de plata (AgNps)

En los últimos años, la plata ha ganado mucho interés debido a sus propiedades químicas (buena conductividad, estabilidad química y actividad catalítica) y antimicrobianas, además, se está evaluando la utilización de nanopartículas de plata (AgNps) para el tratamiento de enfermedades que requieren una concentración mantenida de fármaco en sangre o un direccionamiento específico a células u órganos. Su actividad antiviral también ha sido confirmada frente algunos virus como el de la hepatitis B, influenza o VIH-1. Parece ser que interacciona con ellos inhibiendo su capacidad para unirse a la célula huésped. Otro mecanismo de acción que se propone es que las AgNps se unen al material genético vírico provocando la inhibición de la replicación vírica^{31,32}.

En base a ello, se ha estudió la posible aplicación de las AgNps en el tratamiento de la atresia biliar, llegando a la conclusión de que, no solo disminuyen la carga viral, sino que también, tienen un efecto antiinflamatorio. La investigación se hizo *in vivo* sobre ratones, a los cuales se les inoculó Rhus rotavirus (RRV) transcurridas las primeras 24 horas de vida, con la finalidad de que se fuera acumulando en las células del conducto biliar y desarrollara su inflamación y la consiguiente sintomatología. Al noveno día, cuando ya había ictericia y pérdida de peso se inoculaba las nanopartículas de plata a algunos de ellos observándose en el día 12 que las AgNps habían reducido la ictericia y el bajo peso, y, normalizado el metabolismo como se observa en la **Figura 3**³¹.

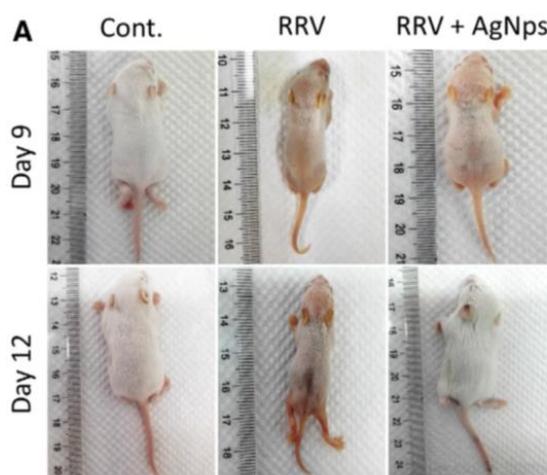


Figura 3.- Evolución de los resultados obtenidos tras el tratamiento con AgNps

Los resultados indican que las AgNps pueden incrementar significativamente la ratio de supervivencia en ratones con atresia biliar por la reducción de la carga vírica en el hígado e inhibir la producción de citoquinas inflamatorias, disminuyendo así la acumulación de células inflamatorias, como las NK y las células T, ejerciendo así un efecto antiinflamatorio³¹.

Anticuerpos anti TNF α

Los anticuerpos monoclonales son proteínas tridimensionales complejas, catalogadas como fármacos biológicos que bloquean la acción de las citoquinas (como TNF α) e interfieren en la migración de las células inmunitarias al foco inflamatorio inhibiendo las moléculas de adhesión.

Con el objetivo de disminuir la apoptosis de los colangiocitos y así el desarrollo de la atresia biliar se ha propuesto el TNF α como diana terapéutica. Los anticuerpos anti-TNF α bloquean e inhiben la unión de TNF α a sus receptores, es decir, bloquean la cascada de señalización intracelular que desencadenaría la unión TNF α /TNFR³³ que terminaría en la entrada del colangiocito en apoptosis. Actualmente no hay ningún anticuerpo anti-TNF α con indicación para atresia biliar, pero se han obtenido resultados muy esperanzadores en experimentación murina que demuestran una gran disminución de la infiltración de células T, DC y NK en el foco inflamatorio y la atenuación de la muerte del colangiocito²³, resultando en una menor lesión tisular que podrían justificar su uso en esta colangiopatía.

Anticuerpos monoclonales anti TNF α

Adalimumab (Humira®)
Etanercept (Enbrel®)
Golimumab (Simponi®)
Infliximab (Remicade®)

Angiotensina-(1-7)

Una excelente posible diana terapéutica es el sistema renina angiotensina, como terapia antifibrótica. Hay evidencias sólidas de que la angiotensina II participa como principal mediador en la fibrosis hepática, y se ha visto que los niveles de angiotensina II son elevados en pacientes con cirrosis hepática. La angiotensina II se une a dos tipos de receptores, AT1 y AT2, que son miembros de la familia de receptores transmembrana acoplados a proteína G. La Ang II puede actuar como agente proinflamatorio, capaz de modular la respuesta inmune y células inflamatorias. Asimismo, está relacionada con la liberación de mediadores proinflamatorios como moléculas de adhesión, quimiocinas y citoquinas³⁴.

Las células epiteliales poseen muchas maneras para interactuar unas con otras. Una de ellas es mediante moléculas de adhesión que permitan la migración de las células desde el torrente sanguíneo hasta el sitio de unión específico, además de jugar un papel importante en la inducción de respuesta inmunitaria en los linfocitos T. ICAM-1 permite que las células endoteliales se unan a monocitos, neutrófilos y células T, en tanto que VCAM-1 permite la unión entre el endotelio y los linfocitos o monocitos. Tanto el aumento de VCAM como ICAM están relacionadas con la atresia biliar. Se ha identificado una expresión anormal de moléculas de adhesión, de ICAM-1 y menos común de VCAM-1 en el hígado de siete niños con atresia biliar, sugiriendo que había una respuesta inflamatoria asociada⁹.

La angiotensina (1-7) es un heptapéptido del SRA que actualmente está cogiendo mucho protagonismo como posible diana terapéutica por su acción antagonista fisiológico de la Ang II, pudiendo contrarrestar alguna de sus acciones. En animales con atresia biliar se ha observado que la administración de Ang 1-7 disminuye la secreción de colágeno, regulado así la formación de tejido fibrótico^{34,35}.

Se investiga si la Ang-(1-7) por su poder antiinflamatorio probado en los vasos vasculares podría también ejercer la misma acción en los conductos biliares. Se sabe que la Ang II por el receptor AT2 estimula la producción de ICAM y VCAM, así como de E y P- selectina en células endoteliales y musculares lisas tanto *in vitro* como *in vivo*. Siguiendo esta hipótesis se trataron

tanto células murinas como humanas con Ang-(1-7) y se observaron en ambas una disminución de VCAM y ICAM. Además, se ha demostrado que la administración de Ang-(1-7) o su análogo sintético, AVE 0991, a través de los receptores Mas, disminuyen el rodamiento y adhesión de leucocitos al endotelio microvascular a los sitios de inflamación, que a su vez acompaña a una disminución de la expresión de IL-1 y TNF α ³⁴. En base a estos hallazgos se podría considerar su uso en la terapia de atresia biliar como agente que disminuya la inflamación de los conductos biliares.

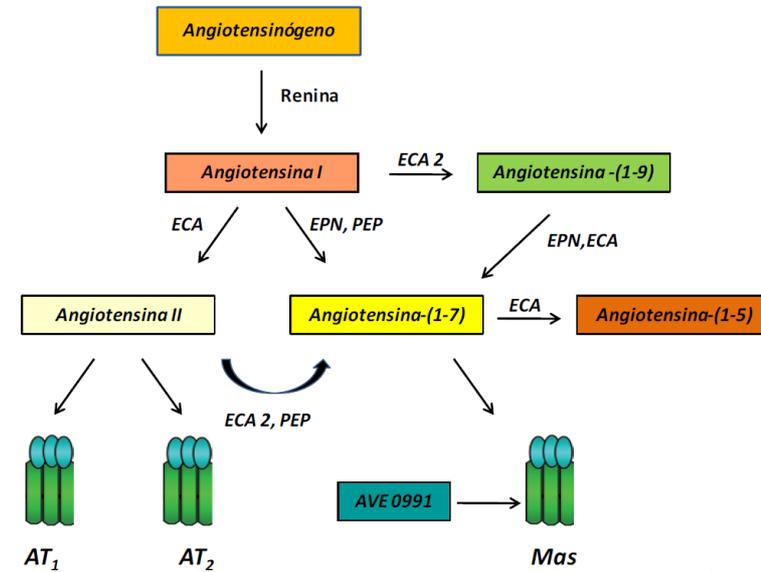


Figura 4.- Esquema del Sistema Renina Angiotensina³⁴

SGI-1027: Inhibidor de DNMT3

La metilación del DNA es un mecanismo epigenético que regula la expresión de genes mediante la acción de las DNA metiltransferasas. Como se ha visto con anterioridad, el incremento de la expresión de la DNMT3 desencadena en último término el desarrollo de fibrosis²¹. Con el objetivo de conseguir una acción antifibrótica se ha pensado en la inhibición de la DNMT3 como una potencial diana terapéutica. Recientemente, se ha estudiado -en colangiocitos intrahepáticos con atresia biliar- la molécula SGI-1027 como potencial inhibidor de la DNMT3²¹. SGI-1027 es una quinolina que actúa en el interior de la célula presumiblemente compitiendo con el cofactor S-adenosil metionina (SAM) por el sitio de unión al cofactor de la enzima. Sin el cofactor, la acción de la enzima no sería posible, quedando de esta manera inactivada. Inhibiendo la DNMT3 se regula la hipermetilación del promotor del gen CDH1 y alivia el efecto supresor sobre la expresión de miRNA29-c³⁶.

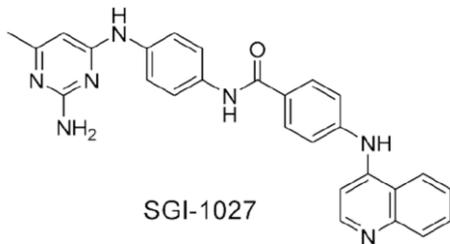


Figura 6.- Molécula de SGI-1027

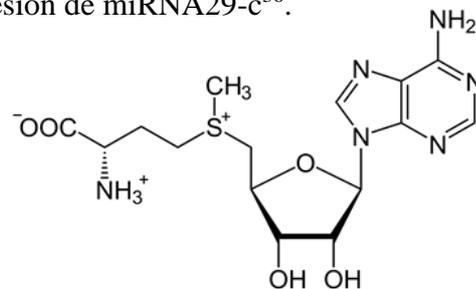


Figura 7.- Molécula de S-adenosil metionina (SAM)

A lo largo de la revisión bibliográfica se ha agrupado los resultados de las últimas investigaciones según en momento de la patogénesis que se aborda. La mayoría de estos hallazgos siguen siendo hipótesis por confirmar, pero ofrecen ideas sobre nuevas dianas terapéuticas, y por ellos nuevas opciones terapéuticas.

	Causa	Patogénesis	Tratamiento
INFLAMACIÓN	Th17, en presencia de IL-6 e TFG- β , libera IL-17.	La IL-17 actúa sobre las células epiteliales, endoteliales, fibroblastos u otras células del sistema inmunitario, activándolas para que produzcan citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 o TNF α). De tal manera que desencadena en una respuesta inflamatoria.	<ul style="list-style-type: none"> • Corticosteroides • Ig G • Nanopartículas de Plata
	Acción fibrótica de la angiotensina II	La Ang II se une a sus receptores y estimula la producción de ICAM y VCAM, también de la cadherina-N, y la liberación de citoquinas proinflamatorias.	<ul style="list-style-type: none"> • La Ang- (1-7) se considera un antagonista natural de la acción de la Ang II, observándose una disminución de la expresión de VCAM, ICAM y de IL-1 y TNFα. • AVE 0991: análogo sintético de Ang-(1-7).
APOPTOSIS	Inducción de apoptosis mediada por factores proapoptóticos, como TNF α .	Al unirse TNF α a su receptor se desencadena una vía de señalización intracelular que provoca la apoptosis del colangiocito.	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibidores de TNFα
FIBROSIS	Disminución de la expresión de miRNA29c por la acción de la DNMT3.	Hipermetilación del promotor del gen CDH1 que conlleva una disminución en la expresión de la cadherina-E.	<ul style="list-style-type: none"> • SGI-1027, inhibe la DNMT3. Alivia el efecto supresor sobre la expresión de miRNA29-c y conduce a la desmetilación del promotor CDH1, revirtiendo así el EMT y fibrosis.

Tabla 3.- Resumen de la patogénesis y su tratamiento.

6 CONCLUSIONES

1. La atresia biliar es una colangiopatía grave que afecta a bebés recién nacidos, que si no se trata evoluciona hasta provocar la muerte antes de los tres años.
2. Actualmente no se conoce con seguridad ni su etiología ni su patogenia, lo que dificulta mucho su tratamiento. Si un niño es diagnosticado de atresia biliar la primera opción terapéutica es realización de la Técnica de Kasai, no siempre es posible ni tampoco siempre consigue restablecer el flujo biliar, quedando como única y última opción el trasplante hepático.
3. Debido a la dificultad de su tratamiento la investigación se está centrando en el conocimiento de su etiología y de su patogenia para poder encontrar nuevas dianas terapéuticas que permitan un mejor abordaje de la enfermedad.
4. Se han propuesto muchas hipótesis y posibles dianas terapéuticas que aún están por confirmar. Aunque quede mucha investigación por delante para conseguir un buen tratamiento de la enfermedad, los resultados están siendo esperanzadores, y se espera un mayor avance en el conocimiento de esta enfermedad para las próximas décadas.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Ganong, W.F. “Fisiología médica”. 24ª Edición. McGraw-Hill Interamericana de España (2013).
2. Sabiston. “Cirugía general y aparato digestivo”. Capítulo 13: Sistema biliar. 19ª Edición. Elsevier España. (2014).
3. Hershel Raff, Michael Levitzky. “Fisiología médica: un enfoque por aparatos y sistemas”. 1ª Edición. McGraw-Hill Interamericana de España. (2013).
4. Esteban Frauca Remacha, Gema Muñoz Bartolo. Colestasis del lactante. Protocolo diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica SEGHNPAEP.
5. Nelson. “Tratado de pediatría”. Volumen II Capítulo 356: Colestasis 2019-2028. 20ª edición. Elsevier España (2016).
6. Mazzi Gonzales de Prada E. Hiperbilirrubinemia neonatal. Rev Soc Bol Ped 2005; 44 (1):26-35.
7. Donat Aliaga E, Polo Miquel B y Ribes-Koninchx C. Atresia de vías biliares. An Pediatr 2003; 58(2):168-73.
8. Ramonet M, Ciocca M y Álvarez F. Atresia biliar: una enfermedad grave. Arch Argent Pediatr 2014; 112 (6):542-547.
9. Lakshminarayanan B, Davenport, M. Biliary atresia: A comprehensive review. 2016.
10. López Panqueva RP, Jaramillo Barberi Lina E. Colestasis neonatal e infantil: Aproximación al diagnóstico histopatológico. Rev Col Gastroenterol. 2014 29(3):304-311. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572014000300015&lng=en.
11. <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=atresiabiliar-90-P05087>
12. Nakamura K, Tanoue A. Etiology of biliary atresia as a developmental anomaly: recent advances. Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery and Springer Japan 2013. 20:459–464.
13. Xu Y, Yu J, Zhang R, *et al.*: The perinatal infection of cytomegalovirus is an important etiology for biliary atresia in China. *Clin Pediatr (Phila)*. 2012; 51(2): 109–13. [PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
14. Danial E, Fleck-Derderian S, Rosenthal P: Has Rotavirus Vaccination Decreased the Prevalence of Biliary Atresia? *J Clin Gastroenterol*. 2018. [PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [F1000 Recommendation](#)
15. A. Gonzalez Prieto, H. Expósito de Mena, R. Torres Peral, P. González Ildelfonso, A. Mateos Diego. Hepatitis por citomegalovirus. Importancia del momento de contagio. Bol Pediatr; Vol. 53 N° 225, 164-157. 2013.
16. Lorent K, Gong W, Koo KA, *et al.*: Identification of a plant isoflavonoid that causes biliary atresia. *Sci Transl Med*. 2015; 7(286): 286ra67. [PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
17. Olaizola P, Lee-Law PY, Arbelaz A, Lapitz A, Perugorria MJ, Bujanda L, Banales JM. MicroRNAs and extracellular vesicles in cholangiopathies. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018 Apr;1864(4 Pt B):1293-1307. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.06.026. Epub 2017 Jul 13.
18. Wang J, Xu J, Xia M, Yang Y, Shen Z, Chen G, Dong R, Zheng S. Correlation between hepatic oxidative damage and clinical severity and mitochondrial gene sequencing results in biliary atresia. *Hepatol Res*. 2019 Feb 27. doi: 10.1111/hepr.13324
19. Leyva-Vega M, Gerfen J, Thiel BD, *et al.* Genomic alterations in biliary atresiasuggest region of potential disease susceptibility in 2q37.3. *Am J Med Genet Part A* 2010; 152a:886–895.

20. Jessica A. Zagory, Marie V. Nguyen, and Kasper S. Wang. Recent advances in the pathogenesis and management of biliary atresia. *Curr Opin Pediatr*. 2015, 27:389-394.
21. Wang et al. Suppressing microRNA-29c promotes biliary atresia-related fibrosis by targeting DNMT3A y DNMT3B. *Cellular & Molecular Biology Letters* (2019) 24:10 <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0134-9>
22. Mauricio Rodríguez, Nelly Téllez Ascencio, Marcos A. Cebrón, Marisol López y Alicia Cervantes. Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. *Rev Invest Clín* 2004; Vol. 56 (1):56-71.
23. Shivakumar P, Mizuochi T, Mourya R, Gutta S, Yang L, Luo Z, Bezerra J. Preferential TNF α signaling via TNFR2 regulates epithelial injury and duct obstruction in experimental biliary atresia. *JCI Insight*. 2017 Mar 9; 2(5): e88747.
24. Nakanuma Y, Harada K, Sato Y, Ikeda H. Recent progress in the etiopathogenesis of pediatric biliary disease, particularly Caroli's disease with congenital hepatic fibrosis and biliary atresia. *Histol Histopathol*. 2010 Feb;25(2):223-35.
25. Alkebsi L, Handa H, Yokohama A, Saitoh T, Tsukamoto N y Murakami H. Chromosome 16q genes *CDH1*, *CDH13* and *ADAMTS18* are correlated and frequently methylated in human lymphoma. *Oncology letters*. 2016. 12: 3523 – 3530.
26. Martínez M, Questa H., Gutierréz V. Operación de Kasai laparoscópica. Detalles técnicos y resultados iniciales de una técnica promisoriosa. *Cir pediatría* 2004; 17:36-39.
27. Gallo A, y Esquivel CO. Current options for management of biliary atresia. *Pediatric Transplantation* 2013 17:95-98.
28. Alonso EM , Ye W , Hawthorne K , Venkat V , Loomes KM , Mack CL , Hertel PM , Karpen SJ , Kerkar N ,Molleston JP , Murray KF , Romero R , Rosenthal P , Schwarz KB , Shneider BL , Suchy FJ ,Turmelle YP , Wang KS , Sherker AH , Sokol RJ , Bezerra JA , Magee JC ; ChiLDReN Network. Impact of Steroid Therapy on Early Growth in Infants with Biliary Atresia: The Multicenter Steroids in Biliary Atresia Randomized Trial. *J Pediatr*. 2018 Nov; 202:179-185.
29. Jessica A. Zagory, Marie V. Nguyen, and Kasper S. Wang. Recent advances in the pathogenesis and management of biliary atresia. *Curr Opin Pediatr*. 2015, 27:389-394.
30. Li D, Wang P, He Y, Jiao C, Zhuansun D, Wei N, Yang J, Feng J Intravenous immunoglobulin for the treatment of intractable cholangitis after Kasai portoenterostomy in biliary atresia patients. *Pediatr Surg Int*. 2018 Apr;34(4):399-404.
31. Zhang R, Lin Z, Lui VCH, Wong KKY, Tam PKH, Lee P, Lok CN, Lamb JR, Chen Y, Xia H Silver nanoparticle treatment ameliorates biliary atresia syndrome in rhesus rotavirus inoculated mice. *Nanomedicine*. 2017 Apr;13(3):1041-1050.
32. Ávalos, A, Haza AI, Mateo D y Morales P. Nanopartículas de plata: aplicaciones t riesgos tóxicos para la salud humana y medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2013 7 (2):1-23.
33. Shivakumar P, Mizuochi T, Mourya R, Gutta S, Yang L, Luo Z, Bezerra J Preferential TNF α signaling via TNFR2 regulates epithelial injury and duct obstruction in experimental biliary atresia. *JCI Insight*. 2017 Mar 9;2(5): e88747.
34. Villalobos Rodríguez LA. Impacto del eje angiotensina-(1-7)/receptor Mas en la inflamación y senescencia vasculares. [Tesis Doctoral] Universidad Autónoma de Madrid.
35. Rajapaksha IG, Angus PW, Herath CB Current therapies and novel approaches for biliary diseases. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2019 Jan 5;10(1):1-10.
36. Yoo J, Choi S, Medina-Franco JL (2013) Molecular Modeling Studies of the Novel Inhibitors of DNA Methyltransferases SGI-1027 and CBC12: Implications for the Mechanism of Inhibition of DNMTs. *PLoS ONE* 8(4): e62152.