

# Colestasis neonatal

## Consideraciones sobre la biopsia hepática

DRAS. CARMEN GUTIÉRREZ <sup>1</sup>, ÁNGELES RODRÍGUEZ <sup>2</sup>

Se define como colestasis a la reducción en el flujo o en la formación de bilis, con la consiguiente retención en sangre o en tejidos de las sustancias que normalmente son excretadas por esta vía. Se entiende por tales a la bilirrubina, el colesterol y los ácidos biliares. La histología es un elemento importante en el diagnóstico de las entidades responsables del trastorno.

En la evaluación del hígado del neonato, se debe recordar que el parénquima en esta edad tiene una respuesta morfológica limitada ante diferentes tipos de agravio y que una misma etiología puede tener diferentes patrones morfológicos. En algunos casos es posible constatar en la evolución temporal el cambio de un patrón a otro. Es importante que el diagnóstico definitivo surja de una correlación clínico patológica estrecha y que las partes implicadas estén informadas de la heterogeneidad morfológica. Se debe, además, conocer las características morfológicas normales del hígado en el período neonatal.

El diagnóstico anatomopatológico de una biopsia hepática pediátrica puede requerir en algunos casos de la congelación, la conservación de tejido para estudio de enfermedad metabólica o del examen ultraestructural. Pero siempre se deberá disponer para la microscopía óptica de una muestra que por lo menos tenga 6 espacios porta; de lo contrario se trata de una muestra no evaluable, ya que las conclusiones obtenidas con tales muestras pueden no ser válidas <sup>(1)</sup>.

Los cortes deberán ser coloreados con hematoxilina y eosina, PAS con y sin digestión, reticulina, tricrómico y en algunos casos coloración para hierro y cobre.

En la evaluación de una biopsia hepática en el lactante del primer trimestre con una presentación clínica de colestasis neonatal (CNN) se deberán investigar tres patrones morfológicos: la hepatitis neonatal, la obstrucción de la vía biliar extrahepática y la ductopenia. Se considera que son tres las causas más frecuentes de enfer-

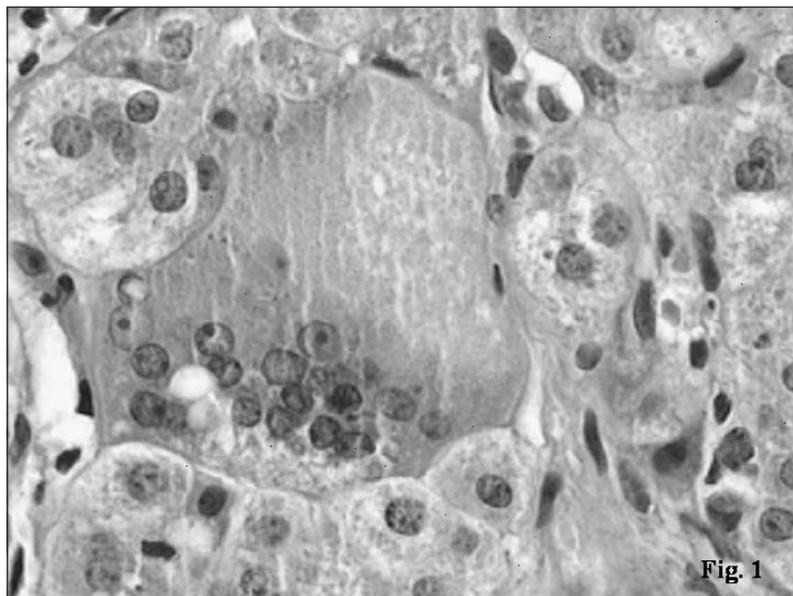
---

1. Prof. Agda. de Anatomía Patológica. Jefe del Laboratorio de Patología Pediátrica.

2. Médico Anatómo Patólogo. Laboratorio de Patología Pediátrica.

Centro Hospitalario Pereira Rossell .Bulevar Artigas 1550 Montevideo.

Correspondencia: Dra. Carmen Gutiérrez. E-mail: gutierrezmc@gmail.com

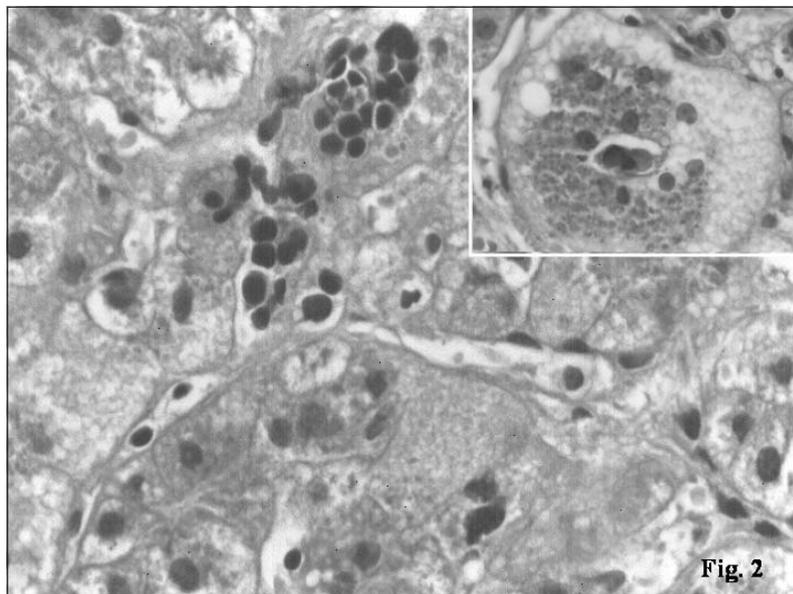


**FIGURA 1.** Foto histológica de hepatitis neonatal. Se observa célula gigante multinucleada.

medad hepática neonatal: la atresia de la vía biliar extrahepática (AVBEH), la hepatitis neonatal (HNN) idiopática y el déficit de alfa 1 antitripsina (déficit AAT); el grupo reunido da cuenta del 80% de las CNN.

En nuestro medio, entre los años 1983 y 2004, se realizó biopsia hepática en el curso del procedimiento diagnóstico por CNN a 186 pacientes cuyos estudios fueron realizados por nuestro grupo. La histología mostró imagen de obstrucción en 66 casos, en 95 casos de HNN y en 20 casos de ductopenia. Se realizó el diagnóstico de déficit de alfa uno antitripsina (AAT) en 16 pacientes con biopsia hepática por CNN. (A otros pacientes estudiados en los primeros años y no incluidos en esta cifra, se les realizó diagnóstico de AAT entre 1 y 10 años; eran hepatopatías crónicas con múltiples biopsias previas realizadas en otras instituciones y con histología de hepatitis crónica).

La **hepatitis neonatal** (figura 1) se caracteriza por severas alteraciones lobulillares caracterizadas por transformación gigantocelular de los hepatocitos, necrosis celular focal, agrandamiento celular con balonamiento citoplasmático, colestasis hepatocítica y canalicular así como focos de hematopoyesis extramedular. La colestasis ductular y ductal generalmente están ausentes y no hay (o es mínima) la proliferación de estas estructuras. La transformación gigantocelular de los hepatocitos no es exclusiva de la HNN, ya que se ve en una variedad de patologías



**FIGURA 2.** Foto histológica de Niemann Pick tipo C. Imagen histológica que muestra alteración lobulillar de hepatitis neonatal con células gigantes y focos de hematopoyesis. En recuadro: imagen de célula gigante con microvacuolas citoplasmáticas.

(2). Los espacios porta y los lobulillos en los casos de HNN tienen además infiltrado linfocitario.

La esteatosis en la HNN idiopática es rara, su presencia indica otra condición que implique montaje de patrón de hepatitis y esteatosis como es el caso de la enfermedad de Niemann Pick tipo C (figura 2), la intolerancia a la fructosa y la galactosemia <sup>(1)</sup>.

La HNN da cuenta de un elevado porcentaje de las colestasis neonatales. En su etiología se reconoce la causa “idiopática”, la infecciosa, la tóxica o autoinmune y, con menor frecuencia, las enfermedades metabólicas. Hasta 70% de las colestasis neonatales en diferentes series están constituidas por HNN idiopática. Cuando se dispone de un equipo multidisciplinario entrenado y una completa infraestructura de laboratorio, la forma “idiopática” es un porcentaje bajo ya que éste es un diagnóstico de exclusión. Con el tiempo, al reconocerse diferentes causas responsables de la misma morfología este grupo se reduce. Deberá descartarse la infección (viral: CMV, rubéola, reovirus 3; virus de hepatitis: A, B, C; ECHO virus; coxsackie; herpes virus; varicela; adenoviurs; parvovirus B19; HIV. Bacteriana: listeria, Treponema, hepatitis asociada a sepsis. Protozoario: toxoplasmosis). Otras causas conocidas son: la enfermedad autoinmune <sup>(3,4)</sup> que si bien en general es posterior a los 6 meses de vida, puede verse en el período neonatal; algunas enfermedades metabólicas, especial-

CAUSAS METABÓLICAS DE HEPATITIS NEONATAL <sup>(1,16,17)</sup>	
Déficit de $\alpha$ 1 antitripsina	Tirosinemia
Niemann-Pick tipo C	Galactosemia
Fibrosis quística (mucoviscidosis)	Fructosemia
Trastorno de la síntesis de ácidos biliares	Hemocromatosis neonatal
Algunos síndromes de colestasis familiar	Síndrome de Zellweger
Enfermedades mitocondriales	

mente déficit de alfa uno antitripsina y la enfermedad de Niemann-Pick tipo C que constituye una causa importante de HNN. Algunos trastornos de la síntesis de ácidos biliares tienen morfología de hepatitis gigantocelular así como la colestasis familiar progresiva tipo 2.

Son conocidas las formas de resolución espontánea de las CNN; se considera que puedan deberse a inmadurez de la secreción biliar y a enfermedad perinatal con agravio hipóxico-isquémico del hígado. El conocimiento de estas situaciones permite reducir el número de HNN idiopática <sup>(5-7)</sup>. Se considera que hasta un 8% de las CNN son por estas causas. Están descritas, además, las lesiones hepáticas neonatales en casos de vasculopatía trombotica fetal <sup>(8)</sup>. Se sabe que estas lesiones hepáticas pueden ser el resultado de daño intrauterino severo del feto <sup>(9)</sup>.

Algunas enfermedades cromosómicas cursan con HNN <sup>(1)</sup>. En algunos pacientes los aspectos fenotípicos orientan a la etiología del trastorno <sup>(10,11)</sup>.

La hepatitis gigantocelular postinfantil debe ser considerada como otra entidad; en general responde a otras etiologías <sup>(12-15)</sup>.

Frecuentemente las enfermedades metabólicas se manifiestan con un patrón morfológico de esteatosis, transformación acinar de los hepatocitos y pueden tener o no alteraciones histológicas de hepatitis. La colestasis no es una característica, aunque puede también haber colestasis <sup>(16-18)</sup>. Algunas entidades sólo tienen esteatosis y colestasis, sin células gigantes <sup>(19)</sup> y a veces acompañadas de inflamación. La acumulación no se limita a hepatocitos sino que también puede estar en células de Kupffer, macrófagos del espacio porta, así como en el epitelio de los conductos biliares. El glucógeno, los mucopolisacáridos y los lípidos se disuelven con el procesado habitual y se requieren otros procedimientos para demostrarlos.

La enfermedad de Niemann Pick tipo C es considerada por al-

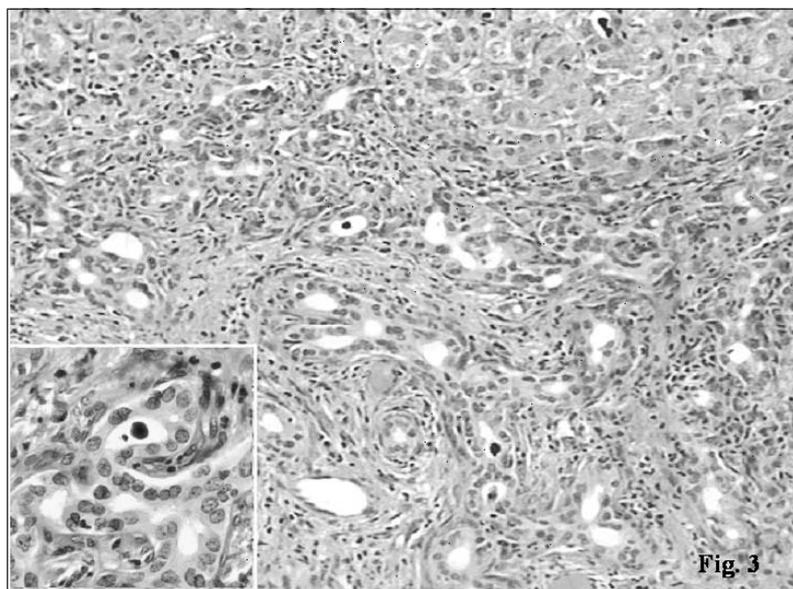
gunos autores como la segunda causa metabólica más frecuente de colestasis neonatal. Puede manifestarse histológicamente como una HNN<sup>(20,21)</sup> que en la evolución desarrolla fibrosis perisinusoidal. Frecuentemente es diagnosticada como HNN idiopática<sup>(22)</sup>. Los mismos autores consideran que esta enfermedad da cuenta del 23% de los casos catalogados como HNN idiopática y del 8% de las colestasis neonatales. Entre 45-60% de los casos de Niemann Pick tipo C se presentan como enfermedad neonatal y la histología puede simular una AVBEH o una HNN<sup>(23)</sup>. El diagnóstico requiere cultivo de fibroblastos.

Los trastornos de la síntesis de los ácidos biliares<sup>(24)</sup> constituyen 1-2% de las CNN. Dependiendo de la edad de manifestación y del trastorno subyacente pueden tener una histología que simula una hemocromatosis neonatal, una HNN, una AVBEH, una ductopenia, una colestasis progresiva esporádica o familiar o una cirrosis criptogenética. Es importante el diagnóstico porque muchos pueden ser tratados. La fibrosis rápidamente evolutiva es inusual en la HNN; cuando está presente y se ha excluido a la AVBEH se debe pensar en enfermedad metabólica<sup>(24)</sup>. En los trastornos de la síntesis de ácidos biliares la fibrosis es periportal, indicativa de daño de colangiolo. Se debe recordar la heterogeneidad morfológica y pensar en estos trastornos para investigarlos clínicamente.

**Obstrucción de la vía biliar extrahepática (AVBEH):** la AVBEH es una enfermedad progresiva caracterizada por proceso inflamatorio esclerosante de los conductos biliares extrahepáticos que resulta en obliteración de la luz y desarrollo de cirrosis. Esta entidad da cuenta del 30% de las colestasis neonatales, observándose en 1 de cada 10.000 nacimientos vivos<sup>(25,26)</sup>. Se reconocen dos tipos:

- 1) El embrionario o congénito con colestasis presente al nacer, que da cuenta del 15% de los casos, caracterizado por su asociación con otras anomalías extrahepáticas (poliesplenía, vena portal preduodenal, malrotación intestinal, situs inversus y cardiopatía congénita).
- 2) El clásico, postnatal o adquirido, en que la ictericia y acolia se manifiestan luego de las primeras dos semanas de vida y en el que no se constatan malformaciones asociadas. Es posible que en la base de la forma embrionaria estén implicados factores genéticos relacionados con la lateralidad, con el agregado de factores ambientales ya que la repetición de casos en la familia es inconstante<sup>(27)</sup>.

La biopsia hepática (figura 3) constituye el estándar de oro en el diagnóstico de la AVBEH, con un acierto diagnóstico del 93%. Se debe recordar que la proliferación ductal puede ser tardía en

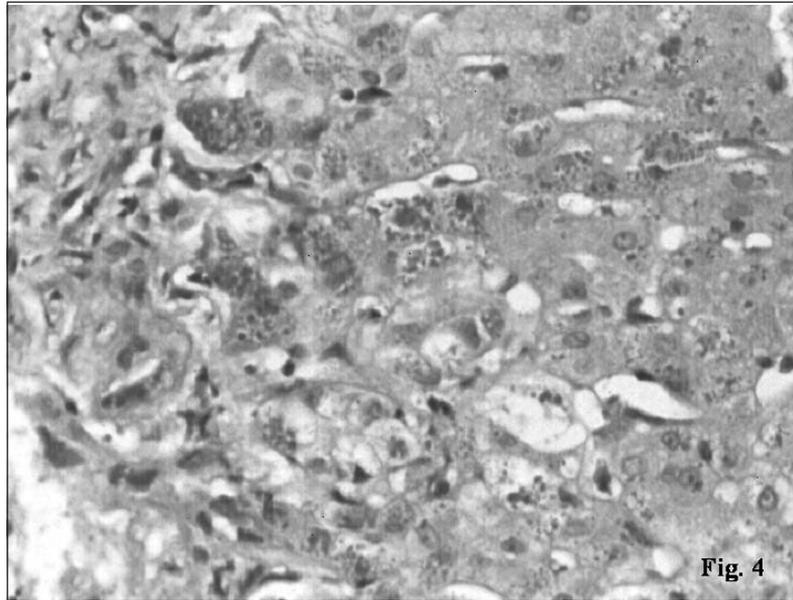


**FIGURA 3.** Foto histológica de atresia de la vía biliar extrahepática. Se observa tracto portal ancho con fibrosis periportal y conductos biliares proliferados con colestasis. En recuadro: imagen a mayor aumento de la colestasis ductular.

algunos pacientes, por esa razón se ha sugerido que en los casos de acolia e hiperbilirrubinemia conjugada se deben realizar biopsias seriadas para excluir AVBEH <sup>(28)</sup>. El hallazgo de conductos biliares normales o de ductopenia no excluye el diagnóstico de AVBEH <sup>(28)</sup>. En Uruguay, el diagnóstico fibrolaparoscópico pediátrico en esta patología, desarrollado por el Prof. Berzategui y su equipo, ha tenido una elevada correlación diagnóstica con el estudio histológico <sup>(29)</sup>.

La ecografía prenatal podría, en algunos casos, colaborar en el diagnóstico temprano de AVBEH, tanto de la forma embrionaria como de la clásica, al mostrar malformación biliar quística <sup>(30)</sup>.

La biopsia muestra un patrón de colestasis que es muy característico. Se observa proliferación de conductos biliares, colestasis ductular y a nivel del espacio porta hay fibrosis con expansión fibrosa periportal. En una biopsia hepática con esta morfología siempre deberá descartarse la obstrucción de la vía biliar extrahepática, especialmente la atresia (AVBEH). Pero es importante recordar que el quiste de colédoco puede dar similar alteración a nivel del parénquima hepático. Otras etiologías que pueden dar una morfología hepática similar a la AVBEH son: el déficit de 1 antitripsina (déficit AAT), la fibrosis quística (FQ), la colangitis esclerosante neonatal, la alimentación parenteral, algunas raras formas tempranas de síndrome de Alagille, algunos casos de trastornos de la síntesis de áci-

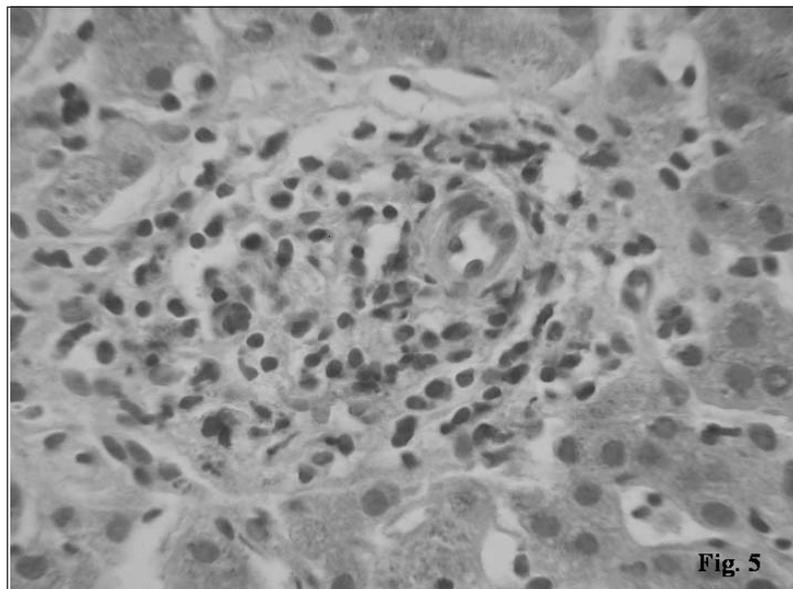


**FIGURA 4.** Foto histológica de un caso de déficit de alfa uno antitripsina. Se observan gránulos PAS positivos resistentes a la digestión con diastasa en el citoplasma de los hepatocitos del límite porto lobulillar.

dos biliares y raros casos de colestasis familiar. La colestasis neonatal en FQ se observa en 1/163 casos <sup>(31)</sup>. El déficit AAT puede ser diagnosticado fácilmente por el patólogo por la presencia de gránulos PAS + resistentes a la digestión con diastasa (figura 4), pero éstos solo están presentes luego del tercer mes de vida (lo que es muy tardío para el diagnóstico diferencial de AVBEH). El diagnóstico temprano de AVBEH es importante ya que la cirugía debe realizarse antes del segundo mes para que tenga posibilidades de ser exitosa. Datos recientes sugieren que las formas que se presentan más tempranamente (menos de 30 días) tienen peor pronóstico <sup>(26)</sup>. Las formas embrionarias son las más tempranas.

Al comienzo, antes de la cuarta semana de vida, es posible que la única alteración histológica encontrada sea la colestasis hepatocítica y canalicular. Alrededor de la cuarta semana, la proliferación de conductos biliares ya es prominente. Las alteraciones lobulillares son menos acentuadas aunque pueden verse elementos lobulillares de hepatitis con transformación gigantocelular en hasta un 15% de los casos.

Luego de la cirugía de derivación 40-60% de los pacientes tienen uno o más episodios de colangitis. Estos pacientes con historia de colangitis tienen más chances de desarrollar cirrosis <sup>(26)</sup>. A pesar de la cirugía de derivación un elevado número de pacientes con AVBEH requiere un trasplante hepático en su evolución



**FIGURA 5.** Foto histológica de ductopenia. Se observa espacio porta sin conductos biliares interlobulares. El índice CB/EP es inferior a 0,5.

(25,26,32). Series importantes muestran que una significativa proporción de pacientes no tienen hepatopatía crónica y sus complicaciones (33).

**Ductopenia:** la ductopenia (figura 5) es la reducción en el número de los conductos biliares intrahepáticos de tipo interlobular en presencia de un árbol biliar extrahepático permeable. Se reconoce una forma sindromática y otra no sindromática de la ductopenia. En la primera, conocida como síndrome de Alagille (34,35), el paciente tiene, además de la ductopenia, alteraciones extrahepáticas. La colestasis debida a ductopenia no sindromática constituye un grupo heterogéneo de lesiones. La etiología más frecuente dentro de este grupo es el déficit AAT; se ve además en la fibrosis quística, el síndrome de Zellweger, la enfermedad de Byler, la acidemia coprostánica y en la infección por CMV así como en forma “idiopática”. La AVBEH en su evolución va a la ductopenia por fibrosis progresiva del parénquima y colangitis, aunque en raros casos estas alteraciones pueden encontrarse en la primera biopsia (36).

Es importante distinguir los pacientes con ductopenia no sindromática de los que tienen síndrome de Alagille, ya que en estos últimos el pronóstico es diferente (37).

Los valores normales de conductos biliares interlobulares se calculan por el índice CB/EP que es de 0,9 a 1,8. Se define a la ductopenia cuando el índice es inferior a 0,5. Se requieren de 10 a 20 espa-

cios porta para calcular el índice, aunque la medición realizada en 5 espacios puede ser confiable si es realizada por una persona de experiencia <sup>(38)</sup>. Este índice tiene valores diferentes durante la gestación. Se deberá tener en cuenta los valores normales en niños prematuros para la evaluación de esta población. En un prematuro de 26 a 28 semanas un índice de 0,5 es normal. En términos generales debe considerarse que en un neonato con edad gestacional menor de 38 semanas un valor de <0.9 del índice puede ser normal <sup>(39)</sup>.

Se debe tener la precaución de no confundir los pequeños conductos biliares con conductos biliares interlobulares. Estos últimos tienen forma regular y están localizados próximo a la arteria (con la que tiene similar tamaño) así como a la vena del espacio porta <sup>(40)</sup>.

En la forma sindromática (síndrome de Alagille) las biopsias realizadas en el primer trimestre de vida aún no tienen ductopenia, observándose con frecuencia una morfología de HNN <sup>(41)</sup>. Incluso se ha llegado a observar, en casos de biopsias tempranas, que tienen una morfología similar a la AVBEH y que luego desarrollan con el tiempo la ductopenia <sup>(42)</sup>. Después del tercer mes de vida estos pacientes tienen la reducción característica en el número de conductos biliares intrahepáticos. La colestasis crónica por ductopenia es un signo mayor del síndrome. Los otros signos mayores son el aspecto facial característico, la alteración cardiovascular (hipoplasia o estenosis de arteria pulmonar), las malformaciones vertebrales (vértebra en mariposa) y el embriotoxoma corneano posterior. Estos pacientes también pueden tener una tendencia hemorrágica en ausencia de falla hepática que puede ser una complicación para la cirugía y la biopsia <sup>(43)</sup>. Hay historia familiar en 15% de los pacientes afectados. Los pacientes pueden tener hipoplasia de la vía biliar extrahepática pero no tienen atresia concomitante. Por el contrario, se han observado casos de ductopenia no sindromática asociada a AVBEH <sup>(38,44)</sup>.

En los casos de ductopenia no sindromática la biopsia hepática temprana (antes de los 3 meses) ya muestra el índice CB/EP bajo y esto constituye una diferencia morfológica importante con el síndrome de Alagille. Las alteraciones lobulillares son variables en la biopsia temprana, llegando a ser indistinguible de la hepatitis neonatal; puede haber transformación gigantocelular, hematopoyesis y colestasis así como fibrosis <sup>(41,45)</sup>. Algunos casos de ductopenia no sindromática recuperan en la evolución el número normal de conductos biliares interlobulares <sup>(46)</sup>.

Otras causas conocidas de ductopenia son: el déficit AAT, la trisomía 18 y 21 <sup>(47,48)</sup>, el síndrome de Turner y trastornos de la síntesis y transporte de ácidos biliares <sup>(49)</sup>. La infección por CMV puede causar ductopenia <sup>(50)</sup>. Otros procesos inflamatorios, como la colangitis

esclerosante de la que hay descripciones neonatales, también dan ductopenia <sup>(40)</sup>. En forma rara la fibrosis quística <sup>(41)</sup>, enfermedades peroxisomales, algunos síndromes de colestasis familiar, el síndrome de *prune belly* y el síndrome de artrogriposis, disfunción renal y colestasis pueden tener ductopenia <sup>(46,49,51)</sup>.

La mayoría de las ductopenias son idiopáticas.

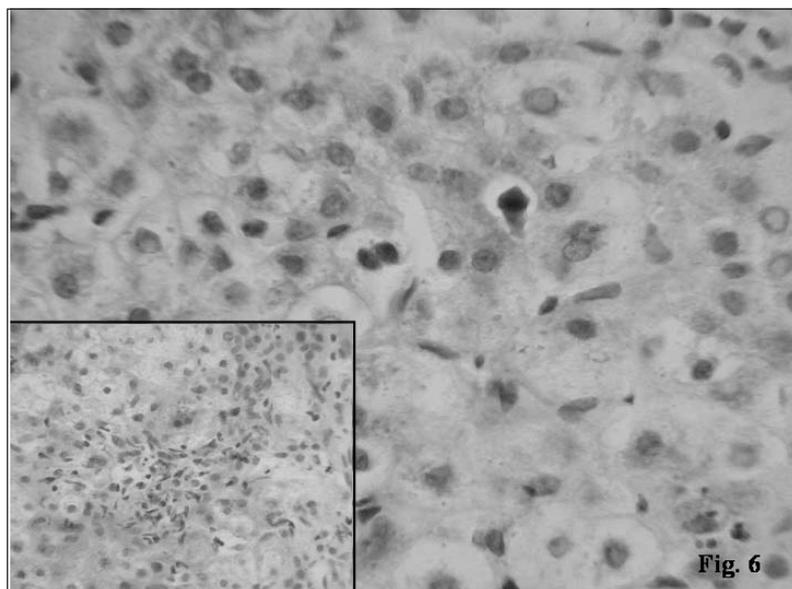
Fuera del período neonatal, la ductopenia puede verse como reacción adversa al uso de algunos antibióticos <sup>(46)</sup>, en la reacción injerto contra huésped, en el rechazo crónico del trasplante hepático, así como en la colangitis esclerosante primaria o secundaria. Ya se ha dicho que la AVBEH evoluciona a la desaparición de los conductos biliares intrahepáticos <sup>(40,52)</sup>.

Como manifestamos al comienzo, algunas entidades pueden tener múltiples patrones morfológicos. El déficit AAT en el período neonatal puede tener una biopsia normal, una histología de HNN, una morfología de AVBEH o de ductopenia <sup>(42,44,53-55)</sup>. Luego del período neonatal, una imagen de hepatitis crónica.

La fibrosis quística es otra entidad de morfología múltiple. Los casos de FQ que se manifiestan como enfermedad hepática infantil tienen un pronóstico bueno por lo menos a corto y mediano plazo <sup>(56)</sup>.

El síndrome de Alagille puede tener morfología variada en las biopsias tempranas. Un 23% de los pacientes no tiene ductopenia; 15% tiene HNN y 8% imagen biliar (en algunos casos aun después del primer trimestre) <sup>(57)</sup>.

La colestasis intrahepática familiar progresiva incluye por lo menos tres entidades; las dos primeras que están bien definidas tienen gamma-glutamil transpeptidasa baja, herencia autosómica recesiva y baja concentración de ácidos biliares primarios en bilis de vesícula biliar o de ampolla de Vater. Difieren en la morfología y en la clínica. El tipo 1 (ATP8B1 o enfermedad de Byler) tiene además manifestaciones extrahepáticas. La biopsia <sup>(49,58)</sup> no tiene aspecto de HNN. Al comienzo se observa colestasis canalicular y centrilobular de coloración gris verdosa, pálida, y los canalículos están dilatados con aspecto acinar (figura 6). No hay proliferación de conductos ni cilindros biliares. Se reconocen raras células necróticas y algún hepatocito multinucleado. En la evolución hay fibrosis que se inicia en el centro del lobulillo, alrededor de la vena y perisinusoidal. La metaplasia colangiolar de los hepatocitos puede hacer que las zonas centrales simulen espacios porta sin conductos biliares. El tipo 2 o ABCB11 tiene una falla en la excreción de sales biliares, con mucho daño celular hepatocítico que se evidencia en la biopsia como hepatitis giganto-celular (HNN) <sup>(49)</sup>. Puede haber algo de proliferación de pequeños conductillos en el límite porto lobulillar pero no hay colestasis intraductal. En la evolución tienen fibrosis que progresa rápidamente a una cirrosis irregular en el primer año de vida. La inmu-



**FIGURA 6.** Foto histológica en un caso de enfermedad de Byler. Biopsia temprana. Colestasis canalicular. En recuadro metaplasia colangiolar de los hepatocitos y necrosis celular focal.

nomarcación para SPGP (*sister of P-glycoprotein*, que representa a la bomba de exportación de sales biliares en el canalículo) muestra que estos pacientes no tienen positividad en la membrana canalicular<sup>(59)</sup>. El tipo 3 o deficiencia de MDR3<sup>(59)</sup> generalmente se manifiestan más tardíamente que los anteriores, tienen actividad de gamma-glutamil transferasa alta, baja concentración de fosfolípidos en bilis y alta concentración de ácidos biliares primarios séricos, con concentraciones normales en bilis. En la histología hay proliferación de conductos biliares con fibrosis portal e inflamación en presencia de una vía biliar extrahepática normal. Evolucionan a la cirrosis biliar. En algunos pacientes con igual fenotipo, manifestación clínica y de laboratorio, no se confirma la mutación<sup>(69)</sup>.

#### COMENTARIOS FINALES

La histología hepática en la CNN tiene gran valor pero muestra una variabilidad notoria como ya fue expuesto. La utilidad de esta presentación es facilitar la interpretación de informes histológicos a colegas clínicos que no están interiorizados en el tema. Destacamos la importancia de que estos pacientes sean vistos por hepatólogos pediatras y que la experiencia entre los mismos sea compartida. Especialmente en medios chicos como en Uruguay, la experiencia indivi-

dual nunca puede sustituir a la experiencia de grupo. Otro aspecto que consideramos válido subrayar es la necesidad de desarrollar el laboratorio clínico en estas áreas y que los especialistas en enfermedades metabólicas y en genética clínica integren el grupo multidisciplinario de trabajo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Jevon GP, Dimmick JE.** An histologic approach to the pediatric liver biopsy. Workshop. Reunión Anual Society for Pediatric Pathology; United States and Canadian Academy of Pathology; 2004, mar 6-12; Vancouver, Canada.
2. **Koukoulis G, Mieli-Vergani G, Portmann B.** Infantile liver giant cells: immunohistological study of their proliferative state and possible mechanisms of formation. *Pediatr Dev Pathol* 1999; 2(4): 353-359.
3. **Hartman C, Berkowitz D, Brik R, Arad A, Elhasid R, Shamin R.** Giant cell hepatitis with autoimmune hemolytic anemia and hemophagocytosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32(3): 330-334.
4. **Perez Atayde AR, Sirlin SM, Jonas M.** Coombs positive autoimmune hemolytic anemia and post infantile giant-cell hepatitis in children. *Pediatr Patol* 1994; 14: 69-78.
5. **Jacquemin E, Lykavieris P, Chaoui N, Hadehouel M, Bernard O.** Transient neonatal cholestasis: origin and outcome. *J Pediatr* 1998; 133(4): 563-7.
6. **Vajro P, Amelio A, Sagni A, Paludetto R, Giurpe M, De Curtis M.** Cholestasis in newborn infants with perinatal asphyxia. *Acta Pediatr* 1997; 86: 895-8.
7. **Vajro P, Paludetto R, De Curtis M.** Transient neonatal cholestasis and perinatal asphyxia. *J Pediatr* 1999; 134(6): 795.
8. **Dahms BB, Boyd T, Redline RW.** Severe perinatal liver disease associated with fetal thrombotic vasculopathy. *Pediatr Dev Pathol* 2002; 5(1): 80-5.
9. **Witzleben CL, Uri A.** Perinatal hemocromatosis. Entity or end result? *Hum Pathol* 1989; 20(4): 335-40.
10. **Frühwirth M, Janecke AR, Müller T, Carlton V, Kronenberg F, Offner F, et al.** Evidence for genetic heterogeneity in lymphedema-cholestasis syndrome. *J Pediatr* 2003; 142(4): 441-47.
11. **Gillet PM, Schreiber RA, Jevon GP, Israel DM, Warshowski T, Vallance H, et al.** Mucopolysaccharidosis type VII (Sly syndrome) presenting as neonatal cholestasis with hepatosplenomegaly. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33(2): 216-20.
12. **Kumar A, Minuk GY.** Postinfantile giant cell hepatitis in association with hypereosinophilia. *Gastroenterology* 1991; 101: 1417-9.
13. **Devaney K, Goodman ZD, Ishak KG.** Postinfantile giant-cell transformation in hepatitis. *Hepatology* 1992; 16: 327-33.
14. **Witzleben CL, Marshall GS, Wenner W, Piccoli DA, Barbour SD.** HIV as a cause of giant cell hepatitis. *Hum Pathol* 1988; 19: 603-605.
15. **Witzleben CL, Piccoli DA, Setchell K.** A new category of causes of intrahepatic cholestasis. *Pediatr Pathol* 1992; 12: 269-74.
16. **Jevon GP, Dimmick JE.** Histopathologic approach to metabolic liver disease: part 1. *Pediatr Dev Pathol* 1998; 1(3): 179-199.
17. **Jevon GP, Dimmick JE.** Histopathologic approach to metabolic liver disease: part 2. *Pediatr Dev Pathol* 1998; 1(4): 261-269.

18. **Ridaura Sanz C.** La biopsia en el diagnóstico de los errores congénitos del metabolismo con acúmulo anormal de sustancias. *Patología* 1993; 31: 99-116.
19. **Tazawa Y, Kobayashi K, Ohura T, Abukawa D, Nishinomiya F, Hosoda Y, et al.** Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrulinemia. *J Pediatr* 2001; 138(5): 736-40.
20. **Semeraro LA, Riely CA, Kolodny EH, Dickerson GR, Gryboski JD.** Niemann-Pick variant lipidosis presenting as "Neonatal Hepatitis". *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986; 5: 492-500.
21. **Rutlege JC.** Progressive neonatal liver failure due to type C Niemann Pick disease. *Pediatr Pathol* 1989; 9: 779.
22. **Yerushalmi B, Sokol RJ, Narkewicz MR, Smith D, Wenger DA.** Niemann-Pick type C and neonatal cholestasis: not as rare as we thought. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29(4): 507.
23. **Yerushalmi B, Sokol RJ, Narkewicz MR, Smith D, Wenger DA.** Niemann-Pick type C in neonatal cholestasis in a north american center. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35(1): 44-50.
24. **Bove KE, Daugherty CC, Tyson W, Mierau G, Heubi JE, Balistreri WF, et al.** Bile acid synthetic defects and liver disease. *Pediatr Dev Pathol* 2000; 3(1): 1-16.
25. **Schreiber RA, Kleinman RE.** Biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35 (suppl 1): S11-S16.
26. **Narkewicz MR.** Biliary atresia: an update on our understanding of the disorder. *Curr Opin Pediatr* 2001; 13(5): 435-440.
27. **Jacquemin E, Creteil D, Raymond N, Hadchouel M.** CFC1 Gene mutation and biliary atresia with polysplenia syndrome. *J Gastroenterol Nutr* 2002; 34(3): 326.
28. **Azar G, Beneck D, Lane B, Markowitz J, Daum F, Kahn E.** Atypical morphologic presentation of biliary atresia and value of serial liver biopsies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34(2): 212-215.
29. **Britos A, Berazategui R, Pacheco H.** Diagnóstico laparoscópico en la atresia de la vía biliar extrahepática. *Rev Cir Infantil* 2002; 12(1): 42-5.
30. **Hinds R, Davenport M, Mieli-Vergani G, Hadzic N.** Antenatal presentation of biliary atresia. *J Pediatrics* 2004; 144(1): 43-46.
31. **Lykavieris P, Bernard O, Hadchouel M.** Cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1999; 75: 67-70.
32. **Wood RP, Langnas AN, Stratta RJ, Pillen TJ, Williams L, Lindsay S, et al.** Optimal therapy for patients with biliary atresia: Portoenterostomy ("Kasai" procedures) versus primary transplantation. *J Pediatr Surg* 1990; 25(1): 153-162.
33. **Hadzic N, Davenport M, Tizzard S, Singer J, Howard E, Mieli-Vergani G.** Long term survival following Kasai portoenterostomy: Is Chronic liver disease inevitable? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 430-33.
34. **Alagille D, Odièvre M, Gautier M, Dommergues JP.** Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental and sexual development, and cardiac murmur. *J Pediatr* 1975; 86(1): 63-71.
35. **Alagille D, Estrada A, Hadchouel M, Gautier M, Odièvre M, Dommergues JP.** Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases. *J Pediatr* 1987; 110(2): 195-200.
36. **Raweily EA, Gibson AAM, Burt AD.** Abnormalities of intrahepatic bile ducts in extrahepatic biliary atresia. *Histopathology* 1990; 17: 521-527.

37. **Balistreri WF.** Intrahepatic cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35 (suppl 1): S17-S23.
38. **Kahn E.** Paucity of interlobular bile ducts. *Persp Ped Pathol* 1991; 14: 168-215.
39. **Kahn E, Markowitz J, Aiges H, Daum F.** Human ontogeny of the bile duct to portal space ratio. *Hepatology* 1989; 10(1): 21-23.
40. **Hadchouel M.** Paucity of interlobular bile ducts. *Semin Diag Pathol* 1992; 9(1): 24-30.
41. **Kahn E, Daum F, Markowitz J, Teichberg S, Duffy L, Harper R, et al.** Nonsyndromatic paucity of interlobular bile ducts: light and electron microscopic evaluation of sequential liver biopsies in early childhood. *Hepatology* 1986; 6: 890-901.
42. **Deutsch GH, Sokol RJ, Stathos TH, Knisely.** Proliferation to paucity: evolution of bile duct abnormalities in a case of Alagille syndrome. *Pediatr Dev Pathol* 2001; 4(6): 559-563.
43. **Lykavieris P, Crosnier C, Trichet C, Meunier-Totival M, Hadchouel M.** Bleeding tendency in children with Alagille Syndrome. *Pediatrics* 2003; 111(1): 167-170.
44. **Murage C, Brochu B, Garel L, Yousef S, Serdman EG, Weber AM, et al.** Portoenterostomy in a case of Alagille's syndrome with extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg* 1991; 26(1): 111-113.
45. **Kahn EI, Daum F, Markowitz J, Aiges HW, Schneider KM, So HB, et al.** Arteriohepatic dysplasia. II. Hepatobiliary morphology. *Hepatology* 1983; 3(1): 77-84.
46. **Russo P, Loomes KM.** Diseases of the biliary tree in infancy and childhood. Part B: Diseases of the intrahepatic biliary tree- Paucity of intrahepatic bile ducts. En: Russo P, Ruchelli E, Piccoli DA, eds. *Pathology of Pediatric Gastrointestinal and liver disease*. New York: Springer-Verlag, 2004: 220-36.
47. **Ruchelli ED, Uri A, Dimmick JE, Bove KE, Huff DS, Duncan LM, et al.** Severe perinatal liver disease and Down syndrome: An apparent relationship. *Hum Pathol* 1991; 22: 1274-1280.
48. **Witzelben CL.** Bile duct paucity ("Intrahepatic atresia"). *Persp Pediatr Pathol* 1982; 7: 185-201.
49. **Kinsely AS.** Hepatocellular and familial cholestasis. En: Russo P, Ruchelli E, Piccoli DA, eds. *Pathology of Pediatric Gastrointestinal and liver disease*. New York: Springer-Verlag, 2004: 251-69.
50. **Zuppan CW, Bui HD, Grill BG.** Diffuse hepatic fibrosis in congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986; 5: 489-491.
51. **Alonso EM, Snover DC, Montag A, Freese DK, Whittington PF.** Histologic pathology of the liver in progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 18: 128-133.
52. **Russo P, Rand EB, Haber BA.** Diseases of the biliary tree in infancy and childhood. Part A: Diseases of the extrahepatic biliary tree. En: Russo P, Ruchelli E, Piccoli DA, eds. *Pathology of Pediatric Gastrointestinal and liver disease*. New York: Springer-Verlag, 2004: 203-20.
53. **Cruz E, Cox WD.** Alfa 1-Antitrypsin deficiency: The spectrum of pathology and pathophysiology. *Persp Pediatr Pathol* 1980; 5: 1-39.
54. **Nord KS, Saad S, Joshi VV, McLoughlin LC.** Concurrence of 1-antitrypsin deficiency and biliary atresia. *J Pediatr* 1987; 11(3): 416-418.
55. **Fos E, Arcas R, Cabrere J, Hierro FR, Jiménez R.** Déficit de alfa-1 antitripsina y atresia de vías biliares. *An Esp Pediatr* 1986; 25(6): 467-470.

56. **Shapira R, Hadzic N, Francavilla R, Koukulis G, Price F, Mieli-Vergani G.** Retrospective review of cystic fibrosis presenting as infantile disease. *Arch Dis Child* 1999; 81(2): 125-28.
57. **Subramanian P, Kinsely A, Mieli-Vergani G.** Alagille's syndrome. The difficulty of initial diagnosis (Abstract). *Arch Dis Child* 2005; 90(Suppl 11): A14-A18.
58. **Knisely AS.** Progressive familial intrahepatic cholestasis: a personal perspective. *Pediatr Dev Pathol* 2000; 3(2): 113-125.
59. **Jacquemin E, Hadchouel M.** Genetic basis of progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Hepatol* 1999; 31: 377-81.
60. **Huey-Ling Chen, Pei-Shin Chang, Hey-Chi Hsu, et al.** Progressive familial intrahepatic cholestasis with high  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase levels in taiwanese infants: Role of MDR3 gene defect? *Pediatr Res* 2001; 50: 50-5.
61. **Müller-Höcker J, Aria Muntau A, Schäfer S, Jaksch M, Staudt F, Pongratz D, et al.** Depletion of mitochondrial DNA in the liver of an infant with neonatal giant cell hepatitis. *Hum Pathol* 2002; 33(2): 247-53.