



ATRESIA

BILIER

Ilmu Dasar hingga
Studi Translasional

Bagus Setyoboedi

ATRESIA BILIER

Ilmu Dasar hingga
Studi Translasional

Pasal 113 Undang-undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta:

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/ atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/ atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

ATRESIA BILIER

Ilmu Dasar hingga
Studi Translasional

Dr. BAGUS SETYOBOEDI, dr., Sp.A(K)



Airlangga
University
Press

■ Pusat Penerbitan dan Percetakan
Universitas Airlangga

ATRESIA BILIER

Ilmu Dasar Hingga Studi Translasional

Bagus Setyoboedi

ISBN 978-602-473-627-9

© 2020 Penerbit **Airlangga University Press**

Anggota IKAPI dan APPTI Jawa Timur
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992246, 5992247 Fax. (031) 5992248
E-mail: adm@aup.unair.ac.id

Layout (Akhmad Riyanto)

Cover (Erie Febrianto)

Dicetak oleh:

Pusat Penerbitan dan Percetakan UNAIR

AUP 993/09.20 - OC719/12.19

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.
Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis
dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.



PRAKATA

Atresia bilier (BA) adalah penyakit kolangiodestruktif disertai obstruksi lumen saluran empedu yang merupakan penyebab sirosis bilier, kegagalan hati, bahkan kematian, dan penyebab kolestasis neonatal, terutama tipe ekstrahepatal dan dapat merusak hati dalam tiga bulan pertama kehidupan. Tata laksana atresia bilier terdiri atas operasi Kasai (*portoenterostomy*); namun jika aliran empedu tidak membaik setelah prosedur Kasai atau terjadi komplikasi sirosis yang mengancam jiwa, maka dipertimbangkan untuk transplantasi hati. Pengenalan secara dini atresia bilier sangat diperlukan untuk menghindari kerusakan hati yang lebih berat. Beberapa ahli berpendapat bahwa penatalaksanaan atresia bilier lebih baik hasilnya jika diagnosis dapat ditegakkan pada bayi dengan usia kurang dari 1 bulan dan prosedur Kasai dapat dilakukan sebelum usia 1 bulan. Buku ini dibuat agar para dokter dapat mendeteksi dini atresia bilier dan melakukan penatalaksanaan lebih awal, karena jika diagnosis dapat ditegakkan pada bayi dengan usia kurang dari 1 bulan dan prosedur Kasai dapat dilakukan sebelum usia 1 bulan, maka harapan hidup penderita menjadi lebih baik.

Buku ini terdiri atas tujuh bab yang membahas atresia bilier mulai dari anatomi, patogenesis, patofisiologi, komplikasi, hingga penelitian translasional. Buku ini diharapkan dapat memberi pengetahuan pada tenaga medis untuk memahami atresia bilier dari akarnya, sehingga dapat melakukan deteksi dini dan memberikan pelayanan yang optimal pada penderita atresia bilier.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu terselesaikannya buku ini.

Surabaya, Juli 2020

Penulis





DAFTAR ISI

Prakata.....	v
Daftar Gambar dan Tabel.....	ix
PENDAHULUAN.....	1
BAB 1 ANATOMI HATI DAN KANDUNG EMPEDU	3
1.1 Anatomi Hati.....	3
1.1.1 Makroskopis Anatomi Hati	4
1.1.2 Mikroskopis Anatomi Hati	5
1.2 Anatomi Kandung Empedu.....	8
1.2.1 Makroskopis Anatomi Kandung Empedu	8
1.2.2 Mikroskopik Anatomi Kandung Empedu	9
1.3 Fungsi Saluran Empedu	9
1.4 Metabolisme dan Pengeluaran Bilirubin.....	14
1.5 Metabolisme Bilirubin dan Jaundis	15
1.6 Struktur dan Metabolisme Bilirubin Tidak Terkonjugasi (UCB).....	15
BAB 2 PATOGENESIS ATRESIA BILIER	17
2.1 Sejarah dan Klasifikasi Atresia Bilier	17
2.2 Embriologi dan Etiologi Atresia Bilier.....	18
2.2.1 Morfogenesis yang Tidak Sempurna.....	19
2.2.2 Infeksi Virus.....	21
2.3 Kolestasis Neonatal	22
2.4 Faktor Imunologi pada Atresia Bilier	23
2.5 Percobaan pada Hewan	24
2.6 Tipe-Tipe Atresia Bilier	25

BAB 3 PATOFISIOLOGI DAN PATOGENESIS ATRESIA BILIER	27
3.1 Peran Sistem Imun dalam Patogenesis Atresia Bilier.	28
3.1.1 Respons Imun Kolangiosit	28
3.2 Atresia Bilier Sebagai Penyakit Autoimun	36
BAB 4 FIBROSIS HATI	39
4.1 Fisiologi Kolangiosit	40
4.2 Regulasi dalam Proliferasi Kolangiosit	42
4.2.1 Hormon Gastrointestinal	42
4.2.2 Asam Empedu	45
4.2.3 Faktor Angiogenik	46
4.2.4 <i>Nerve Growth Factor</i> , Neuropeptida, dan Neurotransmitter	48
4.2.5 Hormon Steroid	51
4.2.6 Faktor-faktor Lain	52
4.3 Peran Kolangiosit dalam Fibrogenesis Hati	53
4.4 Proliferasi Kolangiosit dan Aktivasi Fibrosis Portal	54
4.5 Proliferasi Kolangiosit Sebagai Target Terapi Fibrosis Hati	56
BAB 5 MEKANISME FIBROSIS HATI	59
5.1 Perjalanan Alamiah dan Diagnosis Fibrosis Hati	62
5.2 Etiologi Fibrosis Hati	64
5.3 Patogenesis Fibrosis Hati	64
5.4 Aktivasi Kronis Reaksi Penyembuhan Luka	66
5.5 Stres Oksidatif	67
5.6 Gangguan Interaksi dan Transisi Epitel-Mesenkimal pada Kolangiopati	69
5.7 Sel Stellata Hati/HSC	69
5.8 <i>Transforming Growth Factor-β</i> (TGF- β)	71
5.9 Proses Pemulihan dan Terapi Antifibrosis	72
5.9.1 Pemulihan Fibrosis atau Sirosis	72
5.9.2 Terapi Antifibrotik	73

BAB 6 STRATEGI PENGOBATAN ATRESIA BILIER.....	77
6.1 Kolestasis Ekstrahepatik: Atresia Bilier.....	78
6.2 Tata Laksana Atresia Bilier.....	79
6.2.1 Pengobatan Bedah: Portoenterostomi (Prosedur Kasai).....	79
6.2.2 Terapi Steroid pada Atresia Bilier	81
6.3 Komplikasi.....	84
6.4 Prognosis dan Transplantasi Hati.....	86
6.5 Rujukan Penderita Atresia Bilier Ke Pusat Khusus....	88
BAB 7 STUDI TRANSLASIONAL PADA ATRESIA BILIER.....	89
7.1 Diagnosis Dini Atresia Bilier	90
7.2 Metode Skrining Atresia Bilier	91
7.3 Biomarker Atresia Bilier	93
7.4 Faktor Genetik.....	94
7.5 Fenotip Sel Hati	96
7.6 Mekanisme Imunologi Kerusakan Saluran Empedu .	96
7.7 Tata Laksana dan Terapi Adjuvan Atresia Bilier	99
7.8 Kajian Dasar Molekuler Atresia Bilier	100
7.8.1 Studi Berbasis Penderita.....	100
7.8.2 Studi Eksperimental dengan Model.....	101
7.9 Tantangan Masa Depan	104
Daftar Pustaka	106
Glosarium.....	129

DAFTAR GAMBAR DAN TABEL

Gambar 1.	Distribusi Saluran Empedu dan Arteri Hepatika....	4
Gambar 2.	Aliran Vena Hati.....	5
Gambar 3.	Anatomi Lobulus Hati dan Triad Portal	6
Gambar 4.	Anatomi Asinus Sebagai Unit Fungsional Hati	7
Gambar 5.	Anatomi Kandung Empedu.....	8
Gambar 6.	Mekanisme Target Elektrolit pada Sel Epitel Bilier .	11
Gambar 7.	Fungsi Antibodi pada Saluran Bilier	13
Gambar 8.	Algoritma jalur patogenesis dari dua bentuk atresia bilier, yaitu atresia bilier perinatal dan atresia bilier embrionik	20
Gambar 9.	Algoritma Kolestasis Neonatal Intrahepatik dan Ekstrahepatik	23
Gambar 10.	Tipe Atresia Bilier	26
Gambar 11.	Fungsi Sel Epitel Bilier dalam Molekul Adhesi.....	29
Gambar 12.	Lumen Saluran Bilier yang Dikelilingi Infiltrat Limfosit	32
Gambar 13.	Sistem Imun yang Menyerang Sel Epitel Bilie.....	33
Gambar 14.	Regulasi Sekretin dalam Sekresi Bikarbonat pada Kolangiosit.....	41
Gambar 15.	Regulasi Proliferasi Kolangiosit oleh Hormon-Hormon Gastro Intestinal	44
Gambar 16.	<i>Feedback</i> autokrin dan parakrin penstimulus maupun penghambat dalam mengontrol proliferasi kolangiosit	50
Gambar 17.	Proliferasi kolangiosit sebagai target untuk membatasi atau mencegah fibrosis hati.....	56



Gambar 18.	Perubahan dalam arsitektur hepatosit	62
Gambar 19.	Sinopsis Mekanisme Patogenesis Fibrosis Hati (Fibrogenesis)	71
Gambar 20.	Invasi epitel duktus oleh sel inflamasi dan perkembangan menjadi atresia bilier	98
Tabel 1.	Perbandingan Empedu pada Saluran Hepatik dan Kandung Empedu	10
Tabel 2.	Mekanisme potensial yang terlibat dalam patogenesis atresia bilier.....	94



PENDAHULUAN

Atresia bilier (BA) adalah penyakit kolangiodestruktif yang disertai obstruksi lumen saluran empedu dan dapat menyebabkan sirosis bilier, kegagalan hati, bahkan kematian. Atresia bilier merupakan salah satu penyebab paling sering dari kolestasis neonatal, terutama tipe ekstrahepatal dan dapat merusak hati dalam tiga bulan pertama kehidupan. Atresia bilier merupakan indikasi tersering cangkok hati pada anak. Insiden atresia bilier sebesar 1:14.000 kelahiran hidup dan lebih tinggi di Asia daripada di Eropa. Gejala klinis umumnya berupa kuning, warna tinja pucat, kencing gelap, serta perut membesar. Gambaran histopatologis umumnya salah satu di antara dua bentuk, yaitu inflamasi saluran empedu disertai sklerosis dan penyempitan atau bahkan hilangnya saluran empedu.¹

Penyebab atresia bilier hingga saat ini masih belum jelas. Faktor prenatal dan perinatal diketahui berpengaruh pada saluran empedu yang menyebabkan pembuntuan lumen saluran bilier ekstrahepatik dan sklerosis saluran empedu intrahepatik meskipun telah dilakukan operasi Kasai. Sebagian kecil kasus atresia bilier disebabkan oleh gangguan morfogenesis saluran empedu. Tipe perinatal atresia bilier merupakan penyebab potensial atresia bilier, meliputi infeksi virus, kerusakan saluran empedu akibat reaksi imunologi, dan penyakit autoimun yang melibatkan saluran empedu.² Lumen duktus ekstrahepatik mengalami obliterasi pada lokasi yang bervariasi dan menjadi dasar klasifikasi atresia bilier (Tipe I, II, dan III).³

Penderita atresia bilier memiliki beberapa karakteristik, antara lain kuning, kotoran non-pigmented (pucat), urine gelap, dan kadar bilirubin terkonjugasi meningkat. Beberapa tes diagnostik meliputi

ultrasonografi, tes biokimia fungsi hati, serologi virus, dan biopsi hati perkutan dapat membantu menegaskan diagnosis atresia bilier. Di beberapa pusat, intubasi duodenum dan pengukuran empedu intralumenal juga rutin dilakukan. Kolangiografi intraoperatif merupakan baku emas dalam penegakan diagnosis atresia bilier.⁴

Saat ini tatalaksana atresia bilier dibagi menjadi dua tahap. Tahap pertama adalah operasi Kasai (*portoenterostomy*). Jika aliran empedu tidak membaik setelah prosedur Kasai atau terjadi komplikasi sirosis yang mengancam jiwa, maka dipertimbangkan untuk tatalaksana tahap kedua yaitu transplantasi hati. Buku ini dibuat untuk dapat mengenali atresia bilier sejak dini untuk menghindari kerusakan hati yang lebih berat. Beberapa ahli berpendapat bahwa penatalaksanaan atresia bilier lebih baik hasilnya jika diagnosis dapat ditegakkan pada bayi dengan usia kurang dari 1 bulan dan prosedur Kasai dapat dilakukan sebelum usia 1 bulan. Cangkok hati diperlukan jika pada penderita atresia bilier terjadi penurunan fungsi hati yang diikuti dengan hipertensi portal yang progresif.¹

ANATOMI HATI DAN KANDUNG EMPEDU

1.1 ANATOMI HATI

Hati merupakan organ yang berperan dalam respons imun. Hati berperan sebagai induksi toleransi imun perifer dibandingkan sebagai induksi respons imun. Hati juga merupakan organ solid paling besar pada dewasa. Secara anatomis dan histologi, hati dapat dibagi menjadi lima bagian sistem jaringan, yaitu:⁵

1. Sistem pembuluh darah
2. Hepatosit dan lobus hepatic
3. Sel sinusoidal hepatic
4. Sistem bilier
5. Stroma

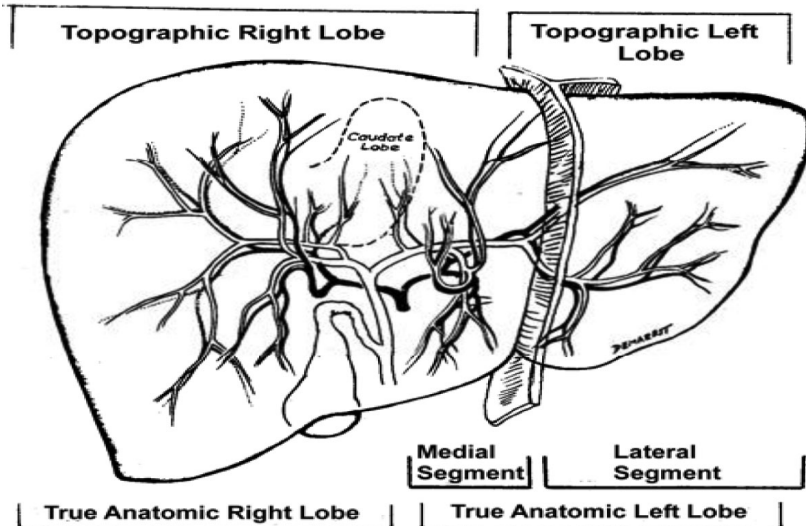
Organ hati disusun dengan berbagai sel yang berbeda, yang mana dibagi menjadi sel parenkim (hepatosit) dan sel non parenkim. Diperkirakan hepatosit menyusun hampir 78% dari berat hati, sedangkan sel non parenkim hepatic sekitar 6,3% yang dibagi menjadi 2,8% sel endotelial, 2,1% sel Kupffer, dan 1,4% sel stelate hati. Jaringan ekstraseluler menyusun hampir 16% dari berat hati.⁵

Sebagai organ yang berperan dalam sistem imun, hati merupakan organ yang lebih berperan dalam toleransi perifer dibandingkan sebagai induksi sistem imun. Suplai darah hati dipenuhi dua pembuluh nadi, darah yang kaya oksigen disuplai oleh arteri hepatica dan darah yang mengandung protein dan antigen melalui vena portal. Lebih dari 1.5 liter darah bersirkulasi di hati dalam satu menit dan hampir 10^8 limfosit darah tepi melalui hati dalam waktu 24 jam. Limfosit dapat bermigrasi melalui lapisan tunggal dari *liver sinusoidal endothelial cells*

(LSEC) ke ruang antar Disse dan hepatosit. Hati menyeimbangkan aktivasi sistem imun terhadap antigen sekaligus melindungi kerusakan hepatosit dan jaringan perifer akibat respons imun.^{6,5}

1.1.1 Makroskopis Anatomi Hati

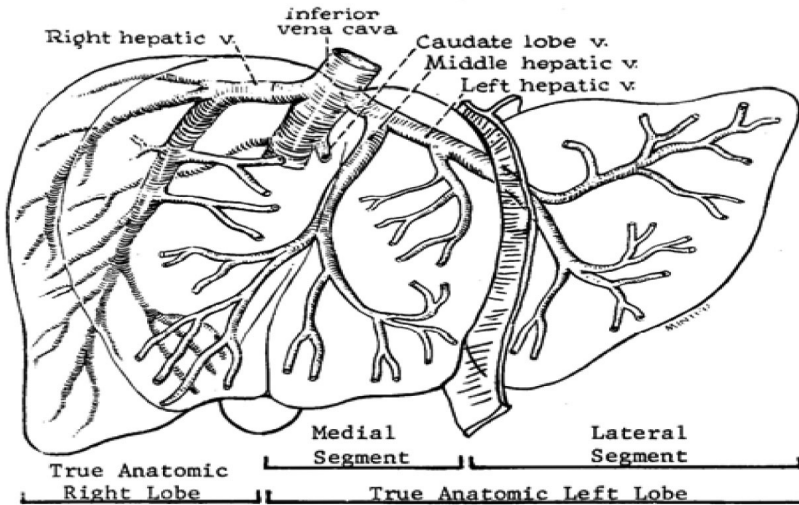
Hati merupakan organ terbesar manusia, dengan berat normal 1,5 kg (1200-1500 gr) dan merupakan 1/50 dari berat badan total orang dewasa. Unit fungsional hati berbeda dengan unit anatomi hati. Secara anatomi, hati terbagi atas lobus kanan dan lobus kiri oleh ligamen falsiformis yang menghubungkan hati dengan diafragma dan dinding anterior abdomen. Ukuran lobus kanan 6 kali lebih besar daripada lobus kiri. Secara fungsional, hati dibagi berdasarkan distribusi pembuluh darah utama dan saluran empedu. Pembagian ini merupakan pembagian anatomi yang “sebenarnya” menjadi lobus kanan dan kiri. Pembagian anatomi secara fungsional ini penting dalam tindakan bedah untuk menentukan reseksi lobus atau segmen hati karena alasan patologis (seperti tumor, kista, ruptur) atau digunakan dalam transplantasi hati.⁷



Gambar 1. Distribusi Saluran Empedu dan Arteri Hepatika ⁷

Hati menerima aliran darah dari dua pembuluh darah, yaitu arteri hepatica yang membawa darah arteri yang kaya oksigen dan vena porta yang membawa darah yang kaya nutrisi dan rendah oksigen dari usus dan limpa. Sekitar 50-80% oksigen hati diperoleh dari arteri hepatica, dan sisanya berasal dari vena porta. Sebanyak 70-80% aliran darah hati berasal dari vena porta, sedangkan 20-30% berasal dari arteri hepatica. Hampir sepertiga dari curah jantung mengalir ke hati.⁷

Vena porta, arteri hepatica, dan saluran hepatica empedu masuk ke hati melalui hilus kemudian bercabang ke kanan dan kiri menuju lobus. Pembuluh darah dan saluran empedu bercabang-cabang hingga mencapai *triad portal*. Triad portal terdiri atas arteri hepatica, vena porta, dan saluran empedu. Dari *triad portal*, darah dari arteri dan vena akan mengalir ke sinusoid hati.^{1,8}

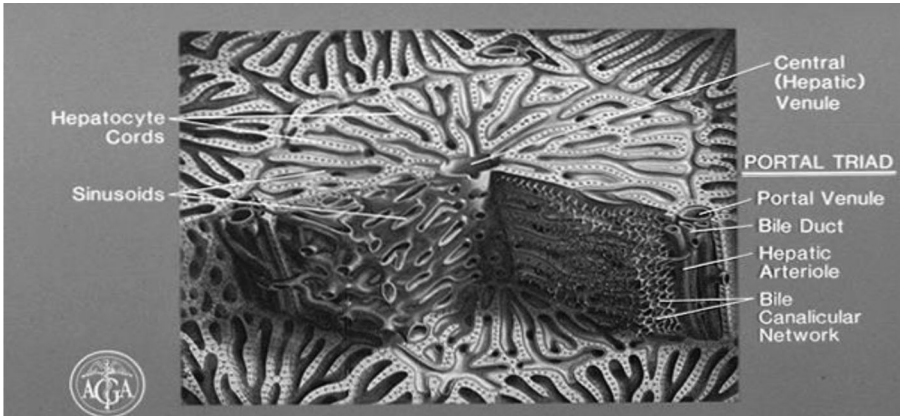


Gambar 2. Aliran Vena Hati ⁷

1.1.2 Mikroskopis Anatomi Hati

Struktur hati diklasifikasikan berdasarkan pembuluh darah aferen dan eferen. Vena sentralis merupakan vena eferen terkecil yang menjadi pusat lobulus hati. Secara mikroskopik, unit fungsional hati adalah asinus, yaitu daerah yang disuplai oleh cabang terminal arteri

hepatika dan vena porta. Triad portal yang terdiri atas cabang vena porta, arteri hepatika, dan saluran empedu membentuk pusat dari asinus (Gambar 3).⁷

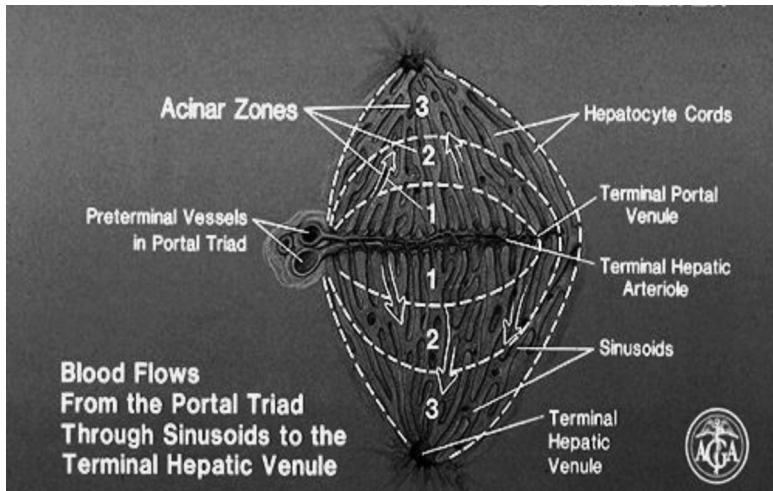


Gambar 3. Anatomi Lobulus Hati dan Triad Portal ⁷

Hati terdiri atas unit fungsional yang disebut lobus hati. Hepatosit disusun dalam lapisan tipis yang mengelilingi vena sentral dari lobus perifer. Di sudut tiap lobus merupakan area porta, tersusun atas cabang vena porta hepatika, arteri hepatika, dan duktus bilier. Biliar dialirkan dari hepatosit melalui cabang-cabang kecil yang menyusun duktus bilier utama. Pembuluh darah berada di tengah tiap lobus menerima aliran darah dari vena porta hepatika dan arteri hepatika melalui sinusoid dan dialirkan balik menuju vena hepatika. Hati tersusun atas berbagai sel non parenkimal seperti sel Kupffer (KC), sel epitel bilier/*biliary epithel cells* (BEC) dan limfosit yang memegang peran pertahanan sinusoidal hati.⁹

Lobulus disusun oleh hepatosit. Di sekitarnya terdapat sinusoid hati yang berfungsi seperti ruang kapiler, sehingga darah mengalir ke sel hati. Area porta disusun oleh cabang vena hepatika, arteri hepatika, dan duktus bilier.⁵ Asinus adalah suatu bentuk segitiga terdiri atas tiga vena sentralis dengan *triad portal* di tengahnya. Hepatosit tersusun radial mengelilingi triad portal. Asinus terbagi atas 3 zona berdasarkan jarak dari pembuluh darah (zona 1,2,3). Zona 3 merupakan

daerah paling jauh dari triad portal, memiliki perfusi paling sedikit tetapi memiliki mitokondria paling banyak, sehingga paling mudah mengalami hipoksia (Gambar 4).^{1,7}



Gambar 4. Anatomi Asinus Sebagai Unit Fungsional Hati ⁷

Dalam asinus, hepatosit tersusun radial dan dipisahkan oleh sinusoid. Sinusoid dilapisi oleh sel endothelial fenestrasi. Celah Disse merupakan celah yang terletak antara lapisan endothelial dan deretan hepatosit. Kanalikuli berada di antara hepatosit yang terhubung secara erat dengan *tight junction*. Setiap hepatosit memiliki permukaan basolateral yang menghadap celah Disse dan permukaan kanalikular yang menghadap saluran empedu. Sel Kuffer merupakan fagosit yang terletak di permukaan sinusoid. Sel stelata yang berada di sekitar lapisan endotel berfungsi mengatur diameter sinusoid.^{1,7}

Hati memiliki tiga jenis sel yang utama dan masing-masing memiliki fungsi yang berbeda. Massa utama hati disusun oleh hepatosit. Jenis sel lain adalah sel yang melapisi sinusoid (sel Kuffer, sel endothelial, dan sel stelata) dan sel epitel kandung empedu (kolangiosit).^{1,7,8}

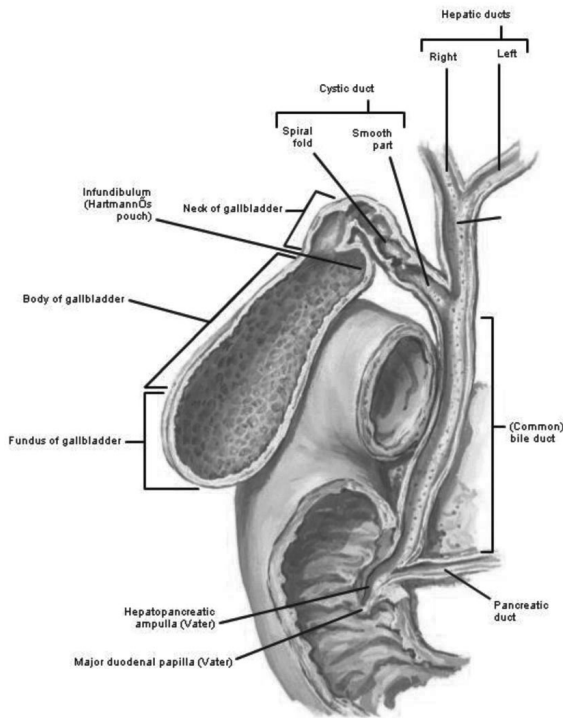
Hepatosit menyusun 60-80% massa hati. Secara umum, fungsi dasar hepatosit meliputi sintesis protein, metabolisme karbohidrat,

metabolisme lemak dan sekresi, transport anion dan kation organik, detoksifikasi, serta tempat simpanan. Dengan fungsi metabolisme dan sekretorik yang kompleks, hepatosit dilengkapi dengan sistem organela yang berkembang dengan baik (mitokondria, lisosom, peroksisom, endoplasmik retikulum halus dan kasar).^{1,7}

1.2 ANATOMI KANDUNG EMPEDU

1.2.1 Makroskopis Anatomi Kandung Empedu

Kandung empedu merupakan organ berongga yang menempati lekukan hati yang disebut sebagai fosa kandung empedu. Pada orang dewasa, kandung empedu memiliki ukuran panjang 8 cm dan diameter 4 cm ketika mengembang secara maksimal. Kandung empedu dibagi atas 3 bagian, yaitu fundus, corpus, dan collum.^{1,4,7}



Gambar 5. Anatomi Kandung Empedu ⁷

1.2.2 Mikroskopik Anatomi Kandung Empedu

Lapisan-lapisan pada kandung empedu sebagai berikut.^{1,4,7}

- Kandung empedu memiliki lapisan epitelial kolumnar sederhana
- Seluruh epitelium terdapat suatu lapisan jaringan konektif (lamina propia)
- Di atas jaringan konektif adalah suatu otot polos (muskularis eksterna) yang akan berkontraksi pada rangsangan kolesistokinin yaitu hormon peptida yang dikeluarkan oleh duodenum.
- Tidak terdapat submukosa yang memisahkan jaringan konektif dari serosa dan adventisia, tetapi terdapat lapisan yang tipis pada jaringan muskular untuk mencegah infeksi.

1.3 FUNGSI SALURAN EMPEDU

Pada keadaan normal, cairan empedu mengalir ke kandung empedu ketika spingter Oddi tertutup. Di dalam kandung empedu, cairan empedu sangat pekat dan menyerap air. Tingkat kepekatan ini ditunjukkan dengan peningkatan pada konsentrasi kepadatannya (Tabel 1). Cairan empedu hati terdiri atas 97% air, sedangkan jumlah kandungan air pada cairan empedu pada kandung empedu adalah 89%. Ketika saluran empedu dan saluran kistik ditutup, tekanan intrabiliari meningkat kira-kira 320 mm cairan empedu dalam 30 menit dan pengeluaran cairan empedu berhenti. Namun, ketika saluran empedu ditutup dan saluran kistik dibiarkan terbuka, air akan diserap kembali di kandung empedu dan kenaikan tekanan intrabiliari hanya berkisar 100 mm cairan empedu dalam beberapa jam.^{1,7,10}

Saluran bilier merupakan jaringan yang tersusun oleh sel epitelial sekretorik/ekskresi yang disebut kolangiosit. Biliier bersifat steril dalam kondisi normal. Saluran bilier bermuara di duodenal yang secara periodik terjadi kolonisasi bakteri. Mikroorganisme duodenal diduga sebagai sumber infeksi pada beberapa penyakit hepatobilier. Saluran bilier mempunyai beberapa mekanisme pertahanan untuk melindungi dari infeksi patogen.¹¹

Tabel 1. Perbandingan Empedu pada Saluran Hepatik dan Kandung Empedu

	Empedu saluran hepatic	Empedu pada kandung empedu
Persentase padat	2-4	10-12
Garam empedu	10-20	50-200
pH	7.8-8.6	7.0-7.4

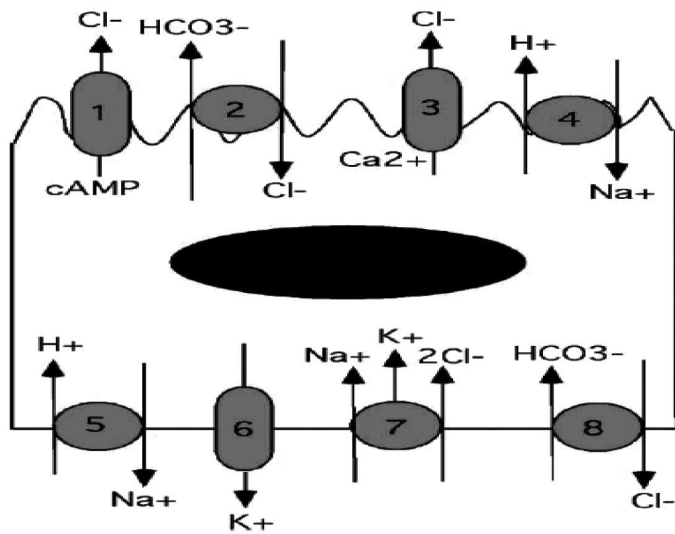
Pembentukan bile membutuhkan hepatosit dan sel epitel bilier sebagai penghasil utama bile, di mana sel epitel bilier memodifikasi bile setelah diekskresikan oleh hepatosit dan disalurkan ke dalam lumen duodenum. Sel epitel bilier mengeluarkan hampir 30% dari total volume yang diproduksi dan dapat meningkat sesuai kebutuhan fisiologi, mensekresi cairan, bikarbonat, klorida, dan immunoglobulin A (IgA), serta mengabsorpsi glukose, asam empedu, asam amino, dan elektrolit. Transport elektrolit melalui sel epitel bilier dikendalikan oleh sistem hormon intestinal yang kompleks, neuropeptida, dan neurotransmitter yang dapat mempengaruhi penyerapan maupun pengeluaran bile¹²

Peran terbesar sel epitel bilier adalah fungsi sekresi bilier ke saluran cerna yang menentukan alkalinisasi dan menyediakan bikarbonat untuk proses pencernaan. Sekresi bikarbonat oleh sel epitel bilier dipengaruhi pertukaran Cl^2 dengan HCO^3 , dan secara fungsi terhubung dengan *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR), *cyclic AMP* (cAMP) dan saluran Cl^2 . Sekretin akan meningkatkan kadar cAMP intrasel dan menginduksi *adenylate cyclase*. Ketika kadar cAMP intrasel meningkat, *cAMP-protein kinase A* (PKA) diaktifkan dan fosforilasi mengaktifkan regulasi CFTR yang membuka kanal Cl^2 . Sel epitel bilier menstimulasi sekresi Cl^2 ke bilier.¹³

Sekresi bilier ke duktus distimulasi oleh bombesin dan peptida intestinal vasoaktif (VIP). Seperti sekretin, keduanya memengaruhi pertukaran Cl^2 dengan HCO^3 setelah aktivasi dari CFTR. Inhibisi sekresi bikarbonat di duktus oleh somatostatin dan gastrin. Somatostatin terutama didapatkan pada saluran bilier utama. Somatostatin menghambat sekretin yang menginduksi peningkatan cAMP melalui

Gi-protein yang menghambat aktivitas *adenylate cyclase*. Gastrin menghambat sekresi bikarbonat dengan mengurangi kadar secretin dan ekspresi secretin di reseptor sel epitel bilier.¹²

Jalur neural juga memodulasi sekresi HCO_3^- melalui sekresi kolinergik dan asetilkolin yang berikatan dengan reseptor M3 muskarinik pada basolateral membran dari sel epitel bilier. Aktifasi reseptor M3 meningkatkan kadar Ca^{2+} intrasel sehingga menstimulasi pertukaran Cl^- dengan HCO_3^- .¹³



Gambar 6. Mekanisme Target Elektrolit pada Sel Epitel Bilier

Keterangan: (1) cytic fibrosis membrane conductane regulator (CFTR) (2) pertukaran Cl^- / HCO_3^- (3) sekresi HCO_3^- ditukar dengan absorpsi Cl^- (4) pertukaran Na^+ / H^+ (5) basolateral membran sel epitel bilier (5) pertukaran Na^+ / H^+ (6) saluran K^+ (7) pertukaran Na^+ / K^+ / Cl^- (8) pertukaran Cl^- / HCO_3^- .⁶

Sel epitel bilier memiliki kemampuan absorpsi aktif glukosa, asam empedu, glutamat, bilirubin terkonjugasi, sulfobromophtalin, dan molekul organik anion. Proses transport aktif dari bilirubin terkonjugasi tergantung Na^+ pada permukaan lumen sel epitel bilier. Tidak seperti bilirubin terkonjugasi, bilirubin tidak terkonjugasi di transport secara pasif seperti asam ursedenolik.⁶

Salah satu fungsi utama hati yang lain adalah metabolisme dan konjugasi xenobiotik dan obat yang disekresikan dalam bentuk metabolit yang larut air ke dalam saluran bilier. Substansi atau zat yang tidak terkonjugasi akan diekskresi dalam bentuk hidrofobik (toksik). Reabsorpsi pasif oleh sel epitel bilier dan daur ulang secara kontinu menjamin substansi diekskresikan dalam bentuk yang sudah terkonjugasikan. Hasil ekskresi bilier berupa substansi hidrofilik yang bersifat tidak toksik. L-glutamat dilepaskan oleh percabangan saluran bilier dari glutathione melalui *γ-glutamyl transferase* (GGT). Sel epitel bilier mempunyai mekanisme sodium dependen dan sodium independen dalam transport L-glutamat.^{5,6}

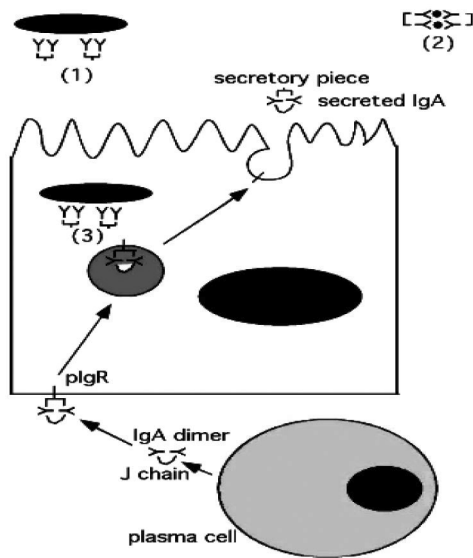
Epitel bilier mempunyai mekanisme perlindungan terhadap infeksi. Sel epitel bilier mensekresi *human β-defensin* (hBDs), Mx protein dan immunoglobulin A.¹⁴ Defensin merupakan kation peptida kecil yang mempunyai aktivitas antimikroba dengan merusak dinding sel. Peran krusial dari hBDs adalah memberikan perlindungan *host* dari infeksi mikroba dan komponen yang dapat diinduksi untuk melindungi barier epitel. Pada kolangiosit manusia ditemukan 6 hBDs, hBDs-2, dan hBDs-3 yang diinduksi oleh mikroba, virus, dan sitokin, sedangkan hBDs-4 diekspresikan pada infeksi bakteri tetapi tidak dapat diinduksi oleh mediator inflamasi. hBDs mempunyai peran sebagai antimikroba dalam pertahanan saluran bilier.¹⁵

Sebagai salah satu komponen penting dalam mekanisme antiviral oleh IFN, diperlukan protein Mx yang merupakan bagian dari *dynamamin-like large guanosine triphosphatases* (GTPases). MxGTPases mempunyai aktivitas yang luas untuk antiviral (virus RNA). MxGTPases mendeteksi infeksi virus dengan mengenali struktur nucleocapsid. Dalam kondisi normal, protein Mx diekspresikan oleh hepatosit. Akan tetapi, dalam kondisi patologik yang kronik, kolangiosit juga mengekspresikan protein Mx.^{15 14}

Fungsi sekresi yang lain dari sel epitel bilier adalah sekresi IgA. IgA merupakan komponen protein pada bile dan merupakan immunoglobulin yang berperan dalam sistem imun mukosal. Ada dua jalur dalam transport IgA ke dalam bile. Pada manusia, sintesis IgA

pada plasma sel sepanjang percabangan bilier, terikat pada *polymerized immunoglobulin receptor* (pIgR) pada basolateral membran dari sel epitel bilier, disekresikan pada saluran bilier oleh sel epitel bilier. Sedangkan pada tikus, IgA dibersihkan dari plasma oleh pIgR yang berada pada permukaan sel sinusoidal hati dan disalurkan ke dalam saluran bilier.¹⁴

Sintesis pIgR dilakukan oleh sel epitel organ yang menyekresi keluar (usus, kelenjar mamma, paru, kelenjar lakrimalis, endometrium) dan juga sel epitel bilier serta hepatosit. IgA sendiri, terdiri atas rantai panjang (alpha) dan rantai pendek (kappa atau lambda, dan disusun menjadi molekul monomerik IgA (dua rantai panjang dan dua rantai pendek). *Protein J* diperlukan untuk mengikatkan molekul IgA monomerik menjadi molekul IgA polimerik, yang kemudian bentuk ini disekresikan. Hanya dalam bentuk IgA polimerik dapat berikatan dengan pIgR.⁶



Gambar 7. Fungsi Antibodi pada Saluran Bilier

Keterangan: (1) pengikatan patogen ekstrasel dan mencegah penempelan pada selepitel bilier (2) pengikatan antigen bebas, pembentukan imun kompleks (3) pengikatan patogen intrasel selama masa transitosis.⁶

Fungsi utama dari IgA pada saluran bilier adalah perlindungan saluran bilier dan hati dari invasi patogen dengan mencegah penempelan mikroorganisme atau toksinnya, antigen berbahaya di sirkulasi dapat dibersihkan di bilier dengan mekanisme kompleks imun IgA, transport IgA dari plasma ke bilier menyediakan perlindungan spesifik terhadap invasi mikroorganisme selama proses transitosis.⁶

1.4 METABOLISME DAN PENGELUARAN BILIRUBIN

Sebagian besar bilirubin dibentuk di dalam jaringan yang berasal dari penghancuran hemoglobin. Bilirubin yang terdapat pada sirkulasi terikat pada albumin. Sebagian bilirubin diikat secara kuat, tetapi sebagian besar bilirubin dilepas kembali di dalam hati, sehingga bilirubin yang bebas tersebut masuk ke dalam sel hati dan terikat pada protein sitoplasmik. Bilirubin merupakan konjugasi asam glukoronat pada reaksi katalisasi oleh *enzim glucuronyl transferase (UDP-glucuronosyltransferase)*. Setiap molekul bilirubin bereaksi dengan dua asam *uidine diphosphoglucoronic (UDPGA)* untuk membentuk *diglucuronide bilirubin* yang bersifat lebih larut air dibandingkan bilirubin bebas dan disalurkan melawan konsentrasi tinggi melalui proses aktif menuju kanalikuli empedu.^{1,7} *Glucuronide bilirubin* beredar di dalam darah dalam jumlah yang sedikit, terikat pada albumin, merupakan bilirubin bebas, dan dikeluarkan melalui urine. Sebagian besar *glucuronide bilirubin* disalurkan melalui saluran empedu menuju usus.^{1,7,8}

Mukosa usus tidak dapat ditembus oleh bilirubin konjugasi, tetapi dapat ditembus oleh bilirubin yang tidak terkonjugasi dan urobilinogen, yang merupakan serangkaian turunan bilirubin tidak berwarna yang dibentuk oleh bakteri di usus. Beberapa zat warna empedu dan urobilinogen diserap kembali dalam sirkulasi portal dan dikeluarkan oleh hati (sirkulasi ekstrahepatik). Sebagian kecil urobilinogen masuk ke sirkulasi tubuh dan dikeluarkan melalui urine.⁷

1.5 METABOLISME BILIRUBIN DAN JAUNDIS

Jaundis (ikterus) merupakan perubahan warna kuning pada kulit, sklera, dan membran mukosa yang disebabkan oleh penumpukan bilirubin konjugasi. Jaundis merupakan tanda klinis pertama pada penyakit atresia bilier. Jaundis tidak selalu terlihat pada kulit hingga total bilirubin meningkat 3-4 kali nilai normal dan merupakan indikasi awal kelainan metabolisme bilirubin atau fungsi hepatobilier.^{1,4,7}

1.6 STRUKTUR DAN METABOLISME BILIRUBIN TIDAK TERKONJUGASI (UCB)

Bilirubin yang tidak terkonjugasi adalah zat warna kuning *tetrapyrrolic* yang merupakan hasil utama dari katabolisme heme. Bilirubin yang tidak terkonjugasi disalurkan dalam ikatan plasma pada albumin terbatas pada ekskresi ginjal dan menyebar ke jaringan. Bilirubin yang tidak terkonjugasi menyebar melalui semua membran sel dan sebagian besar dibersihkan oleh hepatosit yang mengubah zat warna menjadi konjugasi bilirubin yang larut dalam air, terutama *di-* dan *mono-glukuronide*. Biotransformasi ini merupakan hal yang diperlukan untuk sekresi bilirubin, dan hanya sedikit bilirubin yang tidak terkonjugasi terdapat pada empedu. Pada kondisi normal, bilirubin tidak terkonjugasi disalurkan ke cairan empedu, sehingga lebih 96% bilirubin di dalam plasma normal adalah bilirubin tidak terkonjugasi.^{7,16}

Konjugasi bilirubin yang disekresikan melalui empedu adalah bilirubin yang tidak mudah direabsorpsi di usus, tetapi dihidrolisis menjadi bilirubin yang tidak terkonjugasi dan diubah menjadi urobilinogen yang tidak berwarna oleh bakteri anaerobik di ileum dan kolon. Sebagian besar bilirubin yang tidak terkonjugasi dan urobilinogen dikeluarkan dalam feses, tetapi sebagian kecil diserap kembali secara pasif di kolon, dan kembali ke hati, yang sebagian besar diekskresikan kembali ke dalam empedu.^{7,16} Di dalam sel, pada sebagian besar sistem retikuloendotelial, heme diubah menjadi biliverdin oleh *limiting mikrosomal heme oksigenase*, dengan melepaskan CO dan Fe³⁺. Biliverdin yang kemudian direduksi menjadi bilirubin yang tidak terkonjugasi oleh enzim sitosolik yaitu *reduktase biliverdin*.^{1,7,16}

PATOGENESIS ATRESIA BILIER

2.1 SEJARAH DAN KLASIFIKASI ATRESIA BILIER

Lebih dari 100 tahun yang lalu, observasi kerusakan dan hilangnya saluran empedu ekstrahepatik yang berlanjut menjadi sirosis bilier telah ditemukan pada anak yang dilakukan otopsi. Dari studi tersebut didapatkan bahwa observasi tersebut tidak berpengaruh pada terapi.¹

Pada awal abad 20, sumbatan saluran empedu diduga sebagai penyebab kuning pada bayi dalam waktu lama dan kolestasis pada bayi baru lahir. Penyakit ini disebut atresia bilier ekstrahepatik bawaan. Strategi pengobatan yang pertama kali diusulkan adalah penderita dengan atresia bilier yang pendek dan terbatas pada distal saluran empedu dapat dilakukan terapi bedah jika saluran proksimalnya masih jelas dan cukup lebar. Sebagian besar pada penderita atresia bilier tidak dapat dilakukan terapi bedah, dan mengakibatkan kematian dalam usia 2 tahun. Pendekatan terapi bedah berkembang sejak akhir tahun 1950-an, ketika Kasai memperkenalkan portoenterostomi. Dengan teknik baru ini, sebagian besar perubahan sepanjang bilier ekstrahepatik dapat dicapai.^{17,18}

Meskipun prosedur Kasai pada awalnya berhasil membuat aliran empedu menjadi baik, pada beberapa penderita tetap menderita penurunan fungsi hati. Fenomena ini penting untuk menentukan proses peradangan yang sedang berlangsung, baik ekstra maupun intrahepatal pada atresia bilier. Hal ini secara klinis tidak dapat diramalkan. Oleh karena itu, faktor keberhasilan pada penderita atresia bilier tidak terbatas pada waktu pembuangan saluran empedu ekstrahepatik yang tidak terbentuk dan pemulihan aliran empedu dengan bedah

tetapi mungkin juga akibat proses peradangan intrahepatik yang dapat sembuh sendiri.¹⁸

Dalam spektrum ini, penyakit ini selalu mengarah sebagai “atresia bilier”, yang mencakup semua tipe. Oleh karena itu, di masa depan terbuka kesempatan dan potensi klasifikasi baru yang berguna untuk menentukan patogenesis untuk yang masih belum diketahui tentang atresia bilier.⁸

2.2 EMBRIOLOGI DAN ETIOLOGI ATRESIA BILIER

Meskipun beberapa teori telah dikemukakan untuk menjelaskan penyebab atresia bilier, namun tidak satupun yang dapat mengonfirmasikan penyebab pasti atresia bilier. Salah satu teori penyebab atresia bilier, yaitu malformasi pada lapisan saluran empedu di mana kelainan ini menyebabkan kebocoran cairan empedu sehingga terjadi reaksi peradangan dan kerusakan pada sistem bilier. Banyak peneliti yang percaya bahwa atresia bilier merupakan suatu kelainan yang didapat. Beberapa virus dilaporkan memiliki hubungan dengan atresia bilier, antara lain rotavirus, reovirus tipe 3, Epstein-Barr virus, dan cytomegalovirus.¹⁶

Teori lain menyebutkan bahwa sistem hepatobilier muncul selama embriogenesis pada minggu keempat yang berasal dari pertumbuhan endodermal permukaan usus yang disebut divertikulum hepatic. Divertikulum ini juga muncul pada parenkima hepatic, kandung empedu, saluran kistik, saluran empedu, dan kepala pankreas. Alterasi yang terjadi pada perkembangan embriologi secara normal memunculkan kelainan secara klinis pada hati dan sistem bilier.¹⁹

Sebanyak 10-20% kasus atresia bilier merupakan suatu sindrom dengan kelainan bawaan lainnya, seperti terputusnya saluran vena cava inferior, vena portal pre-duodenal, malrotation, kelainan jantung, situs inversus, dan polisplenia (sindrom atresia bilier splenik malformasi). Faktor penyebab lainnya juga telah dikemukakan, seperti trauma pada vaskular yang menyebabkan iskemia pada perkembangan saluran empedu dan kelainan metabolisme asam empedu. Mutasi pada gen

CFC1 telah diketahui pada beberapa penderita dengan sindrom atresia bilier.²⁰

Adapun beberapa penyebab terjadinya atresia bilier pada anak antara lain.

2.2.1 Morfogenesis Yang Tidak Sempurna

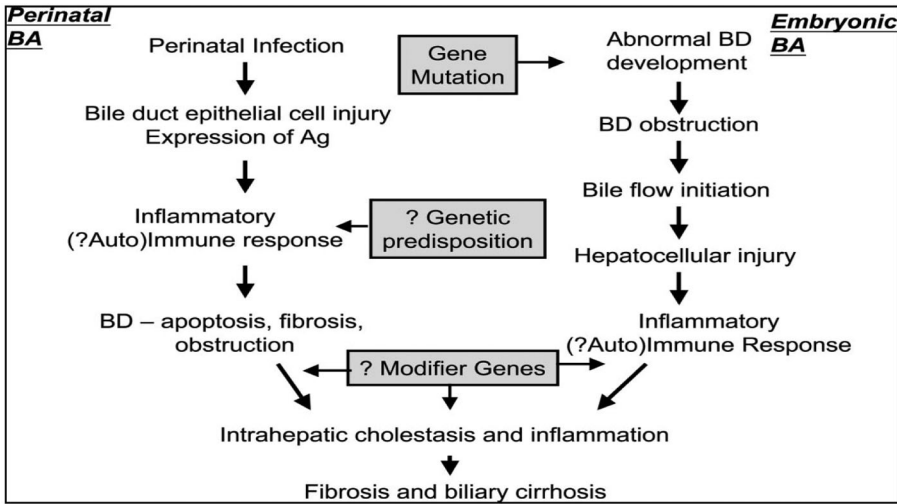
Mengetahui morfologi awal atau perubahan fungsi pada penderita atresia bilier adalah hal yang penting karena bentuk aslinya tidak diketahui. Deteksi antenatal pada dilatasi kistik pre-stenotik saluran empedu pernah dilaporkan sebagai kasus langka. Pada penderita tersebut, atresia bilier merupakan suatu perpaduan dengan kelainan yang lain, seperti polisplenia, vena porta preduodenal, dan vena porta inferior yang terputus, yang disebut sebagai malformasi splenik-atresia bilier.^{19,20}

Masih belum jelas apakah tipe ini merupakan subgrup embriogenesis yang tidak sempurna pada cabang bilier. Penamaan “malformasi lapisan duktal” yang ditegaskan sebagai kekurangan atau terjadinya perubahan bentuk secara terus menerus pada lapisan duktal embrionik berhubungan dengan patogenesis atresia bilier dan beberapa penyakit lain pada saluran empedu intrahepatik masih menyisakan hal penting untuk didiskusikan.¹⁰ Studi sebelumnya pada penderita dengan atresia bilier menunjukkan adanya kesamaan morfologi dengan proses pembentukan kembali lapisan duktal pada janin dengan usia kandungan 11 dan 13 minggu.¹⁶

Penelitian baru tentang dasar molekular atresia bilier menemukan gambaran profil gen hati penderita dengan atresia bilier berbeda dari penderita dengan penyakit kolestatik lainnya.²¹ Studi lain yang melakukan pendekatan spesifik yang sama, diterapkan pada grup penderita yang berbeda menunjukkan adanya gambaran yang selaras yang berkaitan dengan pengaturan pada gen yang dibedakan yang disebut “embriogenik dan bentuk perinatal pada atresia bilier”.²² Penelitian ini memberikan harapan baru untuk definisi yang lebih baik terhadap istilah yang berkaitan dengan etiologi, seperti “*embriogenik*”,

“sindromic”, “congenital”, “acquired”, “perinatal”, dan bentuk lain dari atresia bilier.³

Mutasi pada CFC1 heterozigot juga dapat memengaruhi terjadinya atresia bilier. Mutasi ini juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang dapat berpengaruh pada fenotip atresia bilier. Protein CRYPTIC berperan sebagai kofaktor pada jalur nodal yang menentukan perkembangan aksis kanan dan kiri secara potensial melalui fungsinya di dalam jalur pengenalan beta pada perubahan faktor pertumbuhan.²³



Gambar 8. Algoritma jalur patogenesis dari dua bentuk atresia bilier, yaitu atresia bilier perinatal dan atresia bilier embrionik.²²

Studi sebelumnya telah melakukan analisis gen CFC1 yang merupakan sandi dari protein CRYPTIC dalam gen DNA manusia. Pada studi tersebut didapatkan 144 kasus sporadik dan familial yang mengalami kelainan. Mutasi heterozigot didapatkan pada sembilan penderita, termasuk satu penderita dengan atresia bilier dan sindrom polisplenia.²³ Studi lain menyebutkan bahwa mutasi gen heterozigot ditemukan pada dua saudara laki-laki dengan kelainan secara menyamping, satu diantaranya memiliki atresia bilier yang diturunkan dari ibu mereka yang tidak terkena.²⁴

Embrionik atresia bilier merupakan hasil mutasi gen pada formasi saluran empedu yang merangsang terjadinya peradangan dalam hati yang mengalami gangguan dan saluran empedu intrahepatik yang mengalami sklerotik. Perinatal atresia bilier terjadi akibat kerusakan epitel saluran empedu dan adanya respons imun yang merusak saluran empedu ekstrahepatik dan intrahepatik. Faktor-faktor lain yang mungkin berperan pada predisposisi genetika membentuk *autoimmunity* dan pengubah gen yang merupakan penerus dari tipe seluler dan respons imun yang menyebabkan fibrotik (Gambar).²²

2.2.2 Infeksi virus

Pada awal tahun 1970-an, infeksi merupakan penyebab tunggal peradangan pada saluran empedu intra dan ekstrahepatik atau parenkim hati, yang secara klinis diperlihatkan sebagai hepatitis pada bayi, kista koledokus, atau atresia bilier. Hipotesis ini adalah titik awal pada penelitian virus hepatotropik pada penderita atresia bilier. Mulai tahun 1980-an, virus yang berbeda ditemukan secara sporadis pada penderita atresia bilier, tetapi penelitian tersebut kurang meyakinkan. Beberapa tahun kemudian, saat reaksi rantai polimerasi (PCR) menjadi pemeriksaan rutin, rangkaian yang lebih besar pada penderita-penderita telah diuji.¹⁸

Dalam 10 tahun terakhir, banyak penelitian melaporkan tentang empat virus spesifik. Dari penelitian ini, 34% (0%-50%) dari 50 biopsi hati positif untuk cytomegalovirus,²⁵ dan 14% (0%-55%) dari 79 penderita adalah positif reovirus.²⁶ Rotavirus C terdeteksi pada 50% dari 18 biopsi hati,²⁷ dan Human Papiloma Virus ditemukan 16 dari 18 penderita.²⁸ Tetapi masih belum jelas apakah virus merupakan faktor etiologi yang penting pada atresia bilier. Studi sebelumnya menemukan rotavirus grup C pada dua orang anak dengan atresia bilier, dan infeksi rotavirus grup A juga ditemukan pada tikus yang mengalami penyumbatan bilier ekstrahepatik.²⁷

Adanya antibodi dan antigen terhadap reovirus tipe 3 yang memiliki konsentrasi lebih tinggi pada anak dengan atresia bilier daripada anak normal. Namun studi lain menyebutkan bahwa

hasil tersebut tidak didukung oleh penelitian lain yang mungkin menggambarkan perbedaan pada metode pengujian, waktu pada pengambilan sampel, atau faktor lain yang belum diketahui.²⁶

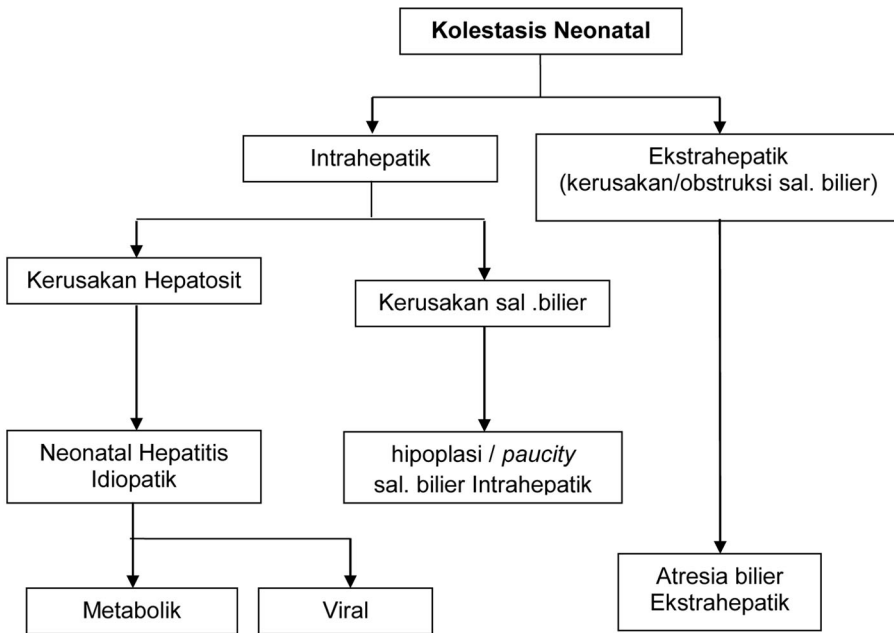
Masalah utama pada studi ini terdapat tiga tahap. Pertama, penderita atresia bilier seperti grup heterogenus yang dilakukan biopsi terlalu sedikit. Kedua, semua penelitian terbatas pada satu atau dua virus. Melakukan pengujian semua virus hepatotropik dalam jumlah sampel besar pada biopsi hati lebih efektif. Ketiga, waktu saat pemeriksaan PCR tidak diperhitungkan. Biopsi diperoleh pada saat penyakit telah mencapai tingkat lanjut dan gejala klinis sudah berat. Hal ini dapat dipakai untuk membedakan, suatu proses yang saling berhubungan secara etiologi atau tidaknya (efek sekunder). Terdapat kemungkinan penelitian etiologi virus terlambat diperiksa untuk virus yang bersangkutan.^{18,25,26}

2.3 KOLESTASIS NEONATAL

Kolestasis neonatal disebabkan karena peningkatan level serum bilirubin konjugasi dalam jangka waktu yang lama pada tiga bulan pertama kehidupan. Pemeriksaan kadar bilirubin konjugasi perlu dilakukan pada anak dengan kuning yang timbul setelah usia 2 minggu.²⁹

Kolestasis pada bayi dapat disebabkan oleh infeksi, genetik, metabolik, atau abnormalitas yang tidak diketahui yang dapat menyebabkan penyumbatan secara mekanikal pada aliran empedu atau mengalami kerusakan fungsional pada fungsi ekskresi hepatik dan sekresi empedu.²⁹

Kolestasis neonatal dibagi menjadi dua kelainan, yaitu ekstrahepatik dan intrahepatik. Secara klinis bentuk kolestasis pada umumnya memiliki kemiripan. Perbedaan di antara atresia bilier, idiopatik neonatal hepatitis dan kolestasis intrahepatik sulit dibedakan.²⁹



Gambar 9. Algoritma Kolestasis Neonatal Intrahepatik dan Ekstrahepatik ²⁹

2.4 FAKTOR IMUNOLOGI PADA ATRESIA BILIER

Beberapa parameter imunologi diperiksa setelah prosedur Kasai untuk melihat aktivitas imunologis pada atresia bilier. Beberapa faktor, seperti CD68 dan molekul adesi intraseluler (ICAM-1), diduga berhubungan dengan kondisi paska operasi³⁰ Namun demikian, hati penderita atresia bilier menunjukkan suatu peradangan yang dimediasi sel-T.² *Antigen-Presenting Cells* (APC), seperti sel Kupffer, juga pernah dilaporkan, demikian pula sel CD4+ serta sel pembunuh alami (*NK cell*), yang dibedakan menjadi sel-T-helper 1 atau T-helper 2.³⁰

Aktivasi T-sel yang memproduksi sitokin dapat secara langsung merusak sel epitel atau merusak secara tidak langsung melalui rangsangan sel imun lain. Hal ini juga diperlihatkan bahwa sel imun periduktal pada atresia bilier memproduksi IL-12, IFN- γ , IL2, dan TNF α .²

Major histocompatibility complex (MHC) kelas I dan kelas II, yang penting dalam membantu sel-T mengenali antigen asing, juga telah dijelaskan, meskipun fungsinya pada atresia bilier masih dipertanyakan.³¹ Sebagai tambahan, ekspresi dari sel molekul adesi seperti ICAM-1, sel molekul adesi vaskuler, leukosit faktor antigen-1, molekul adhesi sel saraf dalam pengerahan leukosit, meningkat pada atresia bilier.³⁰ Sitokin, seperti interferon- α , *tumor necrotic factor*- β (TNF- β), dan osteopontin, berperan penting dalam memberi isyarat pada sel-T dan reaksi imun yang dimediasi makrofag dijumpai pada biopsi hati penderita atresia bilier.³²

Seluruh data ini mendukung hipotesis bahwa proses peradangan yang berlangsung pada hati penderita atresia bilier berhubungan dengan aktivitas sel-T dan sitotoksitas. Hal ini masih belum jelas apakah observasi ini merupakan hasil dari respons imun yang dirangsang oleh agen pencetus yang bersangkutan secara etiologi. Pencarian tanda genomik atresia bilier perlu dilakukan.³²

Aspek peradangan dihasilkan oleh kumpulan gen utama yang mengatur imunitas dan proses peradangan di hati penderita atresia bilier. Ekspresi yang berlebihan dari osteopontin dan interferon- γ sesuai dengan temuan di atas mendukung teori patogenesis peradangan pada atresia bilier. Pada titik ini, studi lebih lanjut sangat dianjurkan untuk menambah pengetahuan tentang latar belakang genetik pada proses atresia bilier.³³

2.5 PERCOBAAN PADA HEWAN

Pada atresia bilier, banyak percobaan telah dilakukan untuk mencakup saluran empedu ekstrahepatik pada spesies yang berbeda atau dengan cara menginfeksi tikus dengan reovirus. Pada percobaan pada bayi tikus yang diinfeksi secara oral dengan rotavirus resus, didapatkan penyumbatan yang permanen pada saluran empedu. Observasi ini merupakan titik permulaan dalam melakukan percobaan pada binatang untuk atresia bilier.³⁴ Studi lebih lanjut pada binatang percobaan memperlihatkan efek hepatotropik rotavirus resus yang mengganggu sistem bilier selama pemisahan imunologik ketika sistem

imun pada bayi tikus belum matang. Rotavirus resus menyebabkan respons imun yang dimediasi sel-T sehingga dapat menembus dan bersarang di hati³⁵ Studi ini didukung oleh studi lain yang mengamati bahwa interferon IFN- γ memainkan peran yang penting dalam perkembangan atresia bilier pada tikus percobaan.³⁶

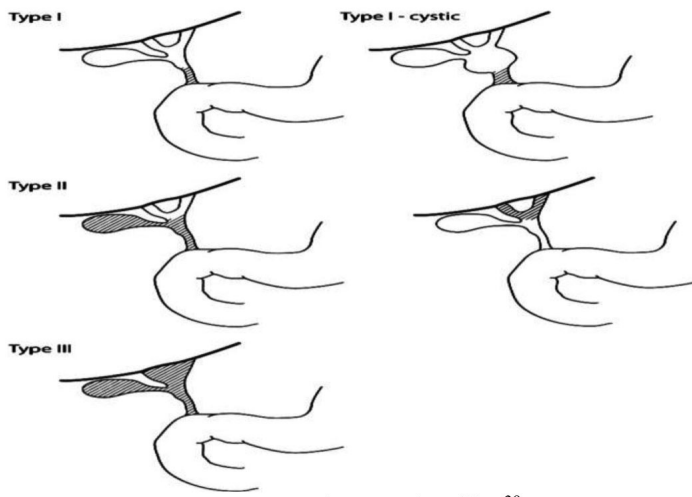
Meskipun memiliki kesamaan dalam kemajuan tentang atresia bilier antara studi hewan coba dan manusia, penemuan pada tikus tidak dapat dihubungkan secara langsung terhadap penyakit manusia. Hilangnya aliran patogenetik merupakan dasar biologi untuk atresia yang terlokalisasi pada ekstrahepatik, tetapi tidak pada saluran empedu intrahepatik. Reaksi peradangan arteriol yang dimediasi oleh interferon dan faktor autoimun, dapat merangsang transformasi *ischemia-related fibrotic* saluran empedu ekstrahepatik. Hipotesis ini sesuai dengan penelitian pada penderita atresia bilier, yang menjelaskan bahwa arteriopati terjadi pada arteri hepatica dan cabang-cabangnya serta mengenai seluruh cabang-cabang bilier.³⁷

Observasi ini mendukung hipotesis bahwa atresia bilier merupakan penyakit didapat dan menimbulkan anggapan baru tentang apakah atresia bilier adalah penyakit tunggal atau sebuah fenomena dari mekanisme patogenik superior. Penemuan patogenesis atresia bilier pada tikus percobaan masih diutamakan.³⁸

2.6 TIPE-TIPE ATRESIA BILIER

Terdapat tiga tipe atresia bilier secara anatomi (Gambar 10):³⁹

- a. Tipe 1: atresia pada distal saluran empedu dengan saluran hepatic yang jelas, kandung empedu, dan saluran kistik.
- b. Tipe 2: atresia pada saluran hepatic pada tingkatan yang berbeda. Dalam beberapa kasus, saluran empedu, saluran kistik, dan kandung empedu masih jelas tetapi atretik pada saluran hepatic.
- c. Tipe 3: tipe ini adalah tipe paling umum yang terjadi pada hampir 90% kasus. Seluruh sistem bilier ekstrahepatik termasuk saluran hepatic, kandung empedu, dan saluran empedu adalah atretik.



Gambar 10. Tipe Atresia Bilier³⁹

PATOFISIOLOGI DAN PATOGENESIS ATRESIA BILIER

Atresia bilier merupakan suatu sklerosis progresif saluran empedu ekstrahepatik yang terjadi pada 3 bulan pertama kehidupan bayi, merupakan salah satu penyebab utama kolestasis neonatal, dan penyebab lebih dari setengah jumlah anak yang menjalani transplantasi hati. Faktor prenatal dan perinatal memicu proses inflamasi fibroobliteratif saluran empedu tersebut dan menyebabkan pembuntuan lumen saluran bilier ekstrahepatik. Bila proses ini berlanjut, maka dapat terjadi sklerosis saluran empedu intrahepatik yang berujung pada terjadinya sirosis bilier.³

Patogenesis atresia bilier masih belum diketahui secara pasti. Adanya kelainan pembentukan duktus, paparan toksin, kelainan pembuluh darah, infeksi virus, dan keterlibatan sistem imun dalam terjadinya atresia bilier masih dalam penelitian. Prosedur Kasai yang dilakukan pada usia lebih muda memberikan harapan lebih baik, akan tetapi pada beberapa kasus perjalanan penyakit masih tetap progresif sehingga memerlukan transplantasi hati. Hal ini menandakan adanya proses destruktif yang terus berjalan meskipun bilier sudah dapat dialirkan.^{2,40,41}

Gangguan morfogenesis saluran empedu yang semula dipercaya sebagai penyebab utama, merupakan sebagian kecil dari penyebab atresia bilier. Penyebab potensial atresia bilier saat ini adalah tipe perinatal yang meliputi infeksi virus, kerusakan saluran empedu akibat reaksi imunologis, dan reaksi autoimun pada saluran empedu.² Dugaan keterlibatan sistem imun dalam terjadinya atresia bilier dimulai dengan studi pada tahun 1977 yang memberikan gambaran histologis adanya infiltrasi limfosit pada jaringan hati penderita atresia bilier,⁴² dan studi

pada tahun 1995 yang memberikan gambaran kerusakan degeneratif saluran intrahepatik berhubungan dengan infiltrasi limfosit pada sel epitel bilier.⁴³ Terdapat keterlibatan dominan sitokin proinflamasi interferon gamma (IFN γ), regulasi fas ligan dan apoptosis epitel saluran empedu, serta aktivasi limfosit T, dan makrofag di sistem porta pada penderita atresia bilier.³³ Molekul adhesi (ICAM-1) juga memainkan peranan penting dalam proses penghancuran struktur duktal dan parenkim sekitarnya yang dimediasi sistem kekebalan. Ekspresi HLA-DR diduga berperan dalam imunopatogenesis atresia bilier meskipun mungkin hanya bersifat sekunder.²⁰

Periode yang singkat antara lahirnya bayi dengan munculnya penyakit ini menunjukkan bahwa ketidakmatangan sistem imun neonatus dan kerentanan genetik mungkin juga menjadi faktor timbulnya atresia bilier.²² Dengan mengkaji dan memahami patogenesis atresia bilier yang disebabkan oleh sistem imun, diharapkan ada intervensi terapi yang baru pada kasus atresia bilier.

3.1 PERAN SISTEM IMUN DALAM PATOGENESIS ATRESIA BILIER

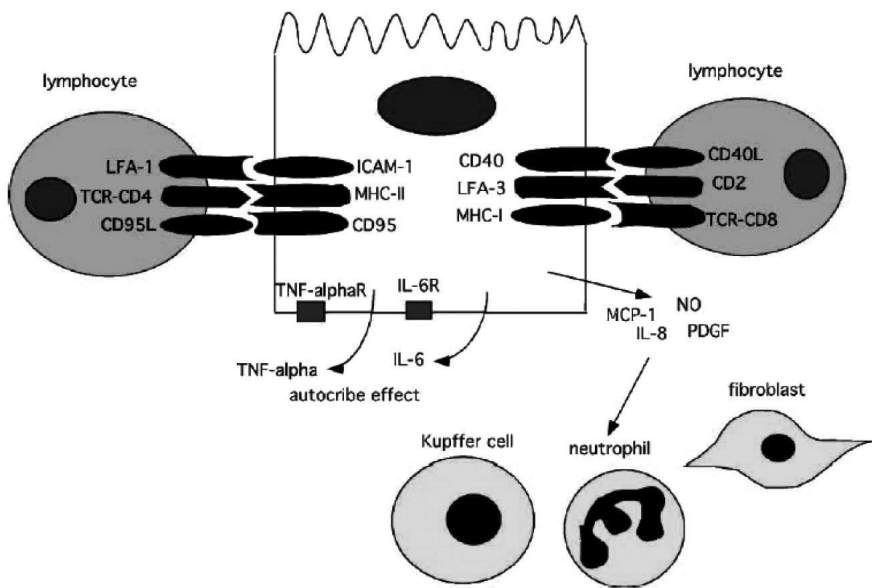
Keterlibatan sistem imun dalam patogenesis atresia bilier belum dapat dijelaskan secara pasti. Diperkirakan hampir 80% kasus atresia bilier merupakan kasus perinatal atau dapatan, dan 20% merupakan embrionik atau fetal. Sistem imun innate yang terdiri atas makrophag, neutrophil, *natural killer sel* (NK sel), sel epitel mukosa, dan sel endotel, mempunyai kemampuan mengenali dan menghancurkan mikroorganisme yang menyerang tanpa melalui proses pengenalan antigen antibodi. Sistem innate dan adaptif dapat bekerja sama dan saling mengisi dalam mempertahankan tubuh. Respons sistem imun innate lebih cepat dan langsung ke mikroorganisme.⁴⁴

3.1.1 Respons Imun Kolangiosit

Toll-like receptor (TLR) dan *nucleotide-binding protein oligomerization domain protein* (NODs) merupakan reseptor dalam pengenalan antigen oleh sel epitel bilier. Terdapat 10 TLR pada sel kolangiosit manusia.

Ekspresi berbagai TLR oleh kolangiosit berkaitan dengan kondisi lingkungan dan fungsi spesifik kolangiosit dalam respon sistem imun. Kondisi lumen bilier dalam kondisi normal steril, tetapi karena terhubung dengan duodenum, ekspresi TLR terjadi dalam kadar tinggi dan respon yang cepat untuk melindungi saluran bilier dari mikroba.^{14,44}

Aktivasi TLR terjadi karena adanya infeksi bakteri, virus, dan infeksi parasit yang diikuti oleh perubahan yang melibatkan respons sel epitel. Ketika TLR dan NODs terikat pada ligan, beberapa adaptor molekul melakukan perekrutan reseptor secara selektif dan membentuk reseptor–adaptor yang disebut “*signalosome*”. Interaksi TLR dan NOD secara ‘*downstream*’ memicu jalur sinyal *the nuclear κB* (NF-κB) dan *mitogen activated protein kinase* (MAPK). Kedua jalur ini merupakan komponen penting dalam mekanisme pertahanan oleh kolangiosit.^{14,44}



Gambar 11. Fungsi Sel Epitel Biliar dalam Molekul Adhesi⁶

Pengaktifan jalur NF- κ B melalui TLR atau NODs terjadi jika kolangiosit terpapar infeksi. Hal ini menyebabkan terjadinya inflamasi mukosa dan menginduksi respons imun. Aktivasi kolangiosit meningkatkan sintesis sitokin/kemokin seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) melalui TLR4 atau My88. Jalur MAPK menginduksi berbagai sinyal eksternal, memicu berbagai respons seluler, termasuk pertumbuhan, inflamasi, dan apoptosis. Pengaktifan jalur ini memicu peningkatan inflamasi termasuk sitokin, reseptor permukaan sel, molekul adhesi sel, dan protease matriks. LPS pada mikroba mengaktifkan imun innate melalui mekanisme kolangiosit yang memproduksi IL-6 dan IL-8 melalui TLR4-NF- κ B dan TLR4-MAPK.^{14,44}

Sel epitel bilier mengekspresikan ICAM-1, LFA3, dan CD40. Sel epitel bilier juga mengekspresikan MHC class I dan MHC class II, sehingga sel epitel bilier juga menjadi target sitotoksik, bisa juga berfungsi sebagai APC.⁶ Pengaktifan jalur sinyal intrasel melalui jalur pengenalan reseptor antigen memicu respons imun epitel pada kolangiosit. Pelepasan mediator inflamasi sitokin/ kemokin dan ekspresi adhesi molekul memulai respons inflamasi pada saluran bilier dan terjadi *crossstalk* dengan sel imun yang lain di hati. Produksi antimikroba yang dihasilkan dapat bekerja langsung pada saluran bilier.^{6,14}

Kolangiosit mengekspresikan dan mensekresi IL-8 dan monosit kemotatik protein-1 yang merupakan agen kemotatik yang penting bagi neutrofil, monosit, dan sel-T. Ekspresi sitokin dan kemokin oleh kolangiosit dapat menghasilkan rekrutmen dan aktivasi sel-T, makrofag, dan NK sel yang berguna melindungi saluran bilier dari infeksi/jejas.^{6,14}

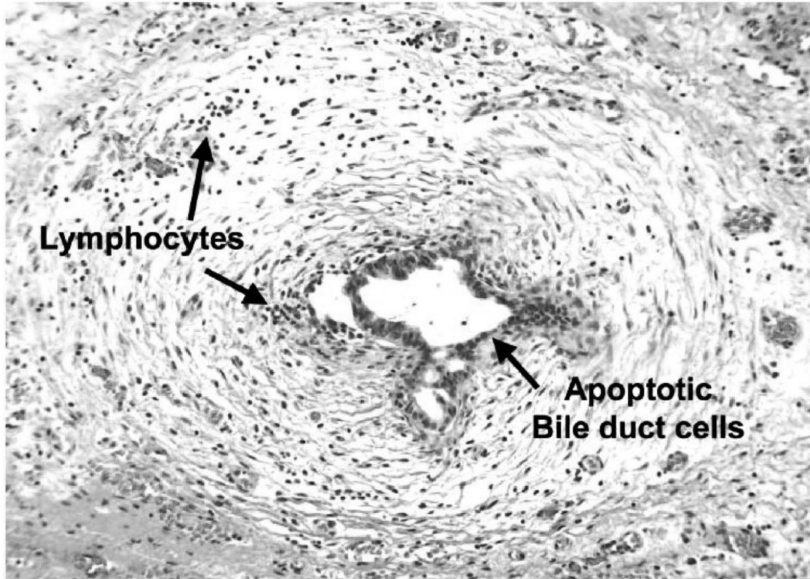
Ekspresi molekul adhesi pada permukaan, memungkinkan interaksi dengan sel lain di hati. Beberapa sel adhesi molekul permukaan yang lain di antaranya, *leukocyte functioning antigen* (LFA) 3, *human leukocyte antigen* (HLA-I), dan HLA II yang diekspresikan oleh kolangiosit. Adhesi molekul permukaan pada kolangiosit memungkinkan pengenalan dan perlekatan oleh limfosit dan mengaktifkan efektor limfosit sitotoksik. Interaksi tersebut meningkatkan intensitas dan lokalisasi reaksi inflamasi

di sistem bilier. Keberadaan LFA3 pada permukaan kolangiosit memungkinkan interaksi dengan molekul CD2 yang mengekspresikan sitotoksik limfosit T dan NK sel yang menimbulkan sel sitotoksik.⁶

Terdapat bukti kuat bahwa molekul adhesi memainkan peranan penting dalam kerusakan struktur duktal dan parenkim sekitarnya yang dimediasi kekebalan. ICAM-1 dianggap sebagai molekul adhesi yang paling penting. Pewarnaan VCAM-1 juga terlihat pada struktur saluran empedu penderita atresia bilier, tetapi ekspresinya bervariasi dan sporadis. Hal tersebut juga terlihat pada hepatosit lapisan dan membran sel sinusoidal di daerah peradangan aktif dan fibrosis. Saluran empedu pada hati dengan kolestasis dan hepatitis tidak mengekspresikan ICAM-1. Proliferasi saluran empedu tidak menghasilkan ekspresi molekul adhesi vaskuler. Tidak ada penyebab sirosis termasuk kolestasis yang dapat menginduksi ekspresi ICAM-1 (atau ekspresi MHC) pada saluran empedu. Penyakit hati yang melibatkan ekspresi duktal ICAM-1 hanya *primary biliary cirrhosis* dan *primary sclerosing cholangitis*.³³

Hal yang memperkuat dugaan peran ICAM-1 dalam imunopatogenesis atresia bilier adalah peningkatan kadar serum ICAM-1 (sICAM-1). Pada saat terjadi ekspresi ICAM-1 pada atresia bilier, yaitu pada sel epitel duktal maupun struktur parenkim termasuk sel lapisan sinusoidal dan hepatosit, kadarnya dalam serum dapat mewakili tingkat peradangan aktif dalam hati, namun tidak mencerminkan jumlah kerusakan duktal.³⁰

Fungsi lain dari kolangiosit adalah mengekspresikan *Major Histocompatibility Complex (MHC) class II* dan mempunyai kemampuan sebagai *antigen presenting cells (APC)*. Ekspresinya meningkat apabila terjadi jejas pada kolangiosit yang ditimbulkan oleh interferon- γ dan IL1. Efisiensi interaksi antara APC dan sel dendritik memerlukan MHC class II untuk menghadirkan molekul costimulator yang diekspresikan APC. Sistem imun innate mempunyai peran lebih besar dibanding sistem imun adaptif dalam memberikan respons imun terhadap jejas pada sel epitel bilier.^{6,41}



Gambar 12. Lumen Saluran Bilier yang Dikelilingi Infiltrat Limfosit ⁴¹

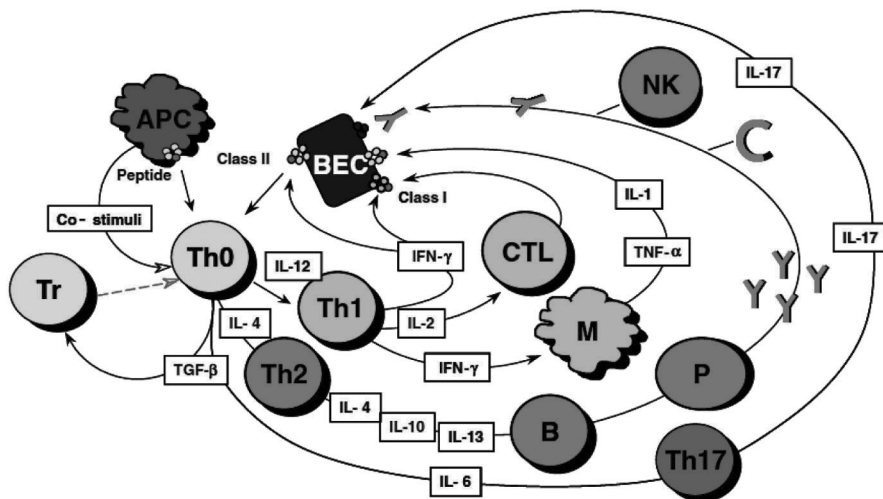
Lumen saluran bilier masih ada, tetapi dalam proses apoptosis, dan berkembang menuju sklerotik (Gambar 12). Pada saluran bilier ekstrahepatik pada pasien dengan atresia bilier, terjadi penumpukan jaringan fibrotik dan limfosit yang tersebar mengelilingi saluran bilier. Sementara itu, saluran bilier intrahepatik dikelilingi berbagai sel infiltrat yang terdiri atas sel limfosit, makrofag, dan eosinofil. Hal ini menunjukkan keterlibatan sistem imun dalam terjadinya atresia bilier.⁴¹

Sitokin, kemokin, dan reseptor kemokin yang diekspresikan oleh kolangiosit mampu merekrut dan mengaktifasi T-sel, makrofag, dan NK sel untuk perlindungan terhadap antigen.⁵ Namun demikian, sel epitel bilier juga merupakan target dari mediator inflamasi ataupun NK sel (hewan coba; tikus) selama proses infeksi, penyakit autoimun dan proses neoplastik/keganasan.^{45,46}

Beberapa mekanisme yang diduga melibatkan sistem imun dalam terjadinya atresia bilier, antara lain inflamasi yang dimediasi oleh sel limfosit T, aktivasi makrofag, dan proses autoimun.⁵

Inflamasi yang dimediasi sel limfosit T

Mekanisme kerusakan epitel duktus bilier masih belum diketahui secara jelas. Infeksi virus atau paparan toksin terhadap epitel bilier memicu ekspresi terhadap antigen baru atau antigen yang sudah dikenal. Pada individu tertentu, neoantigen dipresentasikan ke limfosit T *naive* oleh APC atau secara langsung sel epitel bilier mempresentasikan diri sebagai antigen molekul HLA I dan II. Pada pasien dengan atresia bilier, terjadi peningkatan jumlah makrofag hati dan sel Kupffer yang berperan sebagai APC. Th1 *prime* memulai respon imun yang merusak, dengan cara melepaskan pro inflamasi sitokin dan merekrut sel T sitotoksik. Kerusakan epitel saluran bilier akan dimulai secara progresif, diikuti proses fibrosis dan pada akhirnya pembuntuan saluran bilier.^{5,47}



Gambar 13. Sistem Imun yang Menyerang Sel Epitel Biliar⁵

Antigen dipresentasikan ke limfosit Th0 oleh MHC class II-APC. Th0 berdiferensiasi menjadi Th1 dan Th2, awal dari reaksi sistem imun. Ekspresi MHC class II juga mengaktifasi makrofag dan TNF- α . Kerusakan sel epitel bilier bisa disebabkan sel T sitotoksik, makrofag, NK sel, dan pelepasan sitokin oleh Th1 (Gambar 13). Sel epitel bilier

merupakan sel yang poten untuk membangkitkan sistem imun. Apabila terjadi suatu proses inflamasi, maka sel epitel bilier turut berperan secara aktif dengan mengekskresi sitokin dan mengekspresikan reseptor imun. Sebagai sel yang imun kompeten, sel epitel mampu mengenali mikroba ataupun infeksi agen yang lain melalui *pattern-recognition receptors* (PRRs) atau pengenalan reseptor. *Toll-like receptors* (TLR) adalah PRRs utama dalam mengenali PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*). Ada 10 TLR pada manusia yang diketahui sejauh ini, dan TLR4 dikenal sebagai mediator inflamasi terhadap LPS (liposacarida). Interaksi TLR4 dengan CD14 memicu terjadinya sinyal intraseluler dan diikuti TLR-associated adapter protein, *myeloid differentiation factor 88* (My88), dan *IL-1-receptor associated kinase* (IRAK)-1. Hal ini memicu aktivasi dari *nuclear factor- κ B* (NF- κ B) dan sintesa antibiotik serta sitokin inflamasi.^{46,48}

Aktivasi sel T memerlukan interaksi sel T dengan APC-berikatan dengan antigen melalui MHC *class I* (sitotoksik CD 8 Tsel) atau melalui MHC *class II* (helper CD4 T-sel). Dalam kondisi inflamasi, CD4-sel T akan terdiferensiasi menjadi sel efektor Th1 (dipicu oleh IL-12 dan memproduksi IFN- gamma, IL-2, TNF-alpha, dan TNF-beta) atau sel efektor Th2 (dipicu IL-4 dan memproduksi IL-4, IL-5, and IL-10).⁴⁵ Pada atresia bilier, sel T menginfiltrasi dan menginvasi di sekeliling saluran bilier, ditandai adanya predominan CD4 sel T, CD8 sel T atau campuran keduanya. Peningkatan ekspresi dari aktivasi limfosit (LFA-1, reseptor IL-2) dan proliferasi (reseptor tranferin) juga ditemukan pada saluran bilier.^{45,49}

Peran IL12 sebagai sitokin proinflamasi pada terjadinya atresia bilier masih belum diketahui dengan jelas. Peningkatan kadar sIL-2R ditemukan pada semua penderita atresia bilier. Pada pewarnaan imunohistokimia, ekspresi jaringan dari IL-2R menunjukkan ekspresi duktal yang kuat dari reseptor, baik pada spesimen normal maupun sakit. Studi pada hewan coba dilakukan dengan menghilangkan IL12 dan diharapkan dapat mengendalikan ekspresi sitokin sehingga mencegah terjadinya atresia bilier. Penghilangan IL12 pada objek tidak berpengaruh pada perjalanan obstruksi saluran bilier.⁵⁰

Pengaktifan sel efektor T menyebabkan produksi sitokin yang dapat secara langsung merusak sel epitel atau secara tidak langsung dengan cara pengaktifan sel imun yang lain. Studi terakhir menunjukkan bahwa hubungan terjadinya atresia bilier dengan inflamasi saluran terjadi akibat mediasi oleh sel Th1. Sel imun periduktuler juga ditemukan dan dapat memproduksi IL-12, IFN-gamma, IL-2, dan TNF-alpha. Pada hasil biopsi hati pasien dengan atresia bilier, ditemukan adanya peningkatan regulasi beberapa pro inflamasi (termasuk Th1 cytokines IFN-gamma dan osteopontin) dan penurunan regulasi Ig (diduga sebagai penghambatan jalur Th2).^{41,49}

Studi pada hewan coba menunjukkan bahwa neonatal CD8 memegang peranan penting dalam patogenesis eksperimen atresia bilier dengan RRV sebagai pemicunya. Sel CD8 mengaktifkan program proinflamasi pada masa intra uterin dan jejas saluran bilier ekstrahepatik. Kemampuan prime RRV-sel CD8 untuk melisis sel kolangiosit yang terinfeksi RRV maupun kolangiosit naive yang tidak terinfeksi dapat menyebabkan kerusakan saluran bilier ekstrahepatik.⁴⁶

Studi lain mencoba membuktikan hipotesis bahwa atresia bilier terjadi karena adanya pelepasan mediator inflamasi, yaitu kemokin. Studi tersebut dilakukan pada hewan coba dengan menggunakan RRV sebagai pemicu respons imun. Infeksi RRV akan memicu kolangiosit mengekspresikan kemokin, di mana kemokin akan menyebabkan proses inflamasi yang berakibat penyumbatan saluran bilier.⁵¹

Aktivasi Makrofag

Sistem imun yang dimediasi leukosit, meliputi *polymorphonuclear leukosit* dan makrofag pada sistem imun innate dan limfosit pada sistem imun adaptif. Sistem imun innate mencakup NK sel, sel epitel mukosal, dan sel endotel. Sel Kupffer juga berperan penting terhadap progresivitas inflamasi dan fibrosis. Saluran bilier pasien dengan atresia bilier dipenuhi oleh makrofag. Intensitas infiltrasi makrofag memengaruhi prognosis penyakit. Pada pasien yang tidak dilakukan portoenterostomi, juga didapatkan adanya peningkatan jumlah

makrofag. Jumlah intensitas aktivasi makrofag berhubungan dengan peningkatan aktivitas lisosom dan memberikan prognosis yang jelek pada pasien post portoenterostomi.^{40,41}

Makrofag yang teraktifasi memproduksi sitokin IL-12 dan IL-18 yang dapat memicu diferensiasi sel Th1. Makrofag juga mensekresi sitotoksik seperti TNF- α yang meningkat pada pasien atresia bilier. TNF- α melalui ikatan reseptor memicu apoptosis. Sel yang nekrotik meninggalkan jejas epitel bilier secara permanen. Pada atresia bilier, hampir 50% sel epitel bilier mengalami apoptotik dibandingkan pada non atresia bilier yang hanya sekitar 2,5-3,6%.²

Jalur lain yang dapat memicu kematian sel epitel bilier adanya interaksi Fas-ligand (Fas-L) dengan *Fas-bearing* sel. Fas-L sendiri, diekspresikan oleh sel T yang sudah diaktifasi dan makrofag. Studi sebelumnya telah menemukan adanya ekspresi yang kuat dari FasL pada atresia bilier. Adanya ekspresi Fas-L di saluran bilier berhubungan dengan buruknya prognosis.⁵²

3.2 ATRESIA BILIER SEBAGAI PENYAKIT AUTOIMMUN

Ada beberapa pendapat yang menyatakan bahwa atresia bilier adalah suatu penyakit autoimun. Pada atresia bilier, penderita wanita lebih banyak dibanding laki-laki. Proses sering dipicu oleh infeksi virus dan adanya ekspresi HLA penderita atresia bilier. Progresivitas perjalanan penyakit yang tidak berkurang setelah dilakukan tindakan pengaliran bilier dengan prosedur Kasai menguatkan dugaan adanya serangan proses imun yang menetap atau terus-menerus. Jejas saluran bilier yang dipicu oleh infeksi virus mengakibatkan sel epitel bilier dikenali sebagai benda asing oleh sistem imun. Terjadinya proses mimikri, menyebabkan antigen virus tumpang tindih dengan antigen sel epitel bilier, sistem imun akan menyerang keduanya.^{2,44}

Berdasar kriteria Rose-Witebsky, suatu penyakit autoimun ditandai dengan adanya infiltrasi limfosit, adanya autoantibodi, atau autoantigen, adanya riwayat penyakit autoimun lain dalam keluarga, dan berkaitan dengan HLA. Pada atresia bilier ditemukan limfosit yang dominan di jaringan hati.²

Studi HLA ibu-anak pada penderita atresia bilier menunjukkan bahwa peningkatan kompartabilitas HLA ibu-anak ditemukan pada anak penderita atresia bilier. Dengan tingginya kompartabilitas HLA, diduga anak mempunyai kerentanan genetik untuk terjadinya atresia bilier meskipun mekanismenya belum diketahui dengan jelas. Derivat CD8 sel T, di mana sel ini dapat menyerang jaringan fetus selama masa awal kehamilan dapat memicu terjadinya atresia bilier.⁵³

Di samping adanya HLA kompartabilitas yang tinggi, *maternal microchimerism* juga berperan dalam terjadinya atresia bilier. *Maternal microchimerism* terjadi apabila ada sebagian kecil sel ibu dipindahkan ke janin. Konsekuensi *microchimerism*, fetus akan coba mengeliminasi atau sel maternal lolos sehingga menempel pada saluran bilier dan akan terjadi kerusakan akibat reaksi imun dari fetal. Proses *microchimerism* ditemukan pada penderita atresia bilier.⁵⁴

Keseimbangan antara APC dengan limfosit merupakan hal penting di hati, pada individu yang sehat tidak akan terjadi respons imun yang tidak tepat meskipun sistem imun di hati terpapar dengan antigen dalam jumlah besar. Aktivasi sel limfosit T oleh APC membutuhkan ekspresi MHC class II dan adanya *co-stimulator* ekspresi (B7). Hadirnya *co-stimulator* pada duktus bilier, hepatosit, dan sel endotel pembuluh darah hati akan menyebabkan terjadinya proses autoimun, dan terjadi fibrosis hati yang progresif dan hipertensi portal.⁵⁵

Studi sebelumnya menemukan adanya ANCA positif pada penderita atresia bilier dengan usia rata-rata penderita 7 bulan. Hal ini memungkinkan adanya autoantibodi yang ditemukan pada usia yang lebih muda. Studi lebih lanjut dan sampel yang lebih besar diperlukan untuk memberikan hasil yang lebih valid.⁵⁶

FIBROSIS HATI

Fibrosis hati merupakan proses pembentukan jaringan parut yang disebabkan perubahan deposisi matriks ekstraseluler di dalam hati akibat berbagai stimulus. Manifestasi fibrosis hati membutuhkan waktu sedikitnya beberapa bulan sampai tahun, dan jika berlanjut progresif proses fibrosis hati tersebut dapat berkembang menjadi sirosis hati.⁵⁷

Mekanisme terjadinya fibrosis hati diklasifikasikan dalam tiga kelompok utama, yaitu aktivasi kronis terhadap reaksi penyembuhan luka, stres oksidatif, serta perubahan interaksi dan transisi epitel mesenkim pada kolangiopati.⁵⁷ Aktivasi kronis terhadap reaksi penyembuhan luka pada fibrogenesis hati merupakan proses yang sama dengan penyembuhan luka pada organ dan sistem lain. Pada fibrosis hati terdapat keterlibatan *hepatic stellate cell* (HSC), *growth factor*, sitokin, dan kemokin.⁵⁸

Kolangiopati sebagai reaksi duktus (proliferasi sel-sel duktus empedu atau kolangiosit) diketahui sebagai *pace-maker* terjadinya fibrosis portal. Proliferasi intensif sel-sel epitel (kolangiosit) ini berhubungan dengan perubahan signifikan pada sel-sel mesenkim di sekitarnya (awalnya adalah fibroblas portal dan kemudian *hepatic stellate cell* (HSC) dengan invasi parenkim dan matriks ekstra selluler (ECM).⁵⁹ Atresia bilier merupakan penyebab terbanyak kolestasis ekstrahepatik. Proliferasi kolangiosit juga terjadi sebagai mekanisme kompensasi dari obstruksi duktus ekstrahepatik dan jika berlanjut progresif dapat berakhir dengan sirosis bilier. Penelitian *in vivo* dengan cara ligasi duktus bilier pada hewan coba dilakukan untuk mempelajari hubungan proliferasi kolangiosit dan fibrosis hati.⁶⁰⁻⁶¹ Respons

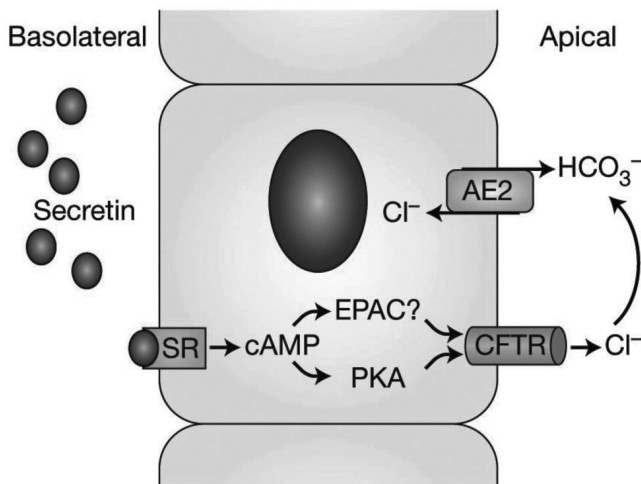
proliferasi kolangiosit selama kolestasis ekstrahepatik diregulasi oleh beberapa faktor yang berinteraksi secara kompleks, termasuk hormon-hormon gastrointestinal, neuroendokrin, dan mekanisme autokrin dan parakrin.⁶² Hingga saat ini, mekanisme yang mendasari peran proliferasi kolangiosit dalam proses fibrogenesis hati masih menjadi kajian lebih lanjut para ahli. Aktivasi proliferasi bilier diduga memiliki peran penting dalam inisiasi dan progresivitas terjadinya fibrosis hati.

4.1 FISILOGI KOLANGIOSIT

Hati adalah organ internal terbesar dalam tubuh dan memiliki dua tipe sel epitel, hepatosit, dan kolangiosit. Hepatosit meliputi hampir 70% dan kolangiosit sekitar 3-5% dari populasi sel-sel hati. Kolangiosit menempati sistem duktus bilier intra dan ekstrahepatik. Duktus-duktus dan duktuli bilier merupakan suatu sistem percabangan dari pipa-pipa saling terhubung yang mengumpulkan sekresi empedu dari membran-membran kanalikuli hepatosit untuk dialirkan ke kandung empedu atau duodenum. Meskipun kolangiosit memiliki proporsi sedikit dalam sel-sel hati, mereka memiliki peran patofisiologi yang penting dalam modifikasi terhadap komposisi empedu selama mengalir dalam duktus bilier. Proses tersebut mencakup sekresi dan absorpsi air, elektrolit, dan bahan-bahan organik terlarut lain dari hepatoseluler maupun saluran bilier.⁶² Salah satu fungsi kolangiosit adalah ekskresi bikarbonat ke dalam empedu yang distimulasi oleh sekretin. Reseptor sekretin merupakan bagian dari reseptor berpasangan pada Protein G yang memberi sinyal melalui aktivasi *adenylyl cyclase* dan protein kinase A (PKA).⁶³

Di dalam hati, reseptor sekretin hanya diekspresikan oleh kolangiosit pada membran basolateral. Sekretin menstimulasi sekresi duktus bilier melalui suatu proses yang terkoordinasi (Gambar 1). Pada awalnya, sekretin menempel pada reseptor sekretin basolateral, sehingga menginduksi peningkatan cAMP intraseluler. Peningkatan cAMP intraseluler mengaktivasi PKA. PKA memfosforilasi *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR) yang memicu terbukanya kanal Cl⁻ sehingga terjadi sekresi ion Cl⁻ pada membran apikal

kolangiosit yang membangkitkan depolarisasi membran. Efluks Cl^- dari CFTR menciptakan *gradient* Cl^- sehingga terjadi aktivasi di apikal, di mana terjadi pertukaran $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, dan menghasilkan peningkatan sekresi dari sekretin.⁶⁴ Di samping mengaktifkan PKA, cAMP dan EPAC (*exchange proteins activated directly by cyclic AMP*) dapat juga meregulasi fungsi kanal Cl^- secara independen.⁶⁵



Gambar 14. Regulasi Sekretin dalam Sekresi Bikarbonat pada Kolangiosit⁶²

Kolangiosit merupakan satu-satunya tipe sel dalam hati yang mengekspresikan reseptor sekretin basolateral. Sekretin menempel pada Protein G melalui reseptornya (SR), menstimulasi kadar cAMP intraseluler yang menghasilkan aktivasi pKA. pKA memfosforilasi CFTR, yang selanjutnya menstimulasi efluks Cl^- dari domain apikal kemudian mengaktifasi $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger dan mensekresikan bikarbonat ke dalam empedu (Gambar 14).⁶²

Beberapa studi memperlihatkan ekspresi reseptor sekretin terjadi sebagai respons terhadap proliferasi kolangiosit pada kondisi hiperplasia bilier, seperti BDL, hepatektomi parsial, pemberian asam empedu jangka lama (seperti asam aurokolik), dan sirosis yang diinduksi pemberian CCl_4 (karbon tetraklorida) konsentrasi tinggi.^{63,66,67} Model hiperplasia kolangiosit ini berhubungan erat dengan peningkatan

sekretin sebagai stimulator koleresis yang ditandai oleh peningkatan ekspresi gen reseptor sekretin dan peningkatan kadar sekretin yang berfungsi sebagai stimulator bikarbonat. Respons terhadap sekretin dan ekspresi reseptor sekretin merupakan cara untuk mengevaluasi terjadinya proliferasi kolangiosit, tetapi beberapa peran lain sekretin dalam regulasi proliferasi kolangiosit belum dapat dijelaskan lebih lanjut.⁶⁶

Studi pada dekade terakhir memberi pemahaman tentang mekanisme seluler dan molekuler regulasi proliferasi saluran bilier secara mendalam. Proliferasi kolangiosit memperlihatkan *neuroendocrin phenotype* dengan mensekresi dan berespons terhadap sejumlah hormon, neuropeptida, dan neurotransmiter. Selama perjalanan kolestasis, kolangiosit dalam kondisi transdiferensiasi neuroendokrin yang diregulasi oleh sejumlah hormon neuroendokrin. Dalam transdiferensiasi neuroendokrin, proliferasi kolangiosit memberikan gambaran fenotip epitel neuroendokrin, yaitu ekspresi marker neuroendokrin seperti *chromogranin A*, *glycolipid A2-B4*, molekul adesi sel neural protein S-100, dan penambahan granula neuroendokrin.^{68,69,70}

Aktivasi fenotip neuroendokrin pada kolangiosit, seperti yang terjadi pada sel stelata hati (HSC) selama perkembangan penyakit hati, memiliki peran kunci dalam progresivitas fibrosis bilier selama penyakit hati kolestatik (*primary biliary cirrhosis/PBC*) dan *primary sclerosing cholangitis/PSC* dengan target kolangiosit, sehingga menghasilkan peningkatan proliferasi saluran bilier dan atau apoptosis tergantung pada stadium penyakit ini.⁷¹

4.2 REGULASI DALAM PROLIFERASI KOLANGIOSIT

Proliferasi saluran bilier diregulasi oleh beberapa faktor yang berinteraksi secara kompleks, di antaranya hormon gastrointestinal, neuroendokrin, serta mekanisme autokrin dan parakrin.

4.2.1 Hormon Gastrointestinal

Peran sekretin dalam regulasi faal saluran bilier telah secara mendalam dipelajari. Hormon gastrointestinal, somatostin, dan

gastrin menghambat respons kolangiosit terhadap sekretin melalui penghambatan pada kadar cAMP intraseluler yang diinduksi oleh sekretin dan ekskresi bikarbonat ke dalam bilier.⁶² Somatostatin dan gastrin juga menghambat proliferasi kolangiosit.⁶⁷

Aksi antiproliferasi oleh somatostatin terjadi pada saat interaksinya dengan reseptor somatostatin subtipe 2 (SSTR2) dan telah dipelajari baik *in vitro* maupun *in vivo* oleh beberapa peneliti.⁷² *Octreotide* sebagai analog somatostatin menurunkan proliferasi kolangiosit dan deposisi matriks ekstraseluler periportal (proses fibrosis) akibat respons terhadap obstruksi bilier. Pada kolangiosit besar yang diisolasi dari tikus coba dengan *bile duct ligation* (BDL), somatostatin menghambat baik ekspresi maupun proliferasi reseptor sekretin melalui evaluasi dengan pengukuran sintesis DNA dan ekspresi histone H3.⁶⁰

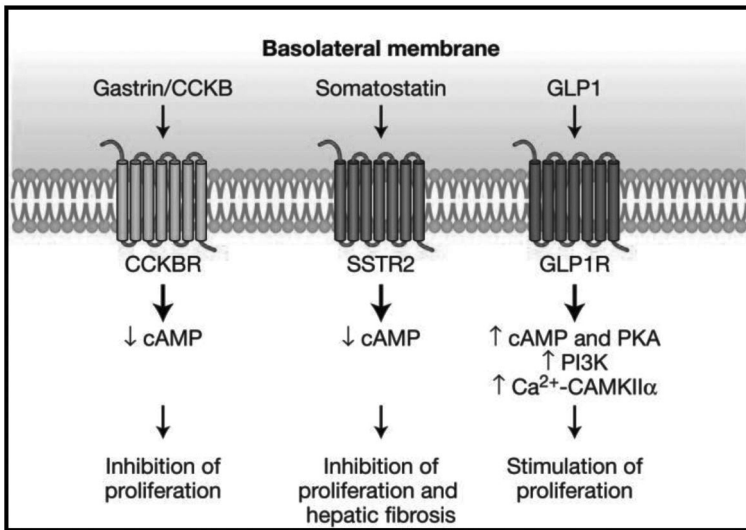
Studi tentang *polycystic kidney* (PCK) pada tikus coba (model PCK autosomal resesif) menunjukkan bahwa *octreotide* dapat menghambat proliferasi kolangiosit dan mereduksi fibrosis hati. Studi ini memberi bukti kuat untuk penggunaan *octreotide* dalam terapi pasien dengan *polycystic liver disease* dan menjadi indikasi bahwa *octreotide* mungkin dapat mereduksi fibrosis bilier dalam penyakit hati yang lain.⁷³

Seperti somatostatin, gastrin juga menghambat sekresi duktus dan menghambat kadar cAMP yang keduanya diinduksi oleh sekretin melalui interaksi dengan reseptor *cholecystokinin-B* (CCK-B). Pemberian gastrin jangka lama telah terbukti dapat menghambat proliferasi kolangiosit pada tikus coba dengan BDL. Di samping itu, pada saat gastrin diberikan pada tikus coba dengan BDL, terjadi pembalikan (reversal) proses proliferasi kolangiosit.⁶⁶

Pentingnya peran sinyal cAMP intraseluler sebagai sebuah regulator dalam proliferasi kolangiosit juga didemonstrasikan dengan pemberian forskolin (aktivator adenilat siklase) pada tikus coba yang normal. Dibandingkan dengan binatang kontrol, pemberian forskolin jangka lama pada tikus normal dapat meningkatkan jumlah duktus empedu, kadar cAMP intraseluler dan sekretin penginduksi kolerasis, seperti yang terjadi pada binatang coba dengan BDL. Forskolin juga menstimulasi proliferasi kolangiosit terisolasi yang diblok oleh inhibisi

jalur PKA–Src–MEK–ERK1/2 sehingga memberikan bukti awal bahwa jalur sinyal merupakan titik kritis pada proliferasi kolangiosit.⁶⁷

Studi lain mendapatkan bahwa *glucagon-like peptide 1* (GLP1) dapat memodulasi respons adaptasi kolangiosit terhadap kolestasis. Sebagai tambahan terhadap peran modulasi homeostasis glukosa, GLP-1 menginduksi fenotip neuroendokrin sel duktus pankreas yang memiliki kesamaan asal muasal dan gambaran seperti kolangiosit. Baik GLP-1 maupun reseptor antagonis ekstendin-4, bersama-sama memiliki efek yang sama dalam menstimulasi proliferasi kolangiosit pada tikus kontrol dan tikus dengan BDL. Kolangiosit pada binatang coba dengan BDL mengekspresikan mRNA untuk preglukagon sebagai prekursor GLP1, namun tidak pada tikus normal. Penemuan ini menunjukkan bahwa GLP1 penting dalam proliferasi saluran bilier selama kolestasis. Pemberian extendin-4 secara signifikan menurunkan masa duktus dan aktivitas fungsional bilier pada tikus BDL. Efek proliferasi GLP1 dimediasi melalui mekanisme sinyal phosphoinositide 3-kinase, cAMP–PKA dan Ca²⁺–CAMKII α yang menunjukkan pentingnya sinyal cAMP dalam regulasi proliferasi bilier selama kolestasis (Gambar 15).⁷⁴



Gambar 15. Regulasi Proliferasi Kolangiosit oleh Hormon-Hormon Gastro Intestinal ⁶²

Kolangiosit mengekspresikan CCKBR, SSTR2, dan GLP1R reseptor ganda protein G pada membran basolateralnya. Hormon GI seperti gastrin dan somatostatin keduanya menghambat proliferasi kolangiosit melalui mekanisme penghambatan terhadap peningkatan kadar cAMP. Octreotide sebagai analog somatostatin menghambat fibrosis hati pada model penelitian tikus PCK dan tikus yang saluran empedunya diligasi, mengindikasikan adanya potensi untuk membatasi fibrosis hati yang dikaitkan dengan proliferasi bilier melalui target SSTR2. GLP1 menstimulasi proliferasi kolangiosit dengan meningkatkan kadar cAMP intraseluler dengan aktivasi PI3K dan Ca²⁺-CAMKII α secara konkomitan.⁶²

4.2.2 Asam Empedu

Asam empedu terakumulasi selama kolestasis menghasilkan pemaparan dan menimbulkan efek yang besar terhadap kolangiosit. Asam empedu juga mempunyai efek yang bervariasi pada fungsi, apoptosis, dan pertumbuhan saluran bilier. Secara *in vitro*, baik *taurocholate* dan *tauroolithocholic acid* (TLC) dapat menstimulasi proliferasi kolangiosit dan meningkatkan respons sekretin penginduksi cAMP, dan aktivitas pertukaran Cl⁻/HCO₃⁻ pada kolangiosit tikus yang diisolasi.⁷⁵ Kolangiosit berekspresi pada *Na⁺-dependent bile acid transporter* (ASBT) pada membran apikal sehingga menghasilkan sebuah mekanisme untuk mediasi uptake/pengambilan asam empedu.⁷⁶

Konsep bahwa asam empedu menstimulasi proliferasi bilier diperluas melalui model *in vivo*. Tikus normal diberi makan *taurocholate*/TLC (1%) selama 1–4 minggu dengan tujuan untuk menggambarkan akumulasi asam empedu yang diobservasi selama kolestasis. Didapatkan bahwa selama pemberian makan tersebut, terdapat peningkatan proliferasi kolangiosit, ekspresi gen reseptor sekretin, dan kadar cAMP yang terinduksi sekretin. Kolangiosit dari tikus-tikus coba dengan BDL menggambarkan aliran empedu yang terstimulasi sekretin dan sekresi bikarbonat yang tidak terdeteksi pada kontrol. Pemberian *taurocholate* dan TLC juga menunjukkan peningkatan ekspresi *Slc10a2* kolangiosit pada mekanisme PKC-dependent yang mengindikasikan

adanya hubungan antara proliferasi kolangiosit dengan akumulasi asam empedu selama kolestasis. Pemberian *ursodeoxycholate* dan *taurodeoxycholate* menunjukkan inhibisi proliferasi kolangiosit pada tikus coba dengan BDL baik in vivo maupun in vitro.⁷⁷

Sekretin telah diketahui mampu menstimulasi translokasi *colchicine-sensitive ASBT* menuju ke membran plasma kolangiosit, di mana hal tersebut berhubungan dengan peningkatan penyerapan taurokolat yang lebih besar daripada sekresi lipid bilier dan aliran empedu yang diharapkan, serta pemanjangan waktu transit taurokolat pada saluran bilier. Penelitian tersebut memberikan bukti tentang sekretin yang menstimulasi "*cholehepatic shunting*" asam empedu melalui peningkatan kadar ASBT pada membran apikal.⁷⁸

4.2.3 Faktor Angiogenik

Pleksus peribilier (*peribiliary vascular plexus/PBP*) berasal dari arteri hepatica yang memberi nutrisi epitel bilier dan masuknya bahan lain seperti VEGF (*vascular endothelial growth factor*) dan faktor angiogenik lain yang direabsorpsi dari empedu kembali ke hepatosit. Sekresi VEGF dilakukan oleh sejumlah sel epitel yang mengatur fungsi sel melalui mekanisme autokrin dan parakrin. Pada kondisi kolestasis VEGF merupakan regulator kunci dalam proliferasi kolangiosit. Proliferasi kolangiosit diikuti dengan ekspansi PBP dalam cabang bilier intrahepatik. Hal tersebut menandakan adanya mekanisme komunikasi silang ("*crosstalk*") antara kolangiosit dan sel vaskular, sebuah interaksi yang memberi mediasi perubahan adaptif sel bilier dan sistem mikrovaskular pada penyakit hati kolestatik.⁷⁹

Kolangiosit mengekspresikan reseptor VEGF (VEGF2 dan VEGF3) dan berespons terhadap VEGF-A dan VEGF-C dengan meningkatkan proliferasi. Pada model BDL, kolangiosit melakukan regulasi ekspresi protein VEGF2 dan VEGF3, serta menyekresinya sehingga terjadi peningkatan kadar VEGF dibandingkan kolangiosit normal. Selama ligasi saluran empedu, VEGF, VEGF-A, dan VEGF-C menurunkan proliferasi bilier. Pentingnya peran *growth factor* ini selama proliferasi bilier juga dapat menimbulkan imunoneutralisasi, dilihat dari

peningkatan proliferasi kolangiosit pada tikus normal yang diberi rekombinan VEGF-A dan VEGF-C jangka lama.⁸⁰

Pemutusan aliran darah arteri hepar dengan ligasi (*hepatic artery by ligation/HAL*) pada tikus dengan BDL dapat menginduksi.⁸⁰

1. Hilangnya PBP
2. Peningkatan apoptosis kolangiosit dan memperlemah proliferasi bilier dan sekretin stimulator sekresi duktus
3. Menurunkan sekresi VEGF kolangiosit

Pengaruh HAL pada PBP dan fungsi kolangiosit dapat dicegah oleh pemberian antagonis reseptor VEGF (r-VEGF-A). Dengan mempertahankan integritas PBP dan menghambat proliferasi kolangiosit, maka akan mencegah apoptosis dan kerusakan fungsional duktus bilier akibat iskemik.⁸⁰

Berlawanan dengan efek hormon GI (GLP1), VEGF menginduksi proliferasi kolangiosit dengan mengaktivasi jalur *inositol-(1,4,5)-trisphosphate (IP3)-[Ca²⁺]_i-PKC α* dan memfosforilasi Src dan ERK1/2. Penelitian ini menyatakan bahwa VEGF meregulasi proliferasi kolangiosit dengan mekanisme autokrin melalui regulasi sekresi VEGF yang diinduksi kolestasis.⁸⁰

Dalam kasus *autosomal dominant polycystic kidney disease* (ADPKD) dan penyakit Caroli terjadi ekspresi VEGF, VEGFR1, VEGFR2, dan Ang-2 pada kolangiosit, serta ekspresi Ang-1 dan Tie-2 pada kasus ADPKD. VEGF menstimulasi pertumbuhan kolangiosit normal dan ADPKD (kolangiositnya lebih besar). Ekspresi VEGF pada kolangiosit berkorelasi positif dengan kepadatan mikrovaskular dan ekspresi VEGF, VEGFR, Ang-1, serta Tie-2 lebih besar pada kolangiosit ADPKD. *Vascular endothelial growth factor/VEGF* dan Ang-1 memiliki efek proliferasi autokrin pada pertumbuhan kolangiosit dan efek parakrin pada vaskular traktus portal, karena itu dapat mempertahankan pertumbuhan kista dan suplai vaskular.⁸¹

Inhibisi reseptor VEGF dengan SU-5416 dapat memblokir pertumbuhan kista hepar pada hewan coba (tikus), sehingga menunjukkan bahwa jalur sinyal VEGF merupakan target terapi yang penting pada kista hepar pada kasus ADPKD. Kolangiosit merupakan

sumber utama produksi *endothelin-1* (ET-1) hati pada perkembangan sindrom hepatopulmonar setelah BDL, mengindikasikan bahwa *cholangiocyte-derived ET-1* mungkin menjadi mediator endokrin yang penting pada eksperimen sindrom hepatopulmonar. Studi tentang peran faktor angiogenik seperti angiopoietin dan ET-1 pada pertumbuhan dan pengaruh neuroendokrin pada kolangiosit masih sangat diperlukan.⁸²

4.2.4 Nerve Growth Factor, Neuropeptida, dan Neurotransmitter

Kolangiosit mengekskresikan reseptor M3 asetilkolin (ACh). Melalui aktivitas sub tipe reseptor M3, ACh menginduksi *Ca⁺-calcineurine* menjadi mediasi potensi sekretin untuk menginduksi aktivitas *adenylyl cyclase*. Peran ACh dan sistem kolinergik dalam regulasi proliferasi kolangiosit juga dieksplorasi pada model tikus BDL yang dilakukan total vagotomi. Vagotomi dapat memperbaiki (menurunkan) proliferasi kolangiosit dan memperkuat apoptosis sebagai respons BDL.⁸³

Sekretin yang menginduksi koleresis dari tikus BDL juga dieliminasi secara nyata dengan vagotomi yang diperlihatkan dengan penurunan kadar cAMP kolangiosit. Dengan mempertahankan kadar cAMP kolangiosit melalui pemberian forskolin dapat mencegah efek vagotomi pada proliferasi kolangiosit, apoptosis, dan sekresi. Hal tersebut menunjukkan pentingnya inervasi kolinergik pada regulasi duktus bilier, seperti disebutkan sebelumnya bahwa proliferasi kolangiosit tergantung pada mekanisme sinyal dan tergantung pada cAMP.⁸³

Inervasi simpatis adalah perlu baik untuk proliferasi hepatosit ataupun kolangiosit selama regenerasi hati. Denervasi adrenergik pada tikus BDL melalui pemberian injeksi *6-hydroxidopamine* (6-OHDA) intraportal secara tunggal memberi efek.⁸⁴

1. Inhibisi proliferasi kolangiosit dan jumlah duktus bilier
2. Menurunkan sekretin penginduksi koleresis dan kadar cAMP kolangiosit
3. Meningkatkan jumlah kolangiosit yang mengalami apoptosis

Pemberian jangka lama clenbuterol (agonis β 2-adrenergik) dan dobutamin (agonis β 1-adrenergik) mencegah penurunan kadar cAMP dan sekresi yang diinduksi *6-OHDA-induced denervation*, sehingga mempertahankan proliferasi kolangiosit dan menurunkan apoptosis kolangiosit. Induksi apoptosis kolangiosit oleh denervasi adrenergik (pemberian 6-OHDA) dicegah oleh pemberian taurokolat, yang juga mengembalikan proliferasi kolangiosit dan sekretin-penginduksi sekresi duktus. Hal tersebut menunjukkan bahwa inervasi adrenergik memiliki peran kunci dalam regulasi proliferasi kolangiosit selama regenerasi dan proliferasi yang berhubungan dengan kolestasis dan dapat menjadi target terapi.⁸⁴

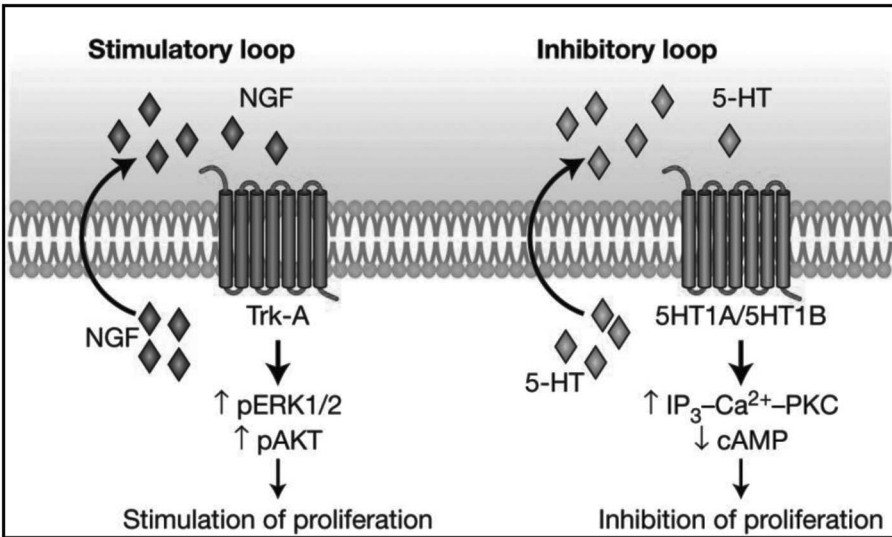
Serotonin memiliki peran kunci dalam regulasi autokrin/parakrin pada proliferasi kolangiosit. Serotonin diduga berperan dalam terjadinya pruritus dan kelemahan yang merupakan gambaran klinis PBC. Kolangiosit mengekspresikan reseptor serotonin 1A dan 1B. Stimulasi reseptor serotonin menghambat pertumbuhan kolangiosit tikus selama kolestasis melalui mekanisme sinyal IP_3 - Ca^{2+} -PKC dan menghasilkan penurunan sinyal proliferasi oleh *cAMP-dependent*. Hiperplasia kolangiosit yang diisolasi dari tikus coba BDL menyekresi serotonin dan meningkatkan proliferasi kolangiosit sebagai respons kolestasis, baik *in vivo* maupun *in vitro*. Jika sekresi serotonin dinetralisasi secara imunologis, sekretin memberi keseimbangan respons proliferasi yang berlebihan pada epitel bilier selama kolestasis.⁷⁰

Studi terakhir menyatakan bahwa kolangiosit menyekresi NGF (*nerve growth factor*). *In vitro*, NGF menstimulasi proliferasi kolangiosit melalui mekanisme AKT- dan *ERK1/2-dependent*. *In vivo*, imunoneutralisasi NGF selama BDL pada tikus menghasilkan penurunan masa bilier dan reduksi proliferasi dan memperkuat apoptosis.⁸⁵

Regulasi proliferasi kolangiosit oleh stimulator dan inhibitor autokrin atau parakrin saluran bilier seperti serotonin dan NGF selama kolestasis memiliki peran penting dalam patogenesis penyakit hati kolestatik (Gambar 16).

Selama kolestasis, kolangiosit menyekresi kadar NGF lebih tinggi, yang menstimulasi proliferasi kolangiosit dalam mekanisme parakrin

dan autokrin melalui aktivasi Trk-A pada membran basolateral kolangiosit yang meningkatkan aktivitas ERK1/2 dan AKT. Sebaliknya, selama kolestasis, kolangiosit menyekresi kadar 5-HT lebih tinggi yang secara negatif mengatur proliferasi kolangiosit melalui aktivasi mekanisme sinyal IP₃-Ca²⁺-PKC dependent, yang dihasilkan dalam downregulasi kadar cAMP intraseluler.⁶²



Gambar 16. Feedback autokrin dan parakrin penstimulus maupun penghambat dalam mengontrol proliferasi kolangiosit ⁶²

Peptida aminergik dan neurotransmitter histamin bertanggung jawab pada banyak fungsi di dalam tubuh, seperti fungsi neurogenik, respons alergi, dan inflamasi, serta sekresi gaster. Kolangiosit mengekspresikan semua protein G yang berpasangan dengan sub tipe reseptor histamin (HRH1, HRH2, HRH3 and HRH4); tetapi ekspresi H3R secara signifikan meningkat pada proses proliferasi kolangiosit setelah BDL. Aktivasi H3R melalui pemberian jangka lama agonist (*R*)-(α)-(-)-*methylhistamine dihydrobromide* (RAMH) terhadap tikus coba selama 7 hari setelah BDL menghasilkan penurunan pertumbuhan cabang bilier tanpa perbedaan kecepatan apoptosis. Hasil tersebut memberi dugaan bahwa aktivasi H3R memperlambat proliferasi

dan mereduksi jumlah kolangiosit melalui mekanisme kematian sel. Pemberian histamin pada hewan coba (dengan kolestasis) juga menghasilkan penurunan proliferasi kolangiosit dan dengan memblokir aksi histamin menggunakan antagonis H3R selektif (*thioperamide maleate*) menghasilkan pembalikan efek tersebut secara parsial.⁸⁶

Inervasi sensoris pada hati dan ekspresi bilier α -type calcitonin gene-related peptide 1/ α -CGRP meregulasi proliferasi kolangiosit selama kolestasis yang diinduksi dengan BDL. Calcitonin gene-related peptide/CGRP adalah peptida vasodilator poten yang berperan dalam regulasi tonus vaskular dan aliran darah organ regional dan hilangnya α -CGRP menurunkan massa duktus intrahepatik pada tikus-tikus coba dengan BDL. In vitro, baik α - dan β -CGRP menstimulasi proliferasi kolangiosit BDL melalui aktivasi PKA dan CREB. Hasil studi tersebut menyatakan bahwa inervasi penting untuk regulasi proliferasi bilier dan neuropeptida sensoris lain seperti substansi P yang memiliki peran dalam inflamasi kronis pada kondisi kolangiopati tertentu.⁸⁷

4.2.5 Hormon Steroid

Hormon steroid seperti estrogen dan progesteron menunjukkan aktivitas proproliferatif pada sejumlah tipe sel. Sejak diketahui PBC memengaruhi wanita umur pertengahan secara kuat (saat kadar estrogen dan progesteron turun), peran estrogen dan progesteron dalam regulasi proliferasi bilier, khususnya selama kolestasis mulai banyak diteliti.⁸⁸

Kolangiosit mengekspresikan reseptor estrogen subtipe ER- α dan ER- β . Jumlah ER- β meningkat pada kolangiosit yang diisolasi dari tikus dengan BDL selama 3 minggu dibandingkan kontrol. Saat kolangiosit distimulasi in vitro dengan *17- β -estradiol*, proliferasi meningkat secara signifikan melalui aktivasi ER- *dependent* dalam mekanisme sinyal Src-Shc-ERK1/2.⁶⁹

Saat tikus betina BDL diterapi in vivo dengan anti estrogen seperti tamoxifen atau ovariektomi, pertumbuhan cabang-cabang bilier mengalami reduksi secara dramatis, dan kolangiosit mengalami kematian melalui apoptosis. Studi ini menunjukkan bahwa estrogen

dapat menyebabkan terjadinya duktopenia. Ekspresi ER pada kolangiosit direduksi pada pasien dengan PBC stadium akhir dan modulator ER memperbaiki serum parameter kolestasis pada pasien PBC.⁸⁹

Hormon progesteron menstimulasi proliferasi kolangiosit, baik tikus jantan atau betina. Kolangiosit mengekspresikan reseptor nukleus PRB dan beberapa reseptor membran untuk progesteron (PRGMC1, PRGMC2 dan mPR α). Progesteron meningkatkan jumlah duktus bilier pada tikus normal di mana antibodi antiprogesteron menghambat pertumbuhan kolangiosit pada tikus BDL. Kolangiosit normal dan BDL berekspresi pada jalur biosintesis yang memproduksi dan mensekresi progesteron.⁸⁹

Studi sebelumnya yang secara in-vitro dilakukan pada sel kolangiosit tikus normal menunjukkan bahwa,⁸⁹

1. Progesteron meningkatkan proliferasi kolangiosit
2. Supernatan yang diambil dari kolangiosit normal dan BDL meningkatkan proliferasi kolangiosit yang secara parsial dihambat dengan anti progesteron
3. Inhibisi steroidogenesis progesteron dengan aminoglutetimide mencegah proliferasi kolangiosit.

4.2.6 Faktor-Faktor Lain

Kolangiosit adalah tipe sel target pada jalur *growth hormone* (GH), *Insulin like growth faktor-1* (IGF1). *Growth hormone* menginduksi ekspresi dan pelepasan IGF1 pada kolangiosit yang diisolasi yang berhubungan dengan pertumbuhan sel oleh stimulasi IGF1.⁹⁰

Ekspresi isoform-isoform IGF1 pada hepatosit dan kolangiosit tikus merupakan proteksi cedera hati kolestatik. Aksi lokal isoform IGF1 (yang diekspresikan hepatosit dan kolangiosit) menurun selama kerusakan sel dan meningkat selama proliferasi sel. Di samping itu, “aksi lokal” IGF1 lebih aktif daripada isoform “sirkulasi” dalam memproteksi kolangiosit dari *glycochenodeoxycholate-induced cytotoxicity*. Penemuan-penemuan tersebut menunjukkan adanya stimulus autokrin atau parakrin loop pada proliferasi kolangiosit.⁹¹

Interaksi CD44 dan asam hialuronat juga merupakan faktor proliferasi untuk kolangiosit pada kolestasis. CD44 merupakan molekul adesi sel multifungsional yang memiliki peran dalam proses interaksi sel dan matriks sel. Asam hialuronat sebagai komponen utama ECM merupakan ligan primer dari CD44. Kadar ekspresi CD44 hepatic yang tinggi ditemukan pada pasien dengan PSC dan kolangiokarsinoma. Interaksi antara CD44 dan hyaluronan mungkin memiliki peran patogenik dalam perkembangan penyakit hati kolestatik melalui penguatan proliferasi bilier.⁹²

4.3 PERAN KOLANGIOSIT DALAM FIBROGENESIS HATI

Proliferasi kolangiosit berhubungan dengan sekresi faktor profibrotik. Selama fibrosis bilier, proliferasi sel epitel duktus bilier adalah sumber predominan profibrogenik dari CTGF (*connective tissue growth factor*). Hal tersebut juga berlaku untuk HSC, di mana sel epitel duktus bilier yang teraktivasi adalah sumber penting untuk CTGF profibrogenik selama fibrosis bilier.⁹³

Sel-sel epitel dari duktus bilier yang baru terbentuk mengekspresikan mRNA untuk $\alpha 1(IV)$ *procollagen*, menunjukkan bahwa proliferasi kolangiosit adalah sumber kolagen hati selama fibrosis. Ekspresi *transforming growth factor- $\beta 2$* (TGF- $\beta 2$) merupakan bahan spesifik proliferasi sel epitel duktus bilier dan ekspresinya berhubungan dengan formasi jaringan ikat periduktus (*specialised periductular connective tissue*) selama proliferasi duktus bilier.⁹⁴

Platelet-derived growth factor (PDGF) juga diekspresikan pada proliferasi kolangiosit selama eksperimen fibrosis hati dengan model tikus.⁹⁵ Sementara itu, pentoksifilin menghasilkan efek antifibrogenik dengan cara mereduksi *PDGF-induced ERK-dependent signalling* dan proliferasi sel yang memproduksi ECM.⁹⁶

Pemberian oral antagonis reseptor endothelin-A dapat memblokir sintesis dan deposit kolagen pada model penelitian tikus yang mengalami fibrosis hati. Bahkan, proliferasi kolangiosit merupakan sumber utama ET-1 hati yang berimplikasi pada proses terjadinya fibrosis hati. Target program profibrogenik yang diaktivasi pada

proliferasi kolangiosit dan faktor profibrogenik yang disekresi menjadikan terapi baru untuk penyakit hati yang berhubungan dengan fibrosis bilier berkembang pesat.⁹⁷

4.4 PROLIFERASI KOLANGIOSIT DAN AKTIVASI FIBROSIS PORTAL

Fibrosis hati selama kolestasis akut dan kronis mencakup proses bertahap dari “*ductular reaction*” yang menunjukkan peningkatan jumlah duktula disertai oleh leukosit polimorfonuklear dan peningkatan matriks, sebelum terjadi fibrosis periportal dan sirosis bilier. Proliferasi kolangiosit memiliki peran dalam menginduksi fibrosis baik secara langsung melalui transisi epitel-mesenkim (*epithelial–mesenchymal transition/EMT*), maupun secara tidak langsung melalui aktivasi tipe sel hati yang lain. *Epithelial mesenchymal transition* merupakan proses di mana sel epitel matur kehilangan kontak antar sel dan ekspresi protein sebagai pola karakter sel epitel dan mendapat karakter fenotip sel mesenkim (proses di mana sel-sel epitel matur kehilangan kontak antar sel dan ekspresi protein berbentuk sel epitel berubah menjadi sel mesenkim). Patogenesis fibrosis renal EMT menunjukkan mekanisme penting dalam menyediakan sumber miofibroblas fibrogenik. Dalam patogenesis fibrosis hati, EMT juga berimplikasi sebagai mekanisme kunci.⁹⁸

Data histologi menggunakan sampel manusia dengan penyakit hati yang bervariasi menunjukkan terbentuknya EMT pada fibrosis hati khususnya pada penyakit yang berhubungan dengan proliferasi duktus bilier prominen, seperti atresia bilier dan PBC. Pada penelitian tersebut juga didapatkan “*colocalisation*” yang signifikan antara CK19 (marker epitel spesifik-kolangiosit) dan marker EMT lain (*vimentin, Snail and fibroblast-specific protein 1*) pada atresia bilier dan PBC dengan menggunakan sistem *imaging* multispektrum. Hasil yang lain menunjukkan terbentuknya EMT pada hepatosit penderita atresia bilier.⁹⁹

Terbentuknya EMT bilier berhubungan dengan ekspresi *S100A4* (marker kunci derivat fibroblas awal), vimentin, dan pSMAD2/3 kolangiosit yang digerakkan oleh TGF- β . Ekspresi *S100A4* nampak

terjadi sebelum adanya gambaran rekurensi PBC sehingga disimpulkan bahwa EMT merupakan suatu peristiwa inisiasi dan dapat menjelaskan mekanisme hilangnya sel epitel duktus pada penyakit ini.¹⁰⁰ Penemuan yang sama pada rodensia dan manusia, di mana HSC dan sel progenitor epitel hati menghasilkan marker transisi epitel dan mesenkim, menunjukkan bahwa EMT juga terjadi pada hati orang dewasa.¹⁰¹

Pembentukan EMT merupakan mekanisme terjadinya proses fibrosis portal selama penyakit hati kronis. Melalui mekanisme EMT selama penyakit hati kronis, kolangiosit membentuk duktus bilier berukuran kecil dan sedang yang berespons terhadap “*ductular reaction*”, sehingga akhirnya menghasilkan formasi fibroblas yang invasif. Hal itu menunjukkan bahwa EMT berkontribusi pada fibrosis traktus portal.¹⁰¹

Kolangiosit juga memiliki peran yang potensial dalam komunikasi silang (*crosstalk*) dengan tipe sel yang lain dalam hati, seperti sel fibroblas portal dan HSC miofibroblas yang teraktivasi. Interaksi epitel-mesenkim yang dimediasi oleh mekanisme *Hedgehog* (Hh) memiliki peran dalam modulasi respons kedua tipe sel selama kolestasis yang diinduksi oleh BDL. Sel mesenkim memproduksi ligan Hh yang memperkuat viabilitas dan proliferasi kolangiosit yang merangsang pertumbuhan sel miofibroblas. Sistem sinyal seperti jalur Hh memberi arah *remodeling* cabang bilier dan jaringan disekitarnya selama kolestasis.⁶¹

Pada perlukaan bilier, proliferasi kolangiosit juga melepaskan PDGF-BB dan menstimulasi proses fibrogenik. PDGF-BB juga menunjukkan peran

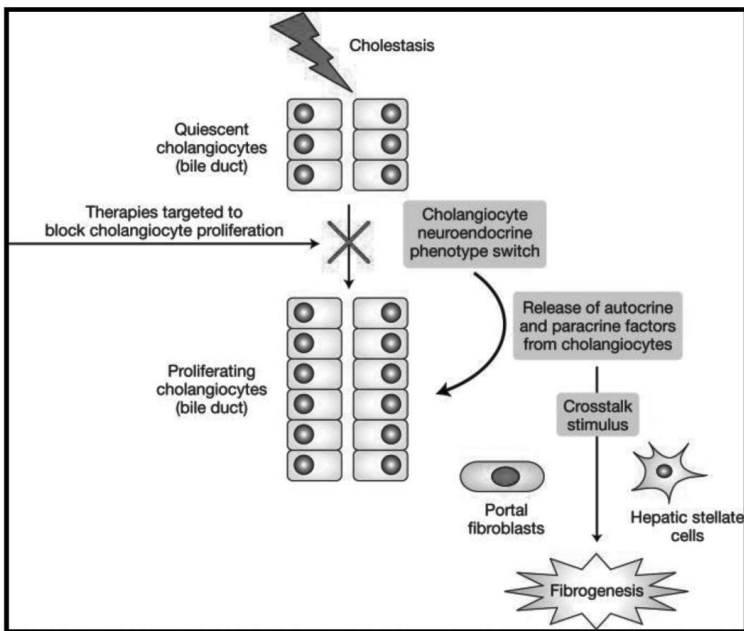
1. Menginduksi ekspresi gen miofibroblas residen
2. Mempromosikan proliferasi sel stem lobulus hati
3. Menarik HSC miofibroblas lobulus hati ke dalam traktus portal.

Faktor-faktor lain yang menstimulasi proliferasi kolangiosit seperti hormon steroid dan cAMP juga berkontribusi dalam komunikasi silang (*crosstalk*) selama kolestasis. Pemahaman mekanisme EMT dan interaksi melalui “*crosstalk*” antara kolangiosit dan sel miofibroblas akan memberi tempat terhadap intervensi terapeutik pada fibrosis yang berhubungan dengan penyakit hati kronis.⁶¹

4.5 PROLIFERASI KOLANGIOSIT SEBAGAI TARGET TERAPI FIBROSIS HATI

Proliferasi kolangiosit berhubungan dengan transdiferensiasi epitel bilier dalam mengekspresikan “*neuroendocrine phenotypes*” selama proses penyakit hati kronis. Pencegahan dan pembatasan proliferasi kolangiosit menyebabkan reduksi jaringan parut pada fibrosis hati. Dengan terjadinya reduksi jaringan parut, diharapkan juga terjadi penurunan jumlah dan aktivitas HSC maupun miofibroblas.^{102,71}

Perkembangan terapi mendatang ditargetkan pada penurunan sekresi faktor profibrogenik, seperti CTGF, atau blokade mekanisme sinyal pada *hepatic stellate cells* (HSC). Pemahaman tentang neuromodulator autokrin dan parakrin yang meregulasi proliferasi kolangiosit selama progresivitas penyakit hati kholestatik semakin meningkat, sehingga potensial untuk perkembangan strategi terapi di masa datang (Gambar 17).



Gambar 17. Proliferasi kolangiosit sebagai target untuk membatasi atau mencegah fibrosis hati⁶²

Proliferasi kolangiosit yang diaktivasi oleh kolestasis memacu transdiferensiasi neuroendokrin kolangiosit. Kolangiosit melepaskan faktor autokrin dan parakrin yang meregulasi respons proliferasi dan juga mengaktivasi respons fibrogenik pada fibroblast portal dan HSC, dihasilkan dalam aktivasi myofibroblast dan fibrogenesis. Di samping itu, kolangiosit mengalami transisi epitelial mesenkim dan meningkatkan jumlah sel fibrogenik dalam area portal. Terapi ditargetkan untuk mencegah dan atau mereduksi proliferasi kolangiosit, sehingga dapat memberikan peran baru dalam pencegahan dan atau pembatasan fibrosis hati.⁶²

MEKANISME FIBROSIS HATI

Fibrosis hati atau parut hati, terjadi sebagai upaya tubuh untuk membatasi kerusakan jaringan sebagai respons terhadap kerusakan hati kronis, apapun etiologinya. Hal tersebut ditandai dengan deposisi berlebihan protein matriks ekstraseluler (ECM) terutama kolagen alfa 1 dan berhubungan dengan perubahan besar jumlah dan komposisi ECM.¹⁰³ Fibrosis hati dimulai dengan suatu kaskade peristiwa yang melibatkan penggunaan sel inflamasi dan aktivasi sel yang memproduksi kolagen, sehingga terjadi kerusakan sel hepatosit. Sel stellata hati (*Hepatic stellate cells/HSC*) merupakan sumber utama dari kolagen tipe 1.¹⁰⁴ Akumulasi protein ECM, kontraksi jaringan, dan perubahan aliran darah merupakan proses kompleks yang disebut respons fibrogenik yang berakhir dengan terbentuknya jaringan parut atau fibrosis hati. Sel yang bertanggung jawab pada proses fibrosis hati diketahui adalah miofibroblas yang telah diaktifkan. Miofibroblas dapat berasal dari sel-sel stellata hati *quiescent*, epitel mesenkimal transisi (EMT), atau sel prekursor sumsum tulang. Fibrosis hati berhubungan dengan stres oksidatif, peningkatan *transforming growth factor beta* (TGF β), kematian hepatosit, dan peradangan kronis.¹⁰⁵

Pencegahan terjadinya fibrosis tergantung pada kemampuan mencegah atau menghentikan terjadinya aktivasi miofibroblas. Pembentukan jaringan parut secara progresif sebagai respons terhadap kerusakan hati persisten dapat berkembang menjadi sirosis, yang merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia dan menjadi masalah kesehatan global. Dahulu fibrosis hati dianggap sebagai proses yang ireversibel, namun dengan kemajuan pemahaman

proses seluler hati dan biologi molekuler didapatkan bukti klinis tentang proses pemulihan sel hati melalui mekanisme *remodelling* jaringan parut.¹⁰⁶

Kemajuan dalam memahami mekanisme fibrosis hati merupakan bukti bahwa penelitian dasar mulai menghasilkan prospek yang bermakna bagi diagnostik dan terapi baru pada penderita penyakit hati. Kemajuan ini meliputi isolasi dan karakterisasi jenis sel fibrogenik dalam hati, penjelasan mekanisme patogen penyakit umum dan khusus, dan perjalanan alamiah reversibilitas fibrosis hati. Reversibilitas pada penderita fibrosis hati lanjut mendorong para peneliti untuk menyelidiki lebih lanjut mekanisme molekuler yang mendasarinya dan mengembangkan tata laksana yang lebih baik di masa mendatang.¹⁰⁷

Fibrosis hati adalah respons penyembuhan kerusakan hati berupa jaringan parut reversibel yang terjadi pada hampir semua penderita penyakit hati kronis, tetapi dapat juga terjadi pada kelainan akut. Jika tidak mengalami perbaikan, pada akhirnya fibrosis hati dapat mengarah pada sirosis yang ditandai dengan terbentuknya formasi nodul dan kerusakan arsitektur normal hati.¹⁰⁸ Fibrosis hati adalah akumulasi berlebihan matriks protein ekstraseluler termasuk kolagen yang terjadi pada sebagian besar jenis penyakit hati kronis. Fibrosis hati dapat mengakibatkan sirosis, kegagalan hati, dan hipertensi portal yang seringkali memerlukan transplantasi hati.¹⁰⁹

Sirosis dapat disebabkan oleh berbagai hal, di antaranya kelainan bawaan, penyakit metabolisme, inflamasi, obat, dan toksin.¹⁰⁸ Fibrosis hati adalah akumulasi matriks ekstraselular, atau bekas luka, sebagai respons terhadap kelainan hati akut maupun kronis.¹¹⁰ Fibrogenesis merupakan respons penyembuhan luka dan akhirnya dapat mengarah pada sirosis. Sirosis adalah konsekuensi stadium akhir fibrosis parenkim hati yang diikuti pembentukan nodul sehingga dapat mengubah fungsi dan aliran darah hati.¹¹⁰

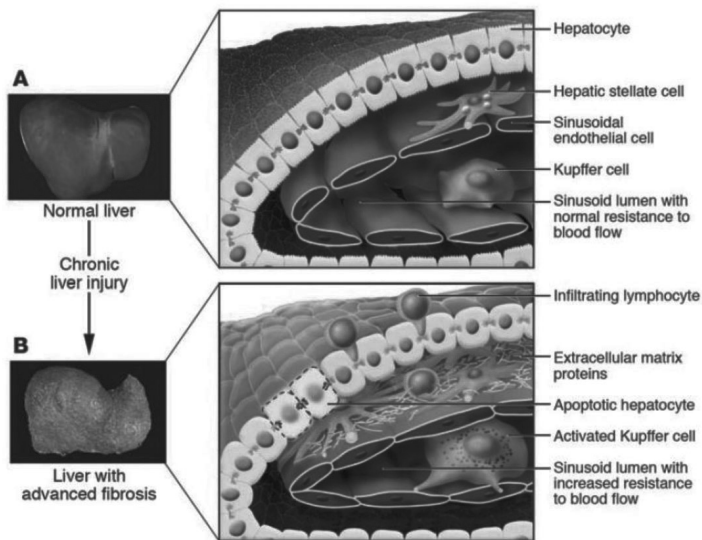
Sirosis merupakan perjalanan akhir penyakit hati kronis yang ditandai terjadinya destruksi dan regenerasi difus sel-sel parenkim hati, serta peningkatan pertumbuhan jaringan ikat difus yang berakibat pada disorganisasi arsitektur lobular dan vaskular. Struktur

normal hati digantikan oleh regenerasi nodul dan dikelilingi jaringan ikat yang terbentuk secara berlebihan. Sirosis sebenarnya merupakan kondisi dinamis antara proses kerusakan sel (nekrosis), fibrosis, serta penggantian sel yang rusak dengan pembentukan nodul. Keadaan ini sangat mengganggu pasokan bahan nutrisi, oksigen, dan bahan metabolik pada berbagai daerah di hati yang dapat memacu iskemia dan kerusakan lebih lanjut.¹¹¹

Fibrosis hati mengacu pada akumulasi matriks interstitial atau *scar* ekstraselular akibat adanya kerusakan hati, baik akut maupun kronis. Sirosis, merupakan tahap akhir fibrosis progresif, ditandai dengan pembentukan septum dan cincin bekas luka yang mengelilingi nodul dari hepatosit. Komposisi molekul matriks ekstraseluler di fibrosis hati mirip dengan fibrosis parenkim lain, termasuk paru-paru dan ginjal, dan juga antara penyakit hati dengan etiologi berbeda. Umumnya fibrosis memerlukan waktu tahunan atau puluhan tahun untuk menjadi sirosis dengan manifestasi klinis yang jelas, namun pada beberapa keadaan sirosis dapat berkembang dalam lebih cepat (beberapa bulan), misalnya penyakit hati pada anak (atresia bilier), *drug induced liver*, dan hepatitis virus yang berhubungan dengan immunosupresi setelah transplantasi hati.¹¹²

Fibrosis mulai terjadi di daerah dengan kerusakan hati paling parah. Pada hati normal, *hepatic stellate cell* (HSC) adalah sel non parenkim dengan fungsi utama menyimpan vitamin A dan mempertahankan matriks membran dasar. Namun jika terjadi respons kerusakan hati, HSC akan mengalami aktivasi karena kehilangan vitamin A sehingga bersifat sangat proliferasif dan menyintesis matriks fibrosis yang kaya kolagen tipe I. Pemahaman ini membantu identifikasi mekanisme yang mendasari proses fibrosis dan mungkin akan mengarah pada terapi baru untuk penyakit fibrosis organ, termasuk hati.¹⁰⁹

Secara skematik, proses perubahan arsitektur parenkim hati akibat adanya kerusakan hati yang kronis tampak pada Gambar 18.



Gambar 18. Perubahan dalam arsitektur hepatosit

Keterangan: (A) Liver (hati) normal; (B) pada kerusakan hati kronis.¹⁰⁹

5.1 PERJALANAN ALAMIAH DAN DIAGNOSIS FIBROSIS HATI

Terjadinya fibrosis hati umumnya insidental, dan sebagian besar morbiditas dan mortalitas terjadi terkait dengan perkembangannya menjadi sirosis.¹¹³ Pada sebagian besar penderita, sirosis akan terjadi setelah kurun waktu 15-20 tahun. Perkembangan fibrosis menjadi sirosis hati dapat terjadi lebih cepat, yaitu pada episode berulang hepatitis alkoholik akut berat, hepatitis subfulminan, reinfeksi HCV setelah transplantasi hati, dan kolestasis (atresia bilier). Komplikasi klinis mayor sirosis yang mungkin terjadi meliputi ascites, gagal ginjal, ensefalopati hati, dan perdarahan varices. Penderita sirosis dapat bertahan tanpa komplikasi yang berat dalam beberapa tahun (sirosis kompensasi). Sirosis dekompensasi umumnya dikaitkan dengan kelangsungan hidup yang pendek dan merupakan indikasi untuk dilakukan transplantasi hati.¹¹⁴ Sirosis juga merupakan faktor risiko untuk berkembang menjadi karsinoma hepatoseluler.¹¹⁵

Biopsi hati dianggap sebagai baku emas (*gold standard*) untuk diagnosis fibrosis hati. Pemeriksaan histologis banyak berguna untuk mengidentifikasi penyebab penyakit hati dan menilai tingkat peradangan dan kerusakan sel (*necroinflammatory*) maupun fibrosis. Pewarnaan khusus protein *Extra Cellular Matrix* (ECM) dengan *Sirius red* digunakan untuk menentukan derajat fibrosis menggunakan komputer melalui analisis morfometrik.¹¹⁶ Biopsi hati merupakan prosedur invasif, dengan komplikasi nyeri pada 40% penderita dan 0,5% dengan komplikasi berat.¹¹⁷ Kesalahan sampel dapat pula terjadi, terutama jika hasil biopsi yang dianalisis kecil. Pemeriksaan histologi rentan terhadap variasi kemampuan pemeriksa, serta tidak mampu memprediksi perkembangan penyakit.¹¹⁸ Oleh karena itu, diperlukan suatu metode pemeriksaan yang handal, sederhana, dan tidak invasif untuk pemeriksaan fibrosis hati.

Skor dengan komponen pemeriksaan laboratorium rutin, seperti jumlah trombosit, kadar amino transferase serum, *prothrombin time*, dan kadar serum protein dapat membantu diagnosis fibrosis hati.¹¹⁹ Besarnya kadar protein serum berhubungan langsung dengan proses fibrogenik hati dan digunakan sebagai penanda fibrosis hati meliputi *N-terminal propeptide* kolagen tipe III, *hyaluronic acid*, *tissue inhibitor of metalloproteinase type 1 (TIMP-1)*, dan *YKL-40*.

Nilai tersebut berguna dalam mendeteksi kemajuan fibrosis (sirosis) pada penderita, minimal atau tidak adanya fibrosis, namun tidak efektif untuk membedakan tingkatan fibrosis. Sementara itu, penanda spesifik fibrosis mungkin mencerminkan fibrogenesis di organ lain yaitu fibrosis pankreas pada penderita alkoholik.¹²⁰

Fibrosis hati dapat pula diperiksa dengan menggunakan teknik pencitraan, seperti *ultrasonography* (USG), *computed tomography* (CT), dan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI). Umumnya pencitraan dapat mendeteksi perubahan dalam parenkim hati pada fibrosis sedang-berat. Pemeriksaan USG dapat mendeteksi sirosis hati berdasarkan pada perubahan *echogenicity* hati, *nodularity*, dan tanda hipertensi portal. Namun demikian, USG sangat *tergantung* pada operator dan adanya peningkatan *echogenicity* hati tidak cukup membedakan

steatosis dengan fibrosis hati.¹²¹ Metode non invasif saat ini semakin berkembang termasuk profil protein darah menggunakan *proteomic technology* dan *new clinical glycomics technology*, yang didasarkan pada *DNA sequencer/fragment analyzers* yang mampu menghasilkan profil protein *N-glycans DNA* serum.¹²²

5.2 ETIOLOGI FIBROSIS HATI

Fibrosis hati yang menyebabkan sirosis dapat menyertai hampir semua penyakit hati kronis dan ditandai dengan adanya gangguan arsitektur dan/atau peradangan. Sebagian besar penderita dengan penyakit hati di seluruh dunia disebabkan hepatitis virus kronis atau steatohepatitis, baik yang terkait dengan alkohol atau obesitas. Etiologi lain dari penyakit hati termasuk infestasi parasit (*schistosomiasis* misalnya), autoimun pada hepatosit atau epitel empedu, penyakit hati neonatal, gangguan metabolisme termasuk penyakit Wilson, hemokromatosis, dan berbagai *storage disease*, kondisi peradangan kronis (misalnya *sarcoidosis*), toksisitas obat (misalnya methotrexate atau Hypervitaminosis vitamin A), dan kelainan pembuluh darah, baik bawaan atau didapat.¹⁰⁹ Perkembangan sirosis biasanya memerlukan waktu bertahun-tahun. Namun ada beberapa pengecualian di mana perkembangan sirosis bisa sangat cepat yang mungkin terjadi dalam beberapa bulan–tahun, yaitu pada:

- Penyakit hati neonatal – bayi (atresia bilier)
- Penderita terinfeksi HCV- setelah transplantasi hati ¹²³
- Penderita dengan koinfeksi HIV/HCV ¹²⁴
- Hepatitis delta ¹²⁵
- Beberapa kasus *drug induced liver disease*. Contohnya ‘fibrosis fulminan’

5.3 PATOGENESIS FIBROSIS HATI

Fibrosis hati merupakan hasil dari respons penyembuhan luka normal yang menetap, sehingga mengakibatkan fibrogenesis abnormal yang berkelanjutan. Hal ini ditandai dengan deposisi protein ECM

berlebihan yang mencakup tiga jenis protein, yaitu glikoprotein, kolagen, dan proteoglikan.¹²⁶ Fibrosis terjadi sebagai akibat dari siklus berulang dari kerusakan dan perbaikan hepatosit. Deretan peristiwa yang membentuk fibrosis hati sangat kompleks dan dipengaruhi oleh berbagai jenis sel berbeda dalam hati yang berinteraksi dalam menanggapi kerusakan, dan aktivasi HSC merupakan pusat serangkaian peristiwa tersebut.¹¹² Fibrosis hati adalah proses dinamis, umumnya akibat sekunder kerusakan hati dan peradangan, yang berkembang pada tingkat berbeda tergantung pada etiologi penyakit hati dan dipengaruhi juga oleh faktor lingkungan dan genetik.¹²⁷ Jika fibrosis terus berlangsung, maka akan mengganggu arsitektur normal hati dan mengubah fungsi normal organ, sehingga akan menyebabkan kerusakan hati.

Sirosis merupakan tahap akhir fibrosis.¹¹¹ Hal ini ditandai oleh septa fibrosa yang membagi parenkim menjadi nodul-nodul regeneratif, menyebabkan modifikasi pembuluh darah dan hipertensi portal dengan komplikasi perdarahan variceal, ensefalopati hati, asites, dan sindrom hepatorenal. Selain itu, kondisi ini sangat terkait dengan karsinoma hepatoseluler dengan angka kematian relatif lebih tinggi.¹²⁸

Sel yang diduga bertanggung jawab terjadinya fibrosis pada semua penyakit hati kronis adalah miofibroblas yang diaktifkan. Dari mana asal miofibroblas yang diaktifkan masih belum jelas, namun beberapa jenis sel berpotensi dapat memenuhi peran tersebut. Didapatkan bukti bahwa fibroblast sumsum tulang atau dari sel-sel mesenkimal yang beredar dapat bermigrasi menuju hati yang mengalami gangguan dan menjadi miofibroblas untuk berpartisipasi dalam proses fibrosis.¹²⁹ Didapatkan pula bukti lain bahwa hepatosit, kolangiosit, atau bahkan sel endotel dapat mengalami transisi ke sel mesenkimal menjadi miofibroblas aktif. Untuk hepatosit dan kolangiosit, proses ini disebut *epithelial mesenchymal transition* (EMT). Selain itu, sel-sel hati yang mungkin dapat diaktifkan untuk menjadi miofibroblas, misalnya fibroblas di sekitar saluran porta hati atau sel stellata hati (HSC) yang terletak di ruang Disse. Terdapat bukti yang mendukung peran HSC *quiescent* diaktifkan untuk menjadi miofibroblas dan kemudian memproduksi

parut fibrosa pada penyakit hati kronis. Tanda khusus yang digunakan untuk identifikasi sel stellata meliputi *glial fibrillar-associated protein* (GFAP), *nerve growth factor receptor p75*, dan *synamin*.¹⁰⁵

Dalam perkembangan lebih lanjut fibrosis hati, sel hati akan mengalami perubahan tertentu. Hepatosit yang rusak mengalami apoptosis, sel endotel sinusoidal kehilangan *fenestrae* yang disebut *acapillarization* dari sinusoid. Sel Kupffer sebagai makrofag di hati, menjadi aktif dan menyekresi berbagai kemokin dan sitokin. Terjadi pula infiltrasi limfosit dan turut berkontribusi pada proses peradangan. Sedangkan sel-sel stellata diam (HSC *quiescent*) diaktifkan untuk memproduksi protein matriks ekstraseluler.¹³⁰

Proses terjadinya fibrosis hati mencakup beberapa mekanisme dan melibatkan berbagai faktor yang berperan di dalamnya, antara lain:

5.4 AKTIVASI KRONIS REAKSI PENYEMBUHAN LUKA

Hampir sama dengan kelainan fibrogenik berbagai organ dan sistem yang lain, aktivasi kronis reaksi penyembuhan luka adalah mekanisme yang umum dan paling relevan dalam fibrogenesis hati. Secara keseluruhan, fibrogenesis hati karena aktivasi kronis reaksi penyembuhan luka ditandai oleh gambaran utama sebagai berikut:

- Masih adanya kerusakan hepatosit/kolangiosit pada tingkat nekrosis dan apoptosis;
- Infiltrasi kompleks imun termasuk sel mononuklear dan sel sistem imun;
- Aktivasi berbagai jenis sel yang menghasilkan ECM (HSC, miofibroblas porta /MFS, dll) ditandai dengan gambaran proliferasi, sintesis, dan kontraktile;
- Perubahan nyata pada kualitas dan kuantitas ECM hati yang terkait dengan kecilnya kemungkinan *remodelling* sebagai gambaran upaya terus-menerus regenerasi hati.^{58, 131}

Peran beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin yang terlibat dalam reaksi penyembuhan luka kronis dan memengaruhi potensi profibrogenik dari HSC menjadi sorotan para ahli akhir-akhir

ini. Sebagian besar penelitian tentang faktor-faktor yang berpotensi memengaruhi perkembangan fibrosis hati dalam *nonalcoholic fatty liver disease* (NAFLD) dan *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH), difokuskan pada peran dan keterlibatan adipokin.¹³² Hubungan antara fibrogenesis dan angiogenesis pada penyakit hati kronis (CLD) didukung oleh beberapa temuan, antara lain angiogenesis dan upregulasi dari ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) telah didokumentasikan dalam model yang berbeda dari kerusakan hati kronis dan akut, serta dari spesimen fibrosis/sirosis hati manusia dan karsinoma hepatoseluler.¹³³ Dari sudut pandang mekanistik, angiogenesis dalam CLD fibrogenik dapat diinterpretasikan menurut dua jalur utama. Pertama, proses penyembuhan luka kronis yang khas pada CLD fibrogenik, ditandai oleh ekspresi berlebih beberapa faktor pertumbuhan, sitokin, dan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang bersifat proangiogenik.¹³⁴ Kedua, neoangiogenesis jaringan hati dirangsang oleh peningkatan progresif hipoksia jaringan. Mekanisme ini terkait erat dengan modifikasi anatomis yang mengikuti terbentuknya fibrosis periportal dengan meningkatnya kontribusi arteri hepatica pada formasi darah sinusoidal. Dengan demikian, aliran darah sinusoidal menjadi semakin arterial, dan hepatosit menyesuaikan diri dengan oksigen konsentrasi tinggi yang abnormal. Selanjutnya, kapilarisasi progresif sinusoid menyebabkan penurunan difusi oksigen dari sinusoid ke hepatosit mengakibatkan upregulasi jalur proangiogenik.¹³⁵

5.5 STRES OKSIDATIF

Potensi sumber stres oksidatif dalam kerusakan hati, antara lain enzim sitokrom P450IIE1 di hepatosit dan oksidase NADPH dalam sel Kupffer. Didapatkan pula bukti bahwa dalam sel stellata hati juga terjadi oksidase NADPH yang menghasilkan spesies reaktif oksidatif dan menyebabkan fibrosis.¹³⁰

Keterlibatan stres oksidatif telah didokumentasikan dalam semua kondisi klinis utama penyakit hati kronis pada manusia serta model eksperimental fibrogenesis hati,¹³⁶ tetapi hanya mewakili mekanisme

profibrogenik pada NAFLD/NASH dan steatohepatitis alkoholik (ASH). Stres oksidatif dalam penyakit hati kronis yang terjadi akibat peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) dan intermediet reaktif lainnya serta penurunan efisiensi pertahanan antioksidan, tidak hanya sebagai konsekuensi toksik kerusakan hati kronis, tetapi juga secara aktif memberikan kontribusi terhadap *remodelling* jaringan dan fibrogenesis yang berlebihan. Baik ROS dan mediator reaktif lain seperti 4-hydroxynonenal (HNE) dapat dihasilkan di luar miofibroblas, yang dirilis baik oleh sel inflamasi aktif atau berasal dari hepatosit, dan secara langsung atau tidak langsung rusak oleh etiologi atau kondisi spesifik. Dengan dukungan transisi permeabilitas mitokondria, stres oksidatif mampu mendorong terjadinya kematian hepatosit (nekrotik dan/atau apoptosis).¹⁰⁵

Dalam beberapa kondisi klinis yang relevan, generasi ROS dalam hepatosit mungkin merupakan konsekuensi dari perubahan keadaan metabolik (seperti NAFLD dan NASH) atau dari metabolisme etanol (seperti ASH), dengan ROS yang dihasilkan terutama oleh rantai transpor elektron mitokondria atau melalui keterlibatan isoform sitokrom P450 seperti sitokrom P2E1 (CYP2E1).¹³⁷ Mediator stres oksidatif dari sel sekitarnya yang diaktifkan atau rusak dapat mempengaruhi perilaku HSC/MFS secara langsung. Spesies oksigen reaktif atau aldehida reaktif HNE meregulasi ekspresi gen penting yang berkaitan dengan fibrogenesis, meliputi prokolagen tipe I, *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1), dan TIMP-1. Regulasi tersebut melalui aktivasi sejumlah jalur transduksi sinyal kritis dan faktor transkripsi, di antaranya aktivasi *c-Jun N-terminal kinases* (JNKs), faktor transkripsi AP-1 (AP-1) dan untuk ROS melalui faktor nuklear kB (NF-kB).¹⁰⁹ Di samping rilis ekstraselular 'profibrogenik' oleh sel sekitarnya, generasi ROS dalam HSC/MFS terjadi pada respons terhadap beberapa mediator profibrogenik, di antaranya angiotensin II, *platelets derived growth factor* (PDGF), dan leptin adipokin.¹³⁸

5.6 GANGGUAN INTERAKSI DAN TRANSISI EPITEL-MESENKIMAL PADA KOLANGIOPATI

Kolangiopati merupakan sekelompok gangguan progresif dan dianggap sebagai penyebab utama kolestasis kronis pada penderita dewasa maupun anak. Kolangiopati melibatkan koeksistensi dari kolestasis, nekrotik atau apoptosis kolangiosit, proliferasi kolangiosit, serta inflamasi dan fibrosis portal/periportal. Reaksi duktular (yaitu, proliferasi sel duktular empedu atau kolangiosit) diketahui sebagai pemicu terjadinya fibrosis porta. Proliferasi intens dari sel epitel dikaitkan dengan perubahan signifikan pada sel-sel mesenkimal sekitarnya (pertama fibroblas portal dan kemudian HSC dengan invasi parenkim) dan ECM.⁵⁹

Hingga saat ini, masih belum jelas apakah proses diawali adanya perubahan fenotipik pada kolangiosit yang berproliferasi atau perubahan dalam ECM menyebabkan proliferasi sel epitel. Namun, “*cross-talk*” intensif antara sel mesenkimal dan epitel (kolangiosit) diduga mendasari pelepasan sitokin dan mediator pro-inflamasi yang bertanggung jawab atas keseluruhan mekanisme kolangiopati.¹³⁹

Kolangiosit saat ini dianggap sebagai ‘aktor’ aktif dalam kondisi patologis oleh karena kemampuannya menyekresi kemokin (Interleukin-6 /IL-6, *tumor necrosis factor* α /TNF β , Interleukin-8/ IL-8, dan MCP-1) dan faktor profibrogenik *Platelets derived growth factor* (PDGF-BB), *endothelin 1* (ET-1), *connective tissue growth factor* (CTGF), dan *transforming growth factor beta 2* (TGF β 2). Semua faktor tersebut, yang diproduksi oleh infiltrasi sistem kekebalan, inflamasi, atau sel mesenkimal, dapat berpengaruh baik pada sel epitel maupun “*cross-talk*” intensif dengan sel mesenkimal, sehingga mempertahankan respons fibrogenik.⁵⁸ Namun, baru-baru ini didapatkan bukti awal bahwa kolangiopati mungkin dimulai dengan proses transisi epithelial-mesenkimal yang melibatkan kolangiosit dan didorong oleh TGF β .¹⁴⁰

5.7 SEL STELLATA HATI/HSC

Sel stellata hati/HSC *quiescent* merupakan tempat penyimpanan utama retinoid dalam tubuh dan mengekspresikan marker neurologis

seperti dijelaskan di atas. Ketika HSC diaktifkan, maka terbentuk retinoid dan mulai timbul ekspresi reseptor baru seperti reseptor *Z platelet derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). Selain itu juga terjadi ekspresi protein baru seperti *α -smooth muscle actin*. Sel stellata hati yang aktif akan berproliferasi dan menyintesis protein matriks ekstraseluler untuk jaringan fibrosis.¹⁴¹

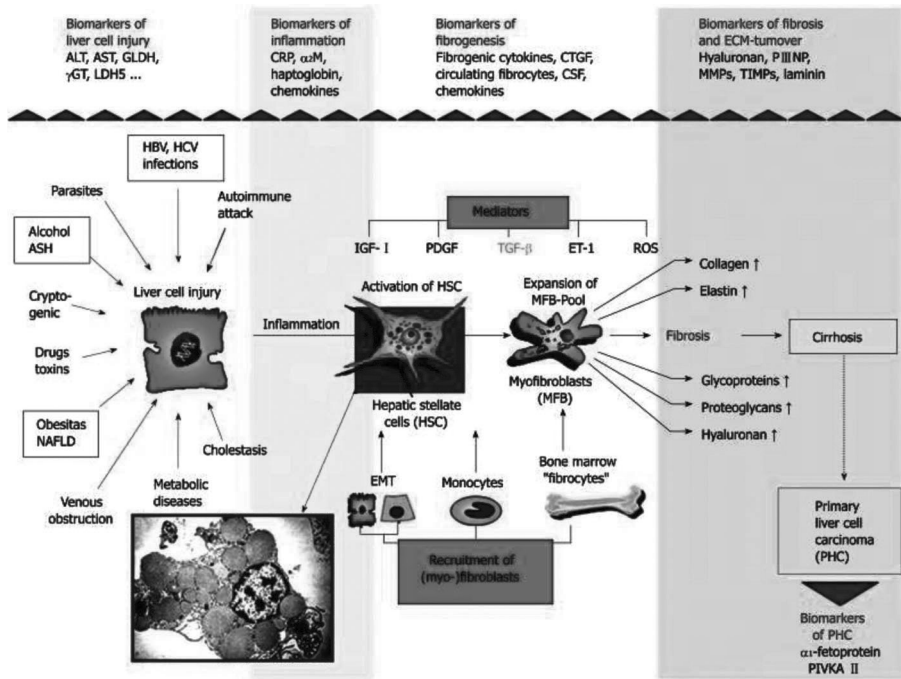
Berbagai studi telah mengungkapkan beberapa karakteristik sel stellata hati/HSC. Selain memproduksi protein ECM yang dirangsang oleh TGF- β dan proliferasinya dirangsang oleh PDGF, HSC juga berkontribusi terhadap aspek lain dari patofisiologi penyakit hati. Melalui *endothelin 1*, HSC dapat menyebabkan terjadinya hipertensi porta. Melalui produksi *metalloproteinase/MMP2*, HSC berkontribusi pada degradasi matriks ekstraseluler normal. Melalui produksi *reactive oxygen spesies* (ROS) yang dihasilkan dari oksidase NADPH, HSC berkontribusi pada stres oksidatif. Melalui produksi kemokin dan sitokin seperti MCP-1, HSC berkontribusi pada kemotaksis dirinya dan leukosit. Selain itu, HSC adalah sumber utama dari mitogen untuk hepatosit yaitu *hepatocyte growth factor* (HGF).¹⁴¹

Sel stellata hati aktif dapat dihilangkan dari hati yang mengalami kerusakan melalui mekanisme apoptosis. Hal tersebut menghapus keberadaan sel fibrogenik dan memungkinkan untuk penyembuhan fibrosis. Obat yang selektif menginduksi apoptosis HSC telah dibuktikan dapat membalikkan proses fibrosis hati, di antaranya gliotoksin, sulfasalazine, dan antibodi anti TIMP1. Selama proses resolusi fibrosis, terjadi apoptosis HSC yang diaktifkan. Penghambat dari TIMPs *collagenases* diproduksi oleh HSC dan, karenanya, tidak lagi sekarang. Hal ini memungkinkan kolagenase untuk mengekspresikan aktivitas enzim dan menurunkan ECMS pada bekas luka berserat (fibrosis). Terjadi pergeseran paradigma dalam pemahaman tentang fibrosis hati, karena ajaran klasik menekankan bahwa sirosis tidak dapat diperbaiki. Namun dengan menghilangkan rangsangan fibrogenesis, diketahui membalikkan fibrosis, sebagai contoh, mengobati peradangan pada hepatitis autoimun dengan kortikosteroid dapat menghentikan dan membalikkan proses fibrosis yang terjadi. Flebotomi pada

penderita dengan hemokromatosis untuk menghilangkan kelebihan zat besi juga dapat membalikkan fibrosis. Penderita dengan obstruksi bilier yang menjalani dekompresi dapat membalikkan perkembangan fibrosis empedu sekunder.¹⁴³

5.8 TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β (TGF- β)

TGF- β merupakan sitokin fibrogenik paling ampuh. TGF β menginduksi fibrosis melalui beberapa mekanisme, termasuk aktivasi langsung HSCs, merangsang sintesis beberapa ECMS, menghambat degradasi ECM dengan merangsang produksi inhibitor jaringan dari metalloproteases (TIMPs), dan meningkatkan sintesis sendiri melalui situs-1 AP sendiri gen.¹⁴⁴



Gambar 19. Sinopsis Mekanisme Patogenesis Fibrosis Hati (Fibrogenesis)¹⁴⁵

Mekanisme patogenesis fibrosis hati (Gambar 19) antara lain (i) masuknya sel induk (*fibrocytes*) dari sumsum tulang ke hati, (ii) monosit yang beredar dan didorong TGF- β berdiferensiasi menjadi fibroblas dan (iii) transisi epitel-mesenkimal (EMT) dari hepatosit dan sel epitel saluran empedu ke fibroblas. Ketiga mekanisme yang saling melengkapi tersebut memperbesar timbunan *matrix-synthesizing (myo-)fibroblasts*. Beberapa mediator fibrogenik penting adalah *transforming growth factor (TGF)- β* , *platelet derived growth factor (PDGF)*, *insulin-like growth factor I (IGF-I)*, *endothelin-1 (ET-1)*, dan *reactive oxygen metabolites (ROS)*.¹⁴⁵

5.9 PROSES PEMULIHAN DAN TERAPI ANTIFIBROSIS

Studi menunjukkan bahwa fibrosis hati dan sirosis hati bisa disembuhkan, terutama jika penyakit yang mendasarinya bisa diatasi. Kemajuan ini meliputi isolasi dan karakterisasi jenis sel fibrogenik dalam hati, penjelasan mekanisme patogen penyakit umum dan khusus, perjalanan ilmiah dan reversibilitas fibrosis hati, yang mendasari pemberian terapi. Reversibilitas daripada pasien fibrosis hati mendorong para peneliti untuk mengembangkan obat antifibrotik.

5.9.1 Pemulihan Fibrosis atau Sirosis

Konsep reversibilitas fibrosis hati dan sirosis bukanlah hal baru. Popper dan Udenfreind menekankan pentingnya proses enzimatik untuk regresi fibrosis pada tahun 1970.¹⁴⁶ Perez-Tamayo pada tahun 1979 menulis sebuah ulasan berjudul “Sirosis hati: penyakit reversibel?” yang berisi bukti reversibilitas fibrosis dan sirosis baik pada hewan coba maupun manusia.¹⁴⁷ Proses fibrosis biasanya memerlukan waktu setidaknya beberapa bulan hingga bertahun-tahun. Namun, tidak semua penderita dengan penyebab yang sama akan berkembang pada tingkat fibrosis hati yang sama. Penderita dengan faktor risiko serupa memiliki beberapa variabilitas dalam perkembangan fibrosis hati, yang juga mungkin mencerminkan adanya genotipik polimorfisme.¹²⁷ Bukti adanya regresi fibrosis ditemukan dalam seluruh spektrum penyakit

hati kronis, meliputi hepatitis autoimun, obstruksi empedu, kelebihan zat besi, NASH, dan virus hepatitis B dan C.¹⁰⁵

Pemikiran tentang regresi atau reversibilitas sirosis berasal dari bukti yang diperoleh pada penghentian penyebab kerusakan hati binatang coba atau diikuti pengobatan dengan bahan yang diduga antifibrotik. Meskipun regresi telah ditunjukkan pada hewan model dengan sirosis, kemungkinan tersebut belum sepenuhnya dibuktikan pada manusia. Bukti tentang regresi fibrosis maupun sirosis saat ini telah dilaporkan dalam berbagai penyakit hati kronis dengan etiologi yang berbeda, meliputi hepatitis virus,^{148,125} hepatitis autoimun,¹⁴⁹ alkoholik dan non-alkoholik steatohepatitis.¹⁵⁰ Namun, jika dilakukan analisis lebih akurat, dapat disimpulkan bahwa dalam banyak kasus, didapatkan variasi tingkat regresi fibrosis pada sirosis bukan pembalikan sirosis.¹⁵¹

Kesadaran klinis yang meningkat bahwa sirosis merupakan dimensi baru dalam perjalanan klinis penyakit hati kronis dan bukan hanya tahap ekstrim fibrosis, diiringi kemungkinan untuk mengurangi fibrosis bahkan sirosis. Hal ini menimbulkan asumsi bahwa transplantasi hati mungkin bukan lagi satu-satunya pilihan untuk meningkatkan kelangsungan hidup penderita. Jumlah penderita dengan sirosis pasti akan meningkat secara eksponensial pada 10-15 tahun mendatang, sehingga mewakili masalah klinis paling sering dalam hepatologi.¹⁰⁵

5.9.2 Terapi Antifibrotik

Kemajuan dalam pemahaman dasar patofisiologi dari fibrogenesis memunculkan pendekatan pada terapi baru. Pengobatan penyakit utama guna mencegah kerusakan yang sedang berlangsung merupakan strategi yang paling efektif untuk membalikkan proses fibrosis. Perawatan yang ada terutama mengobati kerusakan primer, dapat memungkinkan terjadinya resolusi lengkap. Meskipun ada kemungkinan bahwa sintesis kolagen yang baru mungkin lebih rentan terhadap degradasi dari kolagen lama, ada banyak bukti pada hewan

coba bahwa sirosis berat pun reversibel, sedangkan pada manusia data menunjukkan fibrosis yang reversibel.¹⁰⁵

Terapi antifibrotik mengarah pada area yang berbeda dalam kaskade fibrogenik, meliputi penghambatan deposisi matriks, sintesis kolagen, modulasi aktivasi sel stellata, meningkatkan degradasi matriks, atau stimulasi dari kematian sel stellata atau apoptosis. Beberapa obat dengan aktivitas 'antifibrotik spesifik' telah dipelajari dalam percobaan manusia tetapi tidak terbukti efektif. Obat antifibrotik ideal yang aman digunakan untuk waktu yang lama, khusus untuk hati dan tidak beracun pada hepatosit, ampuh, ada sediaan oral, dan murah masih belum tersedia.¹⁵²

Sebagian besar obat telah terbukti efektif *in vitro* dan pada hewan model. Translasi keberhasilan laboratorium ke uji klinis sedang berlangsung, mencari cara untuk dapat digunakan pada manusia.⁵⁸ Semakin lama semakin jelas bahwa penggunaan beberapa obat dengan mekanisme kerja yang berbeda (terapi kombinasi) terbukti lebih efektif. Bukti tentang keuntungan jangka panjang pemulihan fibrosis pada kondisi klinis, seperti pengurangan hipertensi portal atau perkembangan karsinoma hepatoseluler, hingga saat ini masih diperlukan.¹¹² Meskipun tidak ada antifibrogenik yang pasti dan efektif, kandidat yang memungkinkan adalah antioksidan, interferon, flavonoid, inhibitor sistem renin angiotensin, antagonis reseptor endotelin, dan agonis peroxisome proliferasi reseptor- γ (PPAR- γ).¹⁵²

Pemulihan fibrosis merupakan suatu realitas dan pengobatan penyebab utama dari kerusakan memungkinkan terjadinya resolusi lengkap fibrosis. Pendekatan non-invasif dalam diagnosis fibrosis masih terus berkembang. Pemahaman tentang mekanisme fibrosis hati telah berubah secara dramatis akhir-akhir ini dan tidak lagi dipandang sebagai suatu kondisi yang pasif atau permanen tetapi sebagai sebuah proses dinamis dan reversibel. Pengobatan penyakit utama guna mencegah kerusakan yang sedang berlangsung tetap merupakan strategi yang paling efektif untuk membalikkan proses fibrosis. Banyak mekanisme dan terapi potensial yang terus dikembangkan hingga

saat ini, dan masih diperlukan penelitian lebih lanjut. Jumlah sasaran terapi yang potensial semakin banyak, sehingga semakin memberikan peluang untuk meneliti lebih lanjut tentang reversibilitas fibrosis hati.

STRATEGI PENGOBATAN ATRESIA BILIER

Atresia bilier ditandai dengan obliterasi atau diskontinuitas saluran empedu ekstrahepatik, dan menjadi penyebab utama transplantasi hati pada anak.¹⁵³ Meskipun telah banyak usaha dilakukan oleh peneliti di seluruh dunia, namun hanya operasi portoenterostomi Kasai dan modifikasinya terapi utama yang umum dilakukan hingga sekarang.¹⁵⁴ Penderita yang tidak mendapat pengobatan akhirnya meninggal akibat komplikasi hipertensi portal dan sirosis hati, sedangkan mereka yang mendapat pengobatan sebagian besar masih memerlukan transplantasi hati.¹⁵⁵

Berawal dari upaya putus asa untuk mengobati kolangitis ascending refrakter pada bayi dengan atresia bilier setelah portoenterostomi hepatic (HPE), kortikosteroid (steroid) berkembang menjadi terapi yang umum digunakan pasca-HPE dan diyakini dapat memperbaiki hasil klinis pada penderita.¹⁵⁶ Dasar teori penggunaan steroid adalah efek koleretik,¹⁵⁷ dan anti-inflamasi yang dimilikinya, ditujukan untuk mengurangi kolonisasi bakteri saluran empedu dengan meningkatkan aliran empedu, serta mengurangi inflamasi periduktal dan edema.¹⁵⁶ Pemberian singkat dosis besar steroid intravena dipercaya dapat mengurangi bilirubin serum, peningkatan ekskresi bilirubin, mengatasi demam, dan memungkinkan resolusi kolangitis selama pemberian antibiotik. Hasil observasi awal yang telah dilakukan oleh para peneliti berevolusi menjadi suatu keyakinan umum bahwa penggunaan steroid secara rutin setelah HPE dapat meningkatkan kelangsungan hidup bayi dengan hatinya sendiri dan atau menunda, atau bahkan mencegah kebutuhan akan transplantasi hati.

6.1 KOLESTASIS EKSTRAHEPATIK: ATRESIA BILIER

Atresia bilier adalah penyebab paling umum dari kolestasis pada neonatus dan indikasi yang paling umum untuk transplantasi hati anak.¹⁵³ Manifestasi klinis yang dihasilkan terjadi akibat dari proses inflamasi dan fibrosis yang menghambat lumen saluran empedu ekstrahepatik dan mengganggu aliran empedu ke duodenum. Kelainan saluran empedu juga ditemukan di dalam hati, biasanya berupa proliferasi dan penyumbatan pada lumen oleh endapan (*inspissated*) empedu, berbagai derajat peradangan portal, kerusakan hepatosit, dan transformasi sel Kupffer juga ditemukan saat diagnosis ditegakkan.¹⁵⁸

Kelainan patologis pada hati dapat merupakan perubahan reaktif sekunder terhadap gangguan yang ditujukan, terutama pada saluran empedu ekstrahepatik ataukah merupakan kelainan primer itu sendiri. Studi yang menganalisis histologi hati dan saluran empedu dari tiga bayi baru lahir dengan atresia bilier tipe embrionik (ko-eksistensi atresia bilier dan kelainan bawaan nonhepatik), menunjukkan bahwa kondisi hati relatif masih normal saat lahir, tetapi neonatus tersebut telah memiliki bukti biokimia dan/atau anatomi keterlibatan saluran empedu ekstrahepatik.¹⁵⁹ Hasil tersebut menguatkan pendapat bahwa saluran ekstrahepatik sebagai lokasi primer dari kerusakan awal, setidaknya pada tipe embrionik.

Atresia bilier terjadi pada neonatus dan bayi, dengan angka kejadian sedikit lebih tinggi di Jepang (1:9.600 kelahiran hidup)¹⁶⁰ dibanding Amerika Serikat (1:14.000)¹⁶¹ maupun Britania Raya (1:15.000).¹⁶² Kejadian atresia bilier pada perempuan sedikit lebih kecil (1,2:1) dibandingkan pada laki-laki.¹⁶³ Berdasarkan periode terjadinya atresia, atresia bilier dibedakan menjadi 2 tipe, yaitu embrional atau kongenital dan perinatal. Tipe embrional hanya sebesar 20% dari seluruh kasus.¹⁵⁹ Pada tipe perinatal, saluran empedu bayi masih paten saat lahir. Proses inflamasi dan sklerosis terjadi akibat dipicu oleh suatu gangguan/infeksi perinatal, sehingga menyebabkan obstruksi lumen saluran empedu.¹⁶³ Tipe perinatal terjadi pada 80% kasus atresia, dan biasanya tidak terkait dengan malformasi pada organ lain.¹⁵⁹

Tanda-tanda klinis yang menjadi ciri atresia bilier adalah ikterus, tinja pucat (*acholic stool*), kencing berwarna gelap (seperti teh), dan hepatomegali, yang didapatkan baik pada tipe embrional maupun perinatal. Namun, usia onset dan adanya gejala penyerta memungkinkan adanya perbedaan antara dua bentuk klinis tersebut. Tanda-tanda lain mungkin didapatkan adalah steatorrhea yang terjadi akibat gangguan penyerapan lemak. Penderita atresia bilier mungkin mengalami gizi buruk dan tanda atau gejala akibat kekurangan vitamin yang larut dalam lemak, seperti perdarahan, termasuk perdarahan intrakranial karena defisiensi vitamin K.³ Pada tahapan lebih lanjut penyakit ini, penderita dapat mengalami splenomegali, sirkulasi kolateral, asites, perdarahan saluran cerna bagian atas akibat pecahnya varises esofagus, dan tanda atau gejala lain akibat hipertensi porta dan sirosis hati.¹⁶³ Diagnosis banding atresia bilier meliputi daftar panjang dan heterogen dari berbagai penyakit. Kelangsungan hidup jangka panjang dan kualitas hidup sebagian besar dari penderita tergantung pada pengobatan dini. Oleh karena itu, kolestasis neonatal dapat dilihat sebagai salah satu kedaruratan gastroenterologi pediatrik.¹⁶⁴ Dalam evaluasi bayi dengan kolestasis, langkah pertama adalah menentukan apakah ikterus yang terjadi akibat dari suatu proses obstruktif. Setelah itu, pada spektrum penyakit parenkim yang mendasari, khususnya pada penyebab yang dapat diobati (infeksi dan metabolik). Diagnosis pasti atresia bilier ditegakkan jika didapatkan obstruksi akibat fibrosis saluran empedu ekstrahepatik saat dilakukan laparotomi eksplorasi dengan kolangiografi, karena tidak ada metode diagnostik lain yang tersedia memiliki sensitivitas dan spesifisitas 100% dalam menegakkan diagnosis atresia bilier.¹⁶³

6.2 TATA LAKSANA ATRESIA BILIER

6.2.1 Pengobatan Bedah: Portoenterostomi (Prosedur Kasai)

Terapi optimal untuk penderita dengan atresia bilier yang diagnosis ditegakkan sebelum usia 12 minggu adalah intervensi bedah portoenterostomi, di mana lubang Roux-en-Y dari jejunum dihubungkan

dengan anastomosis ke *porta hepatis* setelah mencari sisa-sisa duktus empedu yang masih paten.¹⁶² Jika dilakukan dalam 60 hari pertama kehidupan oleh ahli bedah anak yang berpengalaman, portoenterostomi dapat menghasilkan drainase empedu dari hati ke dalam saluran usus pada 70-80% penderita, yang ditandai dengan peningkatan pigmentasi kotoran dan berkurangnya ikterus.^{162,165} Jika dilakukan antara 60 dan 90 hari, sekitar 40-50% dari penderita menunjukkan drainase empedu, jika dilakukan setelah 90 hari, drainase menunjukkan 25%, dan jika dilakukan setelah 120 hari, hanya 10-20% penderita menunjukkan bukti drainase empedu. Oleh karena itu, sebagian besar ahli bedah tidak akan melakukan portoenterostomi pada bayi dengan atresia bilier yang didiagnosis setelah usia 3-4 bulan. Sehingga, penting bahwa bayi yang tetap kuning setelah usia 2-3 minggu dievaluasi untuk kolestasis dan jika perlu evaluasi lebih lanjut untuk atresia bilier.

Tujuan dari terapi setelah tindakan portoenterostomi adalah untuk mengurangi komplikasi, meningkatkan status gizi, merangsang koleresis, mencegah infeksi (kolangitis) dan inflamasi persisten. Langkah pertama yang perlu dilakukan meliputi penilaian status gizi, berdasarkan tebal lemak bawah kulit pada trisep dan lingkaran lengan atas. Berat badan bukan parameter terbaik pada penderita dengan penyakit hati kronis, karena organomegali dan ascites mungkin menutupi adanya malnutrisi. Mempertahankan status gizi sangat penting untuk keberhasilan pengobatan, terutama pada anak-anak kolestasis dengan penyakit hati yang progresif. Kekurangan makronutrien, mikronutrien, dan vitamin larut lemak harus dicegah. Pemberian ASI sebaiknya dilanjutkan setelah portoenterostomi. Untuk bayi non ASI dan mereka yang mengalami kesulitan kenaikan berat badan yang sesuai, terapi nutrisi dilengkapi penggunaan susu formula dengan trigliserida rantai menengah. Dalam beberapa kasus, diperlukan pemasangan pipa nasogastrik dan suplementasi dengan vitamin yang larut dalam lemak.¹⁶⁶

Asam ursodeoksikolat secara rutin digunakan untuk merangsang koleresis, sebagai upaya untuk mencegah fibrosis dan progresivitas penyakit hati. Belum ada studi yang mengonfirmasi efikasi asam

ursodeoksikolat, namun karena dapat ditoleransi dengan baik dan berpotensi memberi keuntungan pada atresia bilier, UDCA sering digunakan dengan dosis 10-20 mg/kg/hari.¹⁶⁷

Indikasi utama terapi antibiotik pada periode paska operasi adalah pencegahan dan pengobatan kolangitis *ascending*. Tidak ada kesepakatan bersama pada manajemen terbaik tentang pemberian profilaksis primer. Jika penderita menerima steroid pada periode pasca operasi, wajib diberikan antimikroba karena juga untuk mencegah infeksi *Pneumocystis carinii*. Oleh karena itu, kombinasi trimetoprim dan sulfametoksazol direkomendasikan oleh para peneliti.^{168,169}

Proses inflamasi yang luar biasa pada *porta hepatis* penderita atresia bilier mencetuskan hipotesis bahwa mekanisme kekebalan mungkin memainkan peran dalam patogenesis dan perkembangan atresia bilier setelah operasi, yang memotivasi para penelitian mengkaji penggunaan steroid dalam upaya untuk mencegah kolangitis inflamasi. Pemberian steroid diharapkan berguna untuk meminimalkan kerusakan saluran empedu intrahepatik, menjaga aliran empedu, dan menghambat atau bahkan mencegah terjadinya fibrosis.¹⁵⁹

6.2.2 Terapi Steroid pada Atresia Biliar

Semakin banyak para ahli yang menganut pandangan bahwa atresia bilier bukanlah penyakit tunggal, melainkan fenotipe klinis yang dihasilkan dari sejumlah etiologi yang berbeda.¹⁵⁸ Penderita yang diklasifikasikan dalam tipe embrional hanya sekitar 20%, dan umumnya disertai anomali bawaan lainnya (misalnya, polisplenia dan asplenia) yang memiliki tahap embriologis sama seperti pembentukan saluran empedu. Sebagian besar penderita termasuk dalam tipe perinatal atau diperoleh, di mana gangguan perinatal (misalnya, infeksi virus) menjadi pemicu kerusakan saluran empedu dan apoptosis kolangiosit, peradangan periduktal, selanjutnya terjadi obstruksi dan fibrosis saluran empedu ekstrahepatik (Gambar 1).¹⁷⁰

Dalam hati dan saluran empedu bayi dengan atresia bilier, respons sel T terutama sel T helper-1 merupakan mekanisme inflamasi yang dominan, dengan *Interferon- γ* (Inf- γ) dan *Tumor Necrosis Factor- α*

(TNF- α) memegang peranan yang penting.² Terdapat bukti yang mendukung bahwa baik CD-4 maupun CD-8 memediasi terjadinya kerusakan sel saluran empedu.¹⁷¹ Mekanisme respons sel T helper-1 yang menyerupai kejadian atresia bilier pada manusia banyak dijumpai dalam model hewan coba, dengan induksi rotavirus rhesus pada tikus yang baru lahir.^{2,8,172} Respons imun bawaan juga ikut diaktifkan dalam hati penderita atresia bilier, yang ditunjukkan oleh hadirnya sel-sel makrofag CD68+/keluarga monosit pada saluran porta dan bukti pelepasan kemokin dan sitokin oleh sel tersebut maupun sel-sel terkait.² Didapatkan juga ekspresi abnormal molekul adhesi seluler (*intercellular cell adhesion molecule/ICAM/CD54*, *vascular cell adhesion molecule/VCAM/CD62E*) pada epitel empedu dan endotelium vaskuler, serta peningkatan kadar molekul adhesi terlarut dalam sirkulasi.¹⁷³ Selain itu, berbagai sitokin, kemokin, dan faktor-faktor pertumbuhan lain juga dilepaskan yang merangsang amplifikasi kaskade inflamasi dan induksi fibrogenesis. Data terakhir dari King's College group menunjukkan bahwa biomarker inflamasi dalam sirkulasi (seperti *soluble intercellular cell adhesion molecule/sICAM*) mungkin dapat memprediksi respons klinis terhadap HPE (kebutuhan untuk transplantasi hati di usia 1 tahun).¹⁷³ Dengan demikian, tampaknya terdapat pembenaran secara ilmiah untuk mendapatkan terapi baru atresia bilier dengan menargetkan jalur inflamasi kritis.

Efek potensial terapi steroid diduga berhubungan dengan induksi Na⁺K⁺-ATPase, yang meningkatkan transportasi kanalikuler elektrolit dan garam empedu, sehingga merangsang aliran empedu.¹⁵⁴ Kortikosteroid juga terbukti meningkatkan *natrium hidrogen exchanger* (NHE) isoform dari penukar Na⁺/H⁺ dan penukar CL⁻/HCO₃⁻, sehingga memproduksi lebih banyak empedu yang diperkaya bikarbonat.¹⁶⁶ Selain itu, telah banyak dijelaskan kortikosteroid memiliki berbagai sifat anti inflamasi dan imunomodulator yang berpotensi menghambat migrasi limfosit dan makrofag ke dalam saluran empedu yang mengalami kerusakan, meningkatkan transkripsi pengkodean gen untuk protein anti-inflamasi, dan meningkatkan respons imun anti-inflamasi Th 2. Steroid mengurangi ekspresi kemokin (*interleukin-8*

dan *monocyte chemotactic protein -1*) pada model tikus dengan kolangitis bakteri,¹⁷⁴ dan dapat menjelaskan pengamatan Karrer dan Lilly pada manfaat steroid dalam pengobatan kolangitis. Fibrosis dari sisa-sisa saluran empedu dan saluran intrahepatik pada atresia bilier dikaitkan dengan respons inflamasi yang kuat, diduga bahwa melalui penekanan respons imun, steroid mampu mengurangi fibrosis dan penyumbatan saluran empedu intrahepatik, sehingga dapat mempertahankan aliran empedu.¹⁵⁶ Dengan demikian, terdapat pembenaran secara ilmiah yang memadai tentang manfaat potensial terapi steroid pada atresia bilier.

Penggunaan klinis steroid pada atresia bilier meningkat tajam dalam beberapa tahun terakhir setelah publikasi dari serangkaian penelitian yang membuktikan hasil lebih baik pada terapi rutin steroid paska HPE dibandingkan dengan berbagai kelompok kontrol. Studi tersebut menggunakan dosis maksimum steroid yang berbeda (1-10 mg/kg/hari), memiliki jadwal dosis tapering yang unik, dan lama pemberian yang bervariasi (umumnya 1-3 bulan). Perlu menjadi catatan bahwa tidak satupun studi tersebut yang prospektif, acak, dan terkontrol plasebo. Terdapat variabel lain yang juga dapat memengaruhi perbedaan hasil pada kelompok steroid, misalnya, penggunaan antibiotik intravena, terapi asam empedu, dan operasi dilakukan oleh dokter bedah yang berbeda dengan pengalaman bervariasi. Hampir semua publikasi menyimpulkan bahwa diperlukan uji secara prospektif acak terkontrol untuk menentukan apakah steroid benar-benar efektif. Tingkat penggunaan terapi steroid pada atresia bilier tahun 2002-2003 melalui survei nasional 54 lembaga di Jepang, 21 hanya 2 yang tidak menggunakan steroid, 43 digunakan secara rutin dan secara selektif digunakan di 9 pusat. Dari tahun 1997 hingga 2000, 208 penderita dengan atresia bilier tipe III mendapat pengobatan steroid, dan hanya 14 yang tidak. Mayoritas ahli bedah anak merasa terdorong untuk mengobati atresia bilier dengan steroid.

Penentuan apakah terapi steroid digunakan dalam atresia bilier harus mempertimbangkan tidak hanya keberhasilan potensi, tetapi juga efek samping obat dalam rangka penentuan risiko-manfaat pengobatan. Sayangnya, keamanan pengobatan steroid pada bayi

dengan atresia bilier belum pernah dikaji secara prospektif. Hanya beberapa kejadian efek samping yang pernah dilaporkan dan bersifat retrospektif dari pengumpulan data. Dalam survei nasional di Jepang, lima komplikasi yang dilaporkan pernah terjadi, di antaranya *dehiscence* luka, perdarahan, dan perforasi gastrointestinal, kegagalan anastomotik, dan infeksi kandida. Namun, laporan ini juga tidak memiliki kelompok kontrol yang memadai, sehingga hubungan sebab-akibat tidak bisa dinilai secara akurat.¹⁷⁵

6.3 KOMPLIKASI

Selama perjalanan penyakit, penderita atresia bilier dapat mengalami komplikasi-komplikasi dari penyakit itu sendiri, seperti konsekuensi dari kolestasis kronis (steatorrhea, kekurangan gizi, lemak-larut kekurangan vitamin, gangguan perkembangan neuropsikomotor, ikterus, pruritus, hipertensi porta, dan sirosis bilier sekunder), serta yang terkait dengan portoenterostomi (kolangitis asending).

Setelah portoenterostomi, komplikasi dini yang paling sering terjadi adalah kolangitis *ascending*, dan penanganan komplikasi tersebut penting untuk memelihara aliran empedu dan berpengaruh pada prognosis penderita. Diduga ada hubungan antara besarnya episode kolangitis dengan risiko tinggi sklerosis dan hilangnya sisa-sisa saluran empedu intrahepatik, dengan konsekuensi lebih lanjut terjadi sirosis hati.¹⁷⁶ Kolangitis *ascending* terjadi pada 40-60% dari penderita atresia bilier yang mendapat terapi bedah portoenterostomi. Kolangitis *ascending* paling sering terjadi pada penderita atresia bilier dengan drainase empedu yang baik pada tahun pertama setelah operasi. Patogenesis terjadinya kolangitis *ascending* masih belum diketahui dengan pasti. Kolangitis *ascending* diperkirakan terjadi karena translokasi bakteri akibat setelah portoenterostomi. Hal ini disebabkan karena tidak ada lagi ampula Vateri yang bertindak sebagai penghalang terhadap migrasi bakteri. Agen etiologi utama kolangitis *ascending* adalah *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* dan *Salmonella typhi*.¹⁷⁷ Secara klinis, kolangitis

ditandai dengan adanya demam, iritabel, kehilangan nafsu makan, muntah, ikterus, kencing seperti teh, dan tinja pucat.

Hipertensi porta adalah komplikasi kedua yang juga sering terjadi pada atresia bilier. Kejadian hipertensi porta tergantung pada tingkat fibrosis hati saat portoenterostomi dan respons terhadap portoenterostomi.¹⁷⁸ Pada bayi tanpa drainase yang baik, perkembangan fibrosis hati terjadi lebih cepat. Dalam kasus tersebut, varises esofagus dapat terjadi di awal tahun pertama kehidupan. Bayi dengan drainase empedu yang baik dapat menderita fibrosis dan hipertensi portal, namun pada waktu yang lebih lama. Dalam perjalanan penyakitnya, penderita mungkin mengalami sirkulasi kolateral, splenomegali, hipersplenisme, peritonitis bakteri spontan, asites, perdarahan saluran cerna bagian atas akibat pecahnya varises esofagus dan/atau lambung, ensefalopati hati, sindrom hepatorenal, sindrom hepatopulmoner, dan kegagalan fungsi hati.¹⁵⁹

Gangguan perkembangan psikomotor dapat terjadi pada penderita dengan penyakit hati kronis progresif. Hal ini diduga berkaitan dengan kekurangan gizi, dan untuk menghindari konsekuensi yang tidak diinginkan tersebut, perlu dukungan nutrisi yang baik dan transplantasi hati sebaiknya dilakukan sebelum penyakit mencapai tahap lanjut.¹⁶⁷

Pruritus dapat terjadi pada penderita atresia bilier, meskipun seberat penyakit lain, seperti pada *progressive familial intrahepatic cholestasis*. Terapi pilihan umum digunakan meliputi asam ursodeoksikolat,¹⁶⁷ dan rifampisin.¹⁷⁹ Rifampisin meningkatkan sekresi bilirubin dengan menginduksi *glucuronyl-transferase* (UGT1A1) dan protein pembawa bilirubin glukuronat (MDR2). Saat rifampisin menginduksi CYP3A4, konversi asam empedu hidrofobik menjadi senyawa hidrofilik menjadi lebih mudah, yang kemudian mengalami konjugasi diikuti dengan ekskresi melalui MDR3. Asam ursodeoksikolat berperan meningkatkan ekspresi beberapa enzim pembawa, meliputi BSEP, MDR3 dan MRP4, yang berperan pada ekskresi dari asam empedu, fosfolipid, dan anion organik terkonjugasi.¹⁸⁰

6.4 PROGNOSIS DAN TRANSPLANTASI HATI

Prognosis atresia bilier tergantung pada terapi yang digunakan dan monitoring paska operasi. Jika portoenterostomi tidak dilakukan, fibrosis akan berkembang menjadi sirosis stadium akhir dan kematian dalam tahun pertama kehidupan pada 50-80% penderita dan hingga tahun ketiga kehidupan mencapai 90-100%.^{181,182} Penderita yang mendapatkan terapi bedah umumnya memiliki salah satu dari tiga kemungkinan hasil sebagai berikut, 1) respons yang baik: penderita menunjukkan perbaikan klinis, dengan kelainan ringan enzim hati; 2) respons parsial: penderita menunjukkan drainase empedu yang baik, tetapi masih didapatkan fibrosis hati yang progresif; 3) kegagalan terapi: penderita memiliki hasil yang identik dengan atau lebih buruk dibandingkan sebelum diobati. Dengan demikian, meskipun aliran empedu telah membaik, harus tetap dilakukan pemantauan ketat penderita, karena mungkin masih terjadi kerusakan hati progresif yang mengarah pada sirosis.

Faktor-faktor yang memengaruhi prognosis adalah usia penderita pada saat operasi; derajat fibrosis hati saat operasi; tingkat kerusakan duktus intrahepatik; jumlah episode kolangitis *ascending*; keahlian dokter bedah; lokasi penyumbatan saluran empedu, dan jenis atresia (embrional atau perinatal).¹⁵⁹ Sedangkan untuk usia, penderita yang dilakukan prosedur Kasai pada usia dini (<60 hari) memiliki prognosis yang lebih baik (seperti terlihat pada Tabel 5).^{170,183}

Setelah bulan ketiga kehidupan, Kasai portoenterostomi masih diindikasikan meskipun dengan tingkat keberhasilan yang lebih rendah, namun diharapkan kebutuhan untuk transplantasi hati dapat ditunda. Namun demikian, harus dievaluasi ketat secara individual untuk dilakukan portoenterostomi pada penderita tersebut. Penilaian preoperatif harus mengidentifikasi anak dengan penyakit hati lanjut, karena bila dilakukan portoenterostomi Kasai tidak akan memberikan hasil yang baik dan kepada penderita yang berbahaya bila transplantasi hati terlambat dilakukan.¹⁸¹

Selain pengaruh usia, beberapa penelitian juga mengorelasikan ukuran sisa-sisa saluran empedu pada *porta hepatis* dengan hasil

portoenterostomi. Studi sebelumnya mendapatkan drainase yang lebih baik pada penderita dengan sisa-sisa saluran empedu proksimal lebih besar dari 150 μM , yang tidak ditunjukkan oleh peneliti lain.¹⁸⁴ Sedangkan studi lain mengamati bahwa kebutuhan fototerapi pada periode neonatal dan saluran empedu di *porta hepatis* lebih kecil dari 200 μM terkait dengan kebutuhan untuk transplantasi hati setelah portoenterostomi.¹⁸⁵

Penderita dengan saluran empedu proksimal yang paten dan obstruksi berada di distal (tipe 1) memiliki prognosis lebih baik dibandingkan dengan atresia proksimal yang meluas ke dalam *porta hepatis*.^{186,187} Penderita dengan atresia tipe embrional memiliki prognosis yang lebih buruk bila dibandingkan tipe perinatal.¹⁸³ Hasil yang tidak memuaskan dari portoenterostomi Kasai pada usia kurang dari 30 hari mungkin mencerminkan patogenesis yang berbeda dari tipe embrional atau fetal.¹⁸⁸ Agenesis saluran empedu, yang mungkin akibat dari agenesis primer divertikulum hati jarang ditemukan dan membutuhkan transplantasi hati, bahkan sebelum portoenterostomi.¹⁸⁹

Kadar bilirubin total paska operasi merupakan prediktor survival jangka panjang yang sangat baik.¹⁹⁰ Kadar di bawah 1,0 mg/dL, dalam waktu 3 bulan setelah operasi berkorelasi dengan prognosis yang baik, dan kebutuhan akan transplantasi di masa depan sangat jarang.¹⁹¹ Temuan ini memiliki nilai praktis yang signifikan karena dapat membantu mengidentifikasi penderita yang membutuhkan terapi obat dan dukungan nutrisi yang lebih intensif selama perkembangan penyakit.

Meskipun kemajuan besar dalam hepatologi anak dalam beberapa tahun terakhir, hanya 11% dari remaja dan dewasa muda dengan atresia yang dilakukan portoenterostomi menunjukkan tanda-tanda penyakit hati kronis minimal, dan karena itu dianggap sebagai “sembuh”.¹⁵⁵ Antara 70-80% anak-anak dengan atresia bilier membutuhkan transplantasi hati dalam dua dekade pertama kehidupannya,¹⁸² oleh karena itu menjadi indikasi utama untuk transplantasi pada anak, mencakup 50% dari transplantasi yang dilakukan pada anak.¹⁵³

Waktu dilakukan transplantasi dan status gizi penderita berpengaruh pada hasil paska transplantasi. Kemajuan teknik transplantasi dan rujukan yang sesuai penderita memungkinkan peningkatan angka kelangsungan hidup.¹⁹² Saat ini, kelangsungan hidup jangka panjang dari penerima transplantasi dengan atresia mencapai 80-90%.¹⁵⁹ Jika perawatan atresia belum mengalami kemajuan, maka transplantasi hati menjadi pengobatan yang efektif sejalan dengan kemajuan dalam teknik bedah dan rejimen immunosupresif.¹⁹²

6.5 RUJUKAN PENDERITA ATRESIA BILIER KE PUSAT KHUSUS

Rujukan dini penderita atresia bilier ke pusat khusus merupakan aspek yang penting untuk disoroti, tetapi umumnya hal tersebut hingga saat ini belum optimal dan perlu diupayakan. Dugaan pada ikterus fisiologis atau karena ASI sering menghambat dan menunda diagnosis, kecuali jika dilakukan pengukuran kadar bilirubin untuk mendeteksi langsung hiperbilirubinemia.¹⁶⁶ Bahkan di negara-negara maju, hampir 29% dari penderita dengan atresia bilier dirujuk setelah usia 3 bulan.^{177,181} Oleh karena itu, setiap penderita dengan ikterus harus dievaluasi lebih lanjut setelah usia 14 hari, karena pada usia tersebut diagnosis ikterus fisiologis bisa disingkirkan.¹⁹³ Warna feses dan urine harus dicermati saat memeriksa bayi kuning.

STUDI TRANSLASIONAL PADA ATRESIA BILIER

Penyakit yang bermanifestasi sebagai kolestasis pada anak, sering terjadi akibat proses patologis yang dimulai sejak awal kehidupan, saat hati belum mencapai kematangan fungsional dan lebih rentan terhadap konsekuensi yang merugikan dari paparan endogen (metabolisme, genetik) atau lingkungan.¹⁹⁴

Atresia bilier merupakan hasil dari sebuah proses fibrosis progresif dan kolangiopati inflamasi yang dimulai pada masa awal kehidupan bayi dan dengan cepat berkembang ke arah obstruksi lengkap saluran empedu ekstrahepatik. Sebagai akibatnya, muncul manifestasi klinis ikterus, tinja pucat, dan hepatomegali. Intervensi bedah dini untuk melancarkan aliran empedu memberikan peluang besar untuk bertahan lebih lama dengan hati asli sebelum dilakukan transplantasi. Dengan tidak adanya intervensi bedah, cedera yang sedang berlangsung mengarah pada sirosis bilier, hipertensi portal, dan stadium akhir penyakit hati yang memerlukan transplantasi hati untuk kelangsungan hidup jangka panjang.¹⁹⁵

Meskipun atresia bilier menimbulkan konsekuensi yang berat terhadap kesehatan anak, studi yang fokus pada mekanisme patogen penyakit masih terbatas. Salah satu faktor utama yang membatasi studi tentang etiologi dan patogenesis atresia bilier adalah sifat multifaktorial penyakit. Sebagian besar penderita atresia bilier telah mengalami kerusakan saluran empedu tahap lanjut saat diagnosis ditegakkan. Dengan model eksperimental atresia bilier yang tersedia saat ini, sangat berguna dalam studi mekanistik untuk menguji secara langsung hipotesis mengenai patogenesis penyakit yang dihasilkan dari studi berbasis penderita.

Perlu pemahaman lebih lanjut tentang bagaimana kerusakan jalur molekuler yang mengatur mekanisme penyakit dan faktor yang memodifikasi perjalanan klinis atresia bilier, baik pada studi yang berbasis manusia maupun hewan coba, serta implikasi dari temuan tersebut untuk pengembangan terapi baru di masa depan.

Atresia bilier adalah penyebab umum kolestasis pada neonatus dan indikasi yang paling umum untuk transplantasi hati pada anak. Manifestasi klinis terjadi akibat dari proses inflamasi dan fibrosis yang menghambat lumen saluran empedu ekstrahepatik dan mengganggu aliran empedu ke duodenum. Kelainan saluran empedu juga ditemukan di dalam hati, biasanya berupa proliferasi dan penyumbatan pada lumen oleh endapan (*inspissated*) empedu, berbagai derajat peradangan portal, kerusakan hepatosit, dan transformasi sel Kupffer juga ditemukan saat diagnosis ditegakkan.¹⁹⁵

Kelainan patologis pada hati dapat merupakan perubahan reaktif sekunder terhadap gangguan yang ditujukan terutama pada saluran empedu ekstrahepatik ataukah merupakan kelainan primer itu sendiri. Sebuah studi yang menganalisis histologi hati dan saluran empedu dari tiga bayi baru lahir dengan atresia bilier tipe embrionik (ko-eksistensi atresia bilier dan kelainan bawaan nonhepatik), menunjukkan bahwa kondisi hati relatif masih normal saat lahir, tetapi neonatus tersebut telah memiliki bukti biokimia dan/atau anatomi keterlibatan saluran empedu ekstrahepatik.¹⁹⁶ Hasil tersebut menguatkan pendapat bahwa saluran ekstrahepatik sebagai lokasi primer dari kerusakan awal, setidaknya pada tipe embrionik.

7.1 DIAGNOSIS DINI ATRESIA BILIER

Hasil pengobatan penderita dengan atresia bilier dipengaruhi secara langsung pada saat ditemukan dan kecepatan diagnosis penyedia layanan kesehatan. CPHRG menemukan bahwa tingkat kelangsungan hidup 10 tahun dengan hati asli menurun seiring bertambahnya usia dilakukan portoenterostomi; bayi yang menjalani operasi di Kanada pada usia 30 hari, 49% hidup dengan hati mereka sendiri 10 tahun kemudian, dibandingkan dengan 25% dari mereka

yang operasi terjadi pada tanggal 31-90 hari usia dan 15% dari mereka yang dirawat setelah 90 hari usia.¹⁹⁷ Temuan ini konsisten dengan studi lain,¹⁹⁸ meskipun sebuah penelitian kohort retrospektif di Amerika tidak mampu menunjukkan apakah umur saat portoenterostomi berpengaruh terhadap kelangsungan hidup dengan hati asli, mungkin karena jumlah subjek penelitian kecil dan waktu pemantauan pendek (2 tahun).¹⁹⁹ Sebuah studi dari Perancis menunjukkan manfaat intervensi lebih dini pada kelangsungan hidup 15 tahun dengan hati asli.²⁰⁰ Usia muda pada saat dilakukan portoenterostomi menunjukkan hasil yang lebih baik membuat organisasi profesional merekomendasikan pengukuran kadar bilirubin direk pada bayi dengan ikterus yang menetap hingga usia 2-3 minggu.²⁰¹

Perjalanan alamiah berbagai kondisi dengan manifestasi kolestasis neonatal juga dapat diubah dengan intervensi medis lebih awal. Pada penderita dengan hipotiroidisme kongenital, studi kohort retrospektif menunjukkan pentingnya intervensi awal (umur <2 minggu) dengan levothyroxine dosis tinggi (10-15 ug/kg/hr) dalam upaya meningkatkan hasil neurodevelopmental.²⁰² Pada penderita dengan gejala infeksi sitomegalovirus bawaan dan keterlibatan multiorgan, pemberian ganciclovir tepat waktu dapat mengurangi prevalensi gangguan pendengaran kongenital,²⁰³ meskipun kriteria pemilihan calon penderita yang mendapatkan pengobatan masih kontroversial. Penatalaksanaan diet dapat memperbaiki *outcome* pada bayi yang menderita galaktosemia, meskipun keterbelakangan mental dan kelainan neurologis lainnya dapat terjadi pada penderita yang patuh terhadap pengobatan.²⁰⁴ Perawatan tirosinemia dengan nitisinone dan diet rendah tirosin, fenilalanin, dan metionin mengurangi risiko gangguan perkembangan, kardiomiopati, gagal hati, dan kanker hati, namun perkembangan massa hati tetap harus diperiksa secara teratur.¹⁶²

7.2 METODE SKRINING ATRESIA BILIER

Tes skrining merupakan metode yang penting untuk mendeteksi kolestasis neonatal pada usia dini. Feses pucat yang menetap ditemukan

hingga 95% pada bayi dengan atresia bilier. Atresia bilier memenuhi kriteria sebagai kondisi yang sesuai untuk skrining pada bayi secara universal, karena merupakan masalah kesehatan penting yang memiliki periode gejala laten atau awal, dan bila intervensi dilakukan tepat waktu dapat memperbaiki *outcome*.²⁰¹ Oleh karena itu, para peneliti berusaha mempelajari kelayakan dan efektivitas berbagai metode skrining.

Usia saat diagnosis ditegakkan merupakan salah satu faktor kunci yang memengaruhi respons jangka pendek dan panjang terhadap pengobatan bedah (portoenterostomi), dengan hasil terbaik yang dilaporkan pada bayi yang lebih muda. Temuan tersebut berdasarkan penelaahan atas hasil semua bayi yang didiagnosis dengan atresia bilier di Prancis antara 1986 dan 2002. Analisis bagaimana pengaruh umur terhadap *outcome* pada 696 bayi yang telah dilakukan portoenterostomi menunjukkan penurunan kelangsungan hidup tanpa transplantasi dengan bertambahnya usia saat operasi dan hasil terbaik dilaporkan pada bayi umur ≤ 30 hari.²⁰⁰ Diperkirakan bahwa jika semua portoenterostomi dilakukan sebelum usia 46 hari, transplantasi hati pada penderita kurang dari 16 tahun di Perancis akan berkurang 5,7% yang berpotensi memberikan manfaat besar bagi penderita dan masyarakat.

Dengan demikian, tantangan yang perlu mendapatkan perhatian saat ini adalah kemampuan untuk mendiagnosis dan mengobati penderita atresia bilier sedini mungkin. Salah satu strategi untuk mengidentifikasi penderita pada usia lebih muda adalah penggunaan kartu warna feses untuk mengidentifikasi bayi yang berisiko dengan cara membantu orangtua mendeteksi tinja pucat dan segera mencari perawatan medis meskipun gejala lainnya tidak jelas. Penggunaan sistem tersebut di seluruh Taiwan dapat meningkatkan portoenterostomi sebelum umur 60 hari dari 60% menjadi 74,3%.²⁰⁵ Selain itu, didapatkan persentase lebih besar pada bayi dengan peningkatan aliran empedu 3 bulan setelah operasi (59,5% vs data historis 37%). Perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk menguji dampak dari skrining atresia bilier dengan kartu warna feses di daerah lain, terutama di daerah di mana tingkat

diagnosis dini sangat rendah. Kesadaran masyarakat dan rujukan awal ke pusat-pusat khusus perlu ditingkatkan agar dapat dilakukan diagnosis dan intervensi bedah lebih dini sehingga meningkatkan *outcome*.²⁰⁶

7.3 BIOMARKER ATRESIA BILIER

Turunnya kadar bilirubin serum 3 minggu setelah portoenterostomi dikaitkan dengan peningkatan ketahanan hidup dengan hati asli lebih dari 2 tahun.¹⁹¹ Namun, meskipun gambaran klinis yang relatif sama meliputi kuning (ikterus), tinja pucat, dan hepatomegali, sangat sedikit pengetahuan tentang faktor-faktor yang memengaruhi tingkat keparahan patologi hati dan dasar untuk menilai perkembangan atresia bilier menjadi penyakit hati stadium akhir. Pemeriksaan marker histologis saat diagnosis mungkin dapat memprediksi hasil klinis dan prognosis. Misalnya, penentuan tingkat fibrosis portal dengan menerapkan sistem komputerisasi untuk biopsi hati 7 yang diwarnai dengan picrosirius merah pada 53 subjek dengan atresia bilier.²⁰⁷ Peneliti menemukan bahwa rendahnya volume rata-rata fibrosis per area periportal (skor Vfib <2,5%) memiliki nilai prediktif yang kuat untuk hidup bebas transplantasi dengan hati asli hingga 5 tahun. Menariknya, hubungan tersebut tidak ada jika fibrosis dihitung dengan skor Ishak. Penggunaan sistem penilaian yang sama untuk fibrosis juga tidak dapat memprediksi hasil jangka panjang pada studi lain yang mengevaluasi 47 biopsi hati. Sebaliknya, kajian ini menemukan bahwa proliferasi saluran empedu yang luas berkaitan dengan transplantasi hati atau kematian pada tahun pertama setelah portoenterostomi.²⁰⁸ Meskipun tingkat fibrosis yang rendah atau proliferasi saluran empedu kurang mencerminkan gambaran keparahan penyakit, nilai prediktif negatif kedua variabel rendah. Walaupun dengan keterbatasan tersebut, kuantifikasi biomarker masa depan dalam hati atau serum dan gambaran histopatologi kunci mungkin menemukan pendekatan baru untuk menilai derajat penyakit, memprediksi hasil jangka panjang, dan merancang strategi pengobatan yang memperhitungkan tahap penyakit hati di saat diagnosis.

7.4 FAKTOR GENETIK

Atresia bilier merupakan hasil dari interaksi antara faktor lingkungan dan genetik (Tabel 1).¹⁹⁵ Kontribusi faktor genetik sebagian besar didasarkan pada koeksistensi kelainan bawaan non-hepatik, termasuk di antaranya kelainan lateral dan polysplenia pada subkelompok bayi dengan atresia bilier. Untuk mendukung peran gen dalam patogenesis penyakit, obstruksi saluran empedu ekstrahepatik dan ikterus dilaporkan pada tikus yang membawa gen inversin inaktif. Namun, analisis mutasi pada anak dengan cacat *laterality* dan atresia bilier gagal untuk mengidentifikasi adanya mutasi inversin.²⁰⁹

Tabel 2. Mekanisme potensial yang terlibat dalam patogenesis atresia bilier ³³

Mekanisme	Data pendukung
Defek morfogenesis	Ikterus terjadi segera setelah lahir Bersamaan dengan kelainan embriologis lainnya <i>Remodelling</i> abnormal dari "ductal plate" Tikus <i>Inv</i> : model obstruksi bilier dan situs inversus Polimorfisme pada gen <i>Jag1</i> Mutasi pada gen <i>CFC1</i> (protein CRYPTIC)
Defek sirkulasi prenatal	Kelainan pembuluh darah hati: hiperplasia and hipertrofi arteri Hepatika
Paparan toksin	Kasus pada kelompok waktu dan tempat yang sama
Infeksi virus	Reovirus, rotavirus, CMV, HHV6, human papilloma virus pada bayi dengan atresia bilier Model tikus dengan kerusakan saluran bilier yang diinduksi virus
Disregulasi imunologis	Peningkatan ekspresi molekul adesi Infiltrasi CD4+, CD8+, sel NK, dan makrofag aktif aktif pada struktur bilier Prevensi atresia bilier eksperimental pada tikus dengan menghilangkan $\alpha 2\beta 1$ integrin, IFN γ , sel CD8+, sel NK Peningkatan frekuensi ekspresi alel HLA-B12 dari sitokin proinflammatori Ekspansi lymphocytes oligoclonal <i>Chimerism</i> maternal

Keterangan: CMV=cytomegalovirus; HHV=human herpes virus; IFN=interferon; NK=natural killer

Gen kandidat lain juga dilaporkan dari studi pada penderita dan hewan coba. Pertama adalah CFC1, yang mengode protein samar (*CRYPTIC*) dan mengatur penentuan sumbu kanan kiri. Dalam sebuah survei mutasi 10 penderita tidak terkait dengan sindrom atresia bilier-kelainan lienalis, terdapat frekuensi alel 25% pada varian c.433G >A, yang berada pada motif yang sangat lestari dari gen mamalia (vs 12,5% pada populasi kontrol).²⁰ Dalam sebuah studi terpisah pada anak dengan atresia bilier (semua bentuk klinis), polimorfisme +936 C/T gen *vascular endothelial growth factor* lebih sering terjadi pada 45 anak Taiwan dengan atresia bilier dibandingkan kontrol.²¹⁰

Dalam penelitian hewan coba, gen *Sox17* dan *Lgf4* ditemukan memainkan peran penting dalam perkembangan saluran empedu. Penelitian pertama ekspresi gen yang dikenal untuk mengatur garis keturunan endoderm yaitu *Sox17*, hasil analisis morfologis pada anatomi hepatobilier mengungkapkan bahwa penghapusan *Sox17* mengakibatkan hilangnya struktur empedu dan terbentuknya jaringan pankreas ektopik pada kuncup hati dan saluran empedu. Ketika *Sox17* diekspresikan berlebih, perkembangan pankreas dihambat dan ditemukan jaringan bilier ektopik di daerah yang seharusnya lokasi pankreas.²¹¹ Percobaan ini sangat menyarankan bahwa perkembangan sistem empedu ekstrahepatik lebih selaras dengan sirkuit molekular pengendalian perkembangan pankreas bukan hati.

Studi kedua meneliti konsekuensi dari inaktivasi gen pengkode reseptor *leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled* yaitu *Lgr4*, yang memiliki peran potensial dalam motilitas sel. Dalam studi ini didapatkan bahwa inaktivasi *Lgr4* berakibat penghentian perkembangan primordial kandung empedu. Analisis hilus hati mengungkapkan kerugian yang ditargetkan pada duktus sistikus dan kantong empedu, meskipun sistem saluran intra dan ekstrahepatik masih utuh.²¹²

Kedua studi memajukan pemahaman kita tentang regulasi molekular perkembangan saluran dan kantong empedu, dan meningkatkan kemungkinan bahwa salah satu atau kedua gen tersebut mungkin merupakan faktor kerentanan untuk atresia bilier.

7.5 FENOTIP SEL HATI

Beberapa bukti menunjukkan bahwa sistem kekebalan berperan dalam patogenesis kerusakan saluran empedu (Tabel 2). Salah satu temuan menarik yang telah mendapat perhatian adalah *maternal chimerism*.²¹³ Sebuah penelitian menemukan bahwa kromosom ganda sel berlabel-X yang berada di sinusoid dan saluran portal lebih sering didapatkan pada bayi laki-laki dengan atresia bilier daripada kelompok kontrol normal dan didapatkan juga CD8 yang merupakan penanda limfosit sitotoksik.²¹⁴ Berdasarkan kehadiran sel-sel tersebut pada kontrol normal, tidak jelas bagaimana mereka dapat secara independen mengendalikan respons imun atau apakah peningkatan tersebut mungkin lebih mencerminkan ekspansi limfosit secara umum dari semua garis keturunan (asli dan sel yang berasal maternal) dalam menanggapi proses inflamasi pada epitel saluran empedu.

Kolangiosit mengalami transisi epitel-mesenkimal (*epithelial to mesenchymal transition/EMT*), sebuah proses di mana sel epitel matur kehilangan ekspresi penanda epitel dan memperoleh fitur sel mesenkimal. *Immunostaining* dari jaringan hati bayi dengan atresia bilier menunjukkan bahwa kolangiosit menampilkan baik marker epitel (misal, CK19) maupun mesenkimal (misalnya, vimentin, *Snail*) pada saat diagnosis dan saat transplantasi hati.⁹⁹ Profil yang sama juga ditemukan pada epitel sisa saluran empedu dan kelenjar peribilier saluran empedu ekstrahepatik pada bayi dengan atresia bilier dan dalam kultur kolangiosit yang dirangsang dengan *poly* (I:C), suatu analog sintesis virus.⁴⁸ Berdasarkan hubungan fungsional antara EMT dan jaringan fibrosis, temuan tersebut melibatkan kolangiosit dalam produksi matriks ekstraseluler saat diagnosis dan selama perkembangan menjadi penyakit hati stadium akhir.

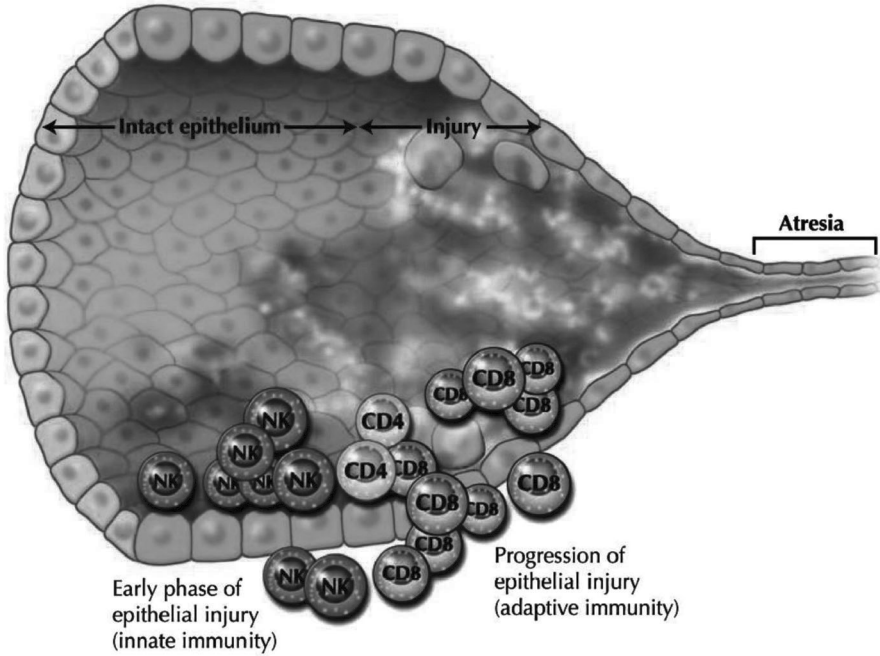
7.6 MEKANISME IMUNOLOGI KERUSAKAN SALURAN EMPEDU

Ketersediaan model tikus neonatal dengan atresia bilier yang diinduksi rotavirus, studi terhadap mekanisme kerusakan saluran empedu dapat dilakukan. Dalam model ini, inokulasi tunggal rotavirus

pada 2 hari pertama kehidupan mengakibatkan obstruksi karena inflamasi saluran empedu ekstrahepatik dan terjadi atresia setelah 12-14 hari. Dalam model eksperimen tersebut, kolangiosit memiliki kadar integrin $\alpha 2\beta 2$ yang tinggi, dan ketika integrin diblokir oleh antibodi spesifik, tikus menjadi resisten terhadap atresia bilier yang diinduksi rotavirus.²¹⁵ Dengan demikian, ekspresi integrins dan molekul lain memainkan peran kunci dalam kerentanan terhadap penyakit dan inisiasi kerusakan empedu. Sesuai dengan kemungkinan tersebut, biakan sel kolangiosit dan isolasi kolangiosit mempunyai kemampuan mengekspresikan marker *antigen-presenting cells* (misalnya, [MHC]-I dan II, CD40). Namun, kolangiosit yang dikultur tidak dapat berfungsi sebagai *antigen-presenting cells* yang kompeten dalam tes proliferasi limfosit-T.²¹⁶

Analisis seluler dan molekul saluran empedu ekstrahepatik sangat penting untuk memahami mekanisme kerusakan mukosa dan obstruksi duktus empedu pada manusia. Namun, analisis ini sangat terbatas oleh karena fibrosis luas yang biasanya didapatkan saat diagnosis ditegakkan. Pendekatan potensial untuk mengatasi masalah ini adalah dengan mempelajari sistem empedu pada titik waktu yang berbeda setelah inokulasi rotavirus pada model tikus neonatal. Dengan menggunakan model ini, peneliti memurnikan sel mononuklear dari saluran empedu ekstrahepatik dan menemukan bahwa limfosit *natural killer* (NK) adalah tipe sel mononuklear yang dominan dalam saluran empedu ekstrahepatik neonatus normal dan mengalami lonjakan pada paparan rotavirus.⁴⁶ Pentingnya temuan ini didukung oleh kemampuan sel NK yang terpapar virus untuk mengenali dan membunuh kolangiosit melalui reseptor Nkg2d. Eliminasi sel NK atau hambatan reseptor Nkg2d oleh antibodi spesifik tepat waktu dapat mencegah kerusakan pada epitel saluran empedu setelah paparan rotavirus, sehingga dinding saluran hanya mengalami peradangan minimal, lumen saluran tetap paten, dan kelangsungan hidup ditingkatkan. Secara umum, studi ini menunjukkan bahwa pemeliharaan integritas mukosa sangat penting untuk aliran empedu, dan didapatkan sel-sel NK sebagai efektor awal kerusakan saluran

melalui kontak langsung dan pembunuhan kolangiosit (Gambar.1). Komponen penting lain dari studi ini adalah sel-sel NK juga ada dalam saluran porta hati manusia saat diagnosis dan mengekspresikan penanda-penanda aktivasi. Jenis penelitian berbasis pada manusia dan tikus dapat meningkatkan pemahaman kita tentang patogenesis penyakit dan dapat mengidentifikasi target terapi untuk memblokir perkembangan penyakit.



Gambar 20. Invasi epitel duktus oleh sel inflamasi dan perkembangan menjadi atresia bilier ³⁶

Bukti baru menunjukkan hubungan sel NK pada kerusakan kolangiosit dalam model eksperimental atresia bilier yang diinduksi rotavirus. Akibat gangguan integritas epitel oleh sel, CD4⁺ T dan CD8⁺ T banyak mengisi saluran empedu dan menyebabkan obstruksi saluran dan berkembang menjadi atresia.⁴⁶

7.7 TATA LAKSANA DAN TERAPI ADJUVAN ATRESIA BILIER

Atresia bilier umumnya berakibat fatal dalam 1 hingga 2 tahun jika tidak diobati. Tata laksana awal adalah bedah (portoenterostomi atau operasi Kasai), yang meliputi eksisi saluran empedu yang atretik dan jaringan fibrosis, serta anastomosis *Roux-en-Y* dari jejunum ke saluran yang tersisa untuk drainase empedu.²¹⁷ Studi di Eropa dan Amerika Utara mengungkapkan angka kelangsungan hidup jangka menengah (2-10 tahun) tanpa transplantasi hati pada 25% sampai 60% penderita yang menjalani portoenterostomi.^{162,160} Pengalaman Kanada dengan atresia bilier menunjukkan keseluruhan rata-rata kelangsungan hidup 10 tahun setelah portoenterostomi sebesar 77% dan tingkat kelangsungan hidup dengan hati asli sebesar 46% pada 2 tahun, 36% pada 4 tahun, dan 26% pada 10 tahun.¹⁹⁷ Setiap intervensi yang meningkatkan tingkat kelangsungan hidup dengan hati asli dan secara keseluruhan dapat memengaruhi kualitas hidup anak-anak tersebut serta ketersediaan dari organ transplantasi.

Penggunaan obat-obatan yang akan mengurangi peradangan atau menekan jalur kunci inflamasi memiliki potensi untuk mengurangi kerusakan hati dan meningkatkan *outcome*. Kortikosteroid tampaknya cukup menjanjikan berdasarkan percobaan awal tanpa kontrol yang dilaporkan meningkatkan aliran empedu setelah portoenterostomi dan kelangsungan hidup jangka panjang. Meskipun laporan awal memberikan harapan, namun uji kortikosteroid secara acak buta ganda menunjukkan tidak ada perbedaan dalam aliran empedu atau kelangsungan hidup bebas transplantasi antara bayi diobati dengan kortikosteroid dan mereka yang menerima plasebo, kecuali pada perbaikan kadar bilirubin serum bila kortikosteroid yang diberikan kepada bayi yang lebih muda dari 70 hari saat portoenterostomi.²¹⁸ Sebuah penelitian lain yang terbuka (*open-label*) melaporkan bahwa penggunaan kortikosteroid (4 mg/kg/hr sejak 7 hari setelah portoenterostomi selama 2 minggu, diikuti penurunan dosis selama 4 minggu) berhubungan dengan penurunan bilirubin serum pada 3 dan 6 bulan setelah operasi, tetapi tidak menyebabkan perubahan yang signifikan pada kelangsungan hidup tanpa transplantasi pada 15 bulan

setelah operasi.²¹⁹ Studi *open-label* kedua yang menggunakan 10 mg/kg/hr pada 1 sampai 5 hari setelah operasi diikuti dengan 1 mg/kg/hr selama 6-28 hari, menunjukkan tidak ada perbedaan bilirubin pada 6 bulan setelah portoenterostomi atau kemampuan bertahan bebas transplantasi pada 2 tahun.²²⁰ Secara umum, penelitian-penelitian tersebut menimbulkan pertanyaan tentang manfaat potensial kortikosteroid dan menggarisbawahi perlunya suatu studi yang prospektif, acak, serta buta ganda, dan jumlah yang cukup untuk memenuhi kaidah statistik.

Pada beberapa pusat, terapi adjuvan berbeda yang diberikan setelah portoenterostomi pada bayi dengan atresia bilier adalah asam ursodeoksikolat (UDCA). Dalam studi kohort pada 16 anak dengan portoenterostomi yang berhasil dan menggunakan pemantauan biokimia mengikuti penggunaan obat "*on-off-on*", menunjukkan bahwa pengobatan dengan UDCA berhubungan dengan kadar dari aspartat transaminase, alanin transaminase, dan γ GTP yang lebih rendah.²²¹ Walaupun awal di alam, penelitian ini memberikan dukungan awal untuk menggunakan UDCA untuk mempromosikan choleresis pada anak dengan atresia empedu.

7.8 KAJIAN DASAR MOLEKULER ATRESIA BILIER

7.8.1 Studi Berbasis Penderita

Interaksi potensial agen genetik, beracun dan menular dalam patogenesis atresia bilier memperkuat dasar multifaktorial penyakit. Oleh karena itu, perlu dibuat program transkripsi spesifik hati dalam upaya mencari jalur molekul dominan dalam fase awal penyakit. Dalam studi tersebut, dibandingkan tingkat ekspresi gen dalam hati anak dengan atresia bilier pada fase berbeda dari penyakit menggunakan chip gen. Untuk kontrol, digunakan biopsi hati dari subjek dengan kolestasis intrahepatik pada usia yang disesuaikan. Analisis lebih dari 12.000 gen menggunakan parameter statistik yang sangat ketat mengungkapkan jejak transkripsi yang unik dari penderita dengan atresia bilier pada usia yang disesuaikan. Jejak tersebut berisi sejumlah besar gen yang

secara fungsional berhubungan dengan aktivasi proinflamasi dari limfosit, dengan peningkatan ekspresi osteopontin (regulator TH1), dan penekanan gen imunoglobulin. Temuan tersebut terutama dikaitkan dengan produksi IFN- γ pada 65% dari bayi dengan atresia bilier, dan tidak terdeteksi IFN- γ pada penyakit kontrol.¹⁶⁴ Secara histologi, tingkat infiltrat inflamasi serupa pada kedua kelompok menggambarkan status aktivasi diferensial sel dari jenis yang serupa.

Dukungan lebih lanjut pada peran peradangan hati sebagai mediator kunci dari cedera empedu diperoleh dari studi dengan analisis imunohistokimia dan ekspresi gen pada hati anak dengan atresia bilier pada saat diagnosis (usia 3-12 minggu), dengan penyakit kontrol yang disesuaikan umurnya (hepatitis neonatal, kista duktus koledokus, dan kolestasis yang diinduksi nutrisi parenteral total), dan subjek kontrol sehat. Sampel hati dari subjek dengan atresia bilier memiliki infiltrasi lebih besar dari saluran portal oleh CD8 dan CD4 (limfosit), serta CD68 (sel Kupffer), dengan tidak ada perbedaan yang jelas dalam jumlah sel diwarnai dengan antibodi terhadap CD20 dan NK1 (penanda limfosit B dan NK). Sesuai dengan respons proinflamasi, didapatkan juga peningkatan ekspresi IL-2, IL-12, IFN γ , TNF α , dengan pola ekspresi sitokin yang berbeda dalam sistem porta. Data kolektif dari studi berbasis penderita dengan jelas mendukung hipotesis kerja di mana limfosit proinflamasi (TH1) merupakan efektor penting dari kerusakan epitel pada atresia bilier. Pengujian hipotesis tersebut memerlukan penggunaan model eksperimental *in vivo* dan *in vitro* yang memungkinkan untuk studi mekanistik.

7.8.2 Studi Eksperimental dengan Model

Model tikus atresia bilier yang diinduksi rotavirus

Untuk menghindari kesulitan dalam melakukan penelitian eksperimental pada manusia, digunakan model tikus atresia bilier yang diinduksi rotavirus pada tikus neonatal. Dengan mempelajari hati dan sistem empedu tikus tersebut, rotavirus memiliki tropisme unik terhadap sel saluran empedu, misalnya deteksi rotavirus pada epitel empedu 3 hari setelah inokulasi virus. Secara *in vitro*, kultur sel

kolangiosit tikus rentan terhadap infeksi rotavirus, tetapi kemampuan rotavirus untuk menghancurkan kolangiosit bukan satu-satunya mekanisme kerusakan pada epitel dan obstruksi luminal. Oleh karena itu, perlu studi lebih lanjut apakah respons inflamasi terhadap rotavirus berkontribusi pada kerusakan dan obstruksi saluran empedu.³⁶

Interferon- γ (IFN γ) adalah mediator kunci dari obstruksi saluran. Dengan analisis *flow cytometric* sel mononuklear hati untuk menentukan adaptasi fenotipik limfosit setelah paparan rotavirus, didapatkan bahwa pada 7 dan 14 hari limfosit CD3⁺ tikus yang terinfeksi rotavirus meningkat tiga kali lipat dibanding kontrol.³⁶ Sel-sel tersebut menciptakan lingkungan hati yang kaya sitokin proinflamasi, dengan peningkatan ekspresi IFN γ dan IL-12. Peningkatan produksi sitokin pro inflamasi juga dilaporkan pada penelitian lain yang mendapatkan ekspresi berlebih IFN γ , TNF α , dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada model tikus atresia bilier yang diinduksi rotavirus juga. Untuk mengetahui peran IFN γ pada kerusakan saluran empedu, dilakukan studi model dengan infeksi rotavirus pada tikus yang kekurangan IFN γ karena mutasi pada gen IFN γ . Pada studi tersebut, didapatkan bahwa tikus yang tidak memiliki IFN γ mengalami ikterus setelah infeksi, tetapi selanjutnya gejala hilang secara bertahap dan diikuti oleh kenaikan berat badan dan kelangsungan hidup jangka panjang.³⁶ Analisis pada saluran empedu menunjukkan bahwa saluran empedu ekstrahepatik masih paten, serta kontinuitas antara hati dan duodenum juga masih dipertahankan. Selain itu, terjadi pula penekanan pada infiltrasi limfosit T, dengan pencegahan menyeluruh pada inflamasi dan obstruksi saluran empedu ekstrahepatik akibat fibrosis.^{195,222}

Untuk menunjukkan peran penting dari IFN γ pada penyumbatan saluran, diberikan IFN γ rekombinan untuk tikus yang kekurangan IFN γ setelah infeksi rotavirus. Studi tersebut menunjukkan bahwa pemulihan IFN γ menghasilkan perkembangan kolestasis yang tepat waktu pada lebih dari 80% tikus, dengan obstruksi berulang saluran empedu ekstrahepatik, seperti kerusakan saluran empedu pada tikus liar. Secara kolektif, data tersebut menunjukkan bahwa IFN γ memainkan peran penting dalam obstruksi inflamasi saluran

empedu ekstrahepatik, dan mungkin merupakan sasaran terapi untuk menghentikan perkembangan penyakit tersebut pada anak. Data ini juga memberi kesan bahwa mekanisme patogenik dari atresia bilier mengikuti sebuah rangkaian mekanisme biologis yang sebelumnya tidak diketahui.^{38,159} Proses awal dari rangkaian mekanisme tersebut adalah ikterus dan peradangan yang tidak tergantung pada IFN γ . Sebaliknya, perkembangan ke arah pemusnahan saluran oleh limfosit dan fibrosis dicegah dengan hilangnya IFN γ .^{195,222}

Ligasi saluran empedu (*bilie duct ligation* BDL)

Ikterus obstruktif menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tingkat tinggi pada manusia. Dampak yang serius dari kolestasis pada hati dan sistemik telah menyebabkan banyak dilakukan model eksperimental untuk dapat lebih memahami patogenesis, profilaksis, dan pengobatannya. Beberapa teknik bedah untuk membuat model kolestasis ekstrahepatik telah dilakukan terutama pada tikus, berdasarkan pemotongan saluran empedu di antara ligasi. Teknik tersebut membuat model ikterus obstruktif yang bersifat reversibel. Karena tingginya kejadian rekanalisasi dari saluran empedu ekstrahepatik, umumnya hal tersebut dapat dihindari dengan menempatkan duodenum dan bagian distal lambung antara kedua ujung saluran empedu yang diligasi dan dipotong. Teknik bedah makro kolestasis ekstrahepatik ini disebut ligasi saluran empedu (*bile duct ligation*/BDL). Namun, teknik tersebut memungkinkan *pseudocyst* pada hilus oleh karena pelebaran ujung proksimal dari saluran empedu yang mudah terinfeksi. Hal ini menyebabkan hewan coba dapat mati pada 2 minggu pertama periode pasca operasi karena sepsis yang disebabkan oleh abses multipel pada intraperitoneal, hati, dan paru-paru.²²³

Parenkim hati pada tikus memiliki empat lobus: lateral kanan, tengah, lateral kiri, dan kaudal, yang memiliki vaskularisasi portal dan arteri independen, serta drainase bilier yang terpisah. Fitur anatomi tersebut memungkinkan untuk dilakukan reseksi saluran empedu yang mengalir dari empat lobus hati sampai ke awal segmen intrapankreatik dengan kontinuitas saluran empedu utama melalui teknik mikro.^{224,223}

Keuntungan dari teknik bedah mikro kolestasis ekstrahepatik pada tikus adalah tidak terjadi pembentukan pseudokista saluran empedu besar, sehingga tidak terjadi kematian dini tikus. Ada kemungkinan bahwa tidak adanya pseudokista hilus dalam model mikro menurunkan kejadian infeksi hepatopulmoner dan dengan demikian mencegah mortalitas yang terkait dengan sepsis.^{223,224} Penggunaan antibiotik profilaksis spektrum-luas dan pemberian vitamin K (8 mg/kg/kali intramuskular) tiap minggu dapat mengurangi kematian dini hewan coba. Pada tikus dengan kolestasis ekstrahepatik teknik mikro, administrasi mingguan antibiotik dan vitamin K memungkinkan tikus untuk bertahan selama 8 minggu.²²⁵

Pada evaluasi jangka panjang, baik bedah makro (BDL) maupun mikro model eksperimental kolestasis menghasilkan hepatomegali dengan proliferasi duktuler dan fibrosis, namun hilangnya arsitektur hati yang normal sebagai ciri khas sirosis bilier jarang ditemukan.^{223,225} Sehubungan dengan adanya obstruksi ekstrahepatik, ikterus, tinja pucat, hipertensi porta dengan pembesaran limpa dan sirkulasi portosistemik kolateral, ensefalopati hepatic, dan asites dapat terjadi.^{223,226} Oleh karena itu, kolestasis ekstrahepatik eksperimental tidak hanya model yang baik untuk mempelajari patologi hati yang berhubungan dengan obstruksi empedu, tetapi juga untuk mempelajari komplikasi ekstrahepatik.

7.9 TANTANGAN MASA DEPAN

Salah satu implikasi nyata dari temuan bahwa hilangnya $IFN\gamma$ mencegah penyumbatan saluran empedu adalah apakah dengan menghilangkan $IFN\gamma$ pada waktu tepat memiliki potensi untuk mengembalikan patensi duktus atau untuk mengurangi peradangan intrahepatik dan fibrosis yang biasanya terjadi setelah portoenterostomi.^{195,222}

Sejak $IFN\gamma$ diketahui memainkan peran regulasi dominan dalam obstruksi saluran empedu, ada kemungkinan bahwa sitokin pro inflamasi lain seperti IL-2, IL-12, dan $TNF\alpha$ dan mediator terlarut lainnya (seperti iNOS) bekerja secara sinergi pada patogenesis

atresia bilier. Dalam konteks ini, *nuclear factor-kB* (NFkB) belakangan menunjukkan peningkatan kadarnya pada tikus neonatal setelah paparan rotavirus. Menariknya, pemblokiran ekspresi tersebut oleh inhibitor NFkB menurunkan peradangan pada hati dan saluran empedu ekstrahepatik.²²⁷



DAFTAR PUSTAKA

1. Chardot C. Biliary atresia. Orphanet J Rare Dis [Internet]. 2006 Dec [cited 2019 Oct 27];1(1). Available from: <https://orjrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-1-28>
2. Mack CL, Sokol RJ. Unraveling the pathogenesis and etiology of biliary atresia. *Pediatr Res* [Internet]. 2005 May [cited 2019 Oct 27];57(5 Part 2):87R-94R. Available from <https://www.nature.com/articles/pr2005136.pdf> DOI: 10.1203/01.PDR.0000159569.57354.47.
3. Davenport M. A Challenge on the use of the words embryonic and perinatal in the context of biliary atresia. *Hepatology* [Internet]. 2005 Feb [cited 2019 Oct 27];41(2):403–4. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.20549> DOI: 10.1002/hep.20549
4. Tsuchida Y, Kawarasaki H, Iwanaka T, Uchida H, Nakanishi H, Uno K. Antenatal diagnosis of biliary atresia (type I cyst) at 19 weeks' gestation: Differential diagnosis and etiologic implications. *J. Pediatr. Surg* [Internet]. 1995 May [cited 2019 Oct 27];30(5):697–9. Available from [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022-3468\(95\)90694-0](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022-3468(95)90694-0) DOI: 10.1016/0022-3468(95)90694-0.
5. Karrar A. Immune interactions with the liver. 2008; Available from: <http://hdl.handle.net/10616/37816>.
6. Wu CT, Davis PA, Luketic VA, Gershwin ME. A review of the physiological and immunological functions of biliary epithelial cells: targets for primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and drug-induced ductopenias. *Clin Dev Immunol* [Internet]. 2004 Dec [cited 2019 Oct 27];11(3–4):205–13. Available from <http://downloads.hindawi.com/journals/jir/2004/403720.pdf> DOI: 10.1080/17402520400004177.
7. Service R. The Liver and Biliary System. 2010; Available from: http://www.uwgi.org/gut/pdf_files/hubio551_07_liver.pdf.

8. Petersen C, Melter M, Leonhardt J, Becker T, Harder D. Biliary atresia research is crossing national and interdisciplinary borderlines by the European Biliary Atresia Registry (EBAR): Biliary atresia research and EBAR. *Acta Paediatr* [Internet]. 2007 Jan 2 [cited 2019 Oct 27];94(5):526–7. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1651-2227.2005.tb01932.x> DOI: 10.1111/j.1651-2227.2005.tb01932.x.
9. Beath SV. Hepatic function and physiology in the newborn. *Semin Neonatol* [Internet]. 2003 Oct [cited 2019 Oct 27];8(5):337–46. Available at [https://www.sfnmjournal.com/article/S1084-2756\(03\)00066-6/fulltext](https://www.sfnmjournal.com/article/S1084-2756(03)00066-6/fulltext) DOI: 10.1016/S1084-2756(03)00066-6.
10. Desmet VJ. Congenital diseases of intrahepatic bile ducts: Variations on the theme “ductal plate malformation. *Hepatology* [Internet]. 1992 Oct [cited 2019 Oct 27] ;16(4):1069–83. Available at <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.1840160434> DOI: 10.1002/hep.1840160434.
11. Vakili K, Pomfret EA. Biliary anatomy and embryology. *Surg Clin North Am* [Internet]. 2008 Dec [cited 2019 Oct 27] 88(6):1159–74. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039610908000947?via%3Dihub> DOI: 10.1016/j.suc.2008.07.001
12. Hansen TWR. Core concepts: bilirubin metabolism. *NeoReviews* [Internet]. 2010 Jun [cited 2019 Okt 27] 11(6):e316–22. Available from <https://neoreviews.aappublications.org/content/neoreviews/11/6/e316.full.pdf> DOI: 10.1542/neo.11-6-e316
13. Strazzabosco M, Fabris L. Functional Anatomy of Normal Bile Ducts. *Anat Rec (Hoboken)* [Internet]. 2008 Jun [cited 2019 Oct 27];291(6):653–60. Available from <https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ar.20664> DOI: 10.1002/ar.20664.
14. Chen X-M, O’Hara SP, LaRusso NF. The immunobiology of cholangiocytes. *Immunol Cell Biol* [Internet]. 2008 Aug [cited 2019 Oct 27];86(6):497–505. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2652127/pdf/nihms-90899.pdf> DOI: 10.1038/icb.2008.37
15. Esteller A. Physiology of bile secretion. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2008 October [cited 2019 Oct 27];14(37):5641. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2748197/pdf/WJG-14-5641.pdf> DOI: 0.3748/wjg.14.5641
16. Tan CEL, Driver M, Howard ER, Moscoso GJ. Extrahepatic biliary atresia: A first-trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry. *J Pediatr Surg* [Internet]. 1994 Jun [cited 2019 Oct

- 27];29(6):808–14. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/0022-3468\(94\)90377-8/pdf](https://www.jpedsurg.org/article/0022-3468(94)90377-8/pdf) DOI: 10.1016/0022-3468(94)90377-8.
17. Kasai M, Kimura S, Asakura Y, Suzuki H, Taira Y, Ohashi E. Surgical treatment of biliary atresia. *J Pediatr Surg* [Internet]. 1968 Dec [cited 2019 Oct 27];3(6):665–75. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/0022-3468\(68\)90897-X/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/0022-3468(68)90897-X/fulltext) DOI: 10.1016/0022-3468(68)90897-X
 18. Landing BH. Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst--the concept of infantile obstructive cholangiopathy. *Prog Pediatr Surg*. 1974;6:113–39.
 19. Hinds R, Davenport M, Mieli-Vergani G, Hadžić N. Antenatal presentation of biliary atresia. *JPEDS* [Internet]. 2004 Jan [cited 2019 Oct 27] ;144(1):43–6. Available from [https://www.jpeds.com/article/S0022-3476\(03\)00613-9/fulltext](https://www.jpeds.com/article/S0022-3476(03)00613-9/fulltext) DOI: 10.1016/j.jpeds.2003.09.027
 20. Davit-Spraul A, Baussan C, Hermeziu B, Bernard O, Jacquemin E. CFC1 Gene Involvement in Biliary Atresia with Polysplenia Syndrome: *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2008 Jan [cited 2019 Oct 27];46(1):111–2. Available from https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2008/01000/CFC1_Gene_Involvement_in_Biliary_Atresia_With.22.aspx DOI: 0.1097/01.mpg.0000304465.60788.f4.
 21. Chen L. Altered expression of genes involved in hepatic morphogenesis and fibrogenesis are identified by cDNA microarray analysis in biliary atresia. *Hepatology* [Internet]. 2003 Sep [cited 2019 Oct 27];38(3):567–76. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1053/jhep.2003.50363> DOI: 10.1053/jhep.2003.50363.
 22. Zhang D-Y, Sabla G, Shivakumar P, Tiao G, Sokol RJ, Mack C, et al. Coordinate expression of regulatory genes differentiates embryonic and perinatal forms of biliary atresia. *Hepatology* [Internet]. 2004 Mar [cited 2019 Oct 27];39(4):954–62. Availabe from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.20135> DOI: 10.1002/hep.20135.
 23. Bamford RN, Roessler E, Burdine RD, Şaplakoğlu U, dela Cruz J, Splitt M, et al. Loss-of-function mutations in the EGF-CFC gene CFC1 are associated with human left-right laterality defects. *Nat Genet* [Internet]. 2000 Nov [cited 2019 Oct 27];26(3):365–9. Available from https://www.nature.com/articles/ng1100_365 DOI: 10.1038/81695
 24. Jacquemin E, Cresteil D, Raynaud N, Hadchouel M. CFC1 Gene Mutation and Biliary Atresia with Polysplenia Syndrome: *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2002 Mar [cited 2019 Oct 27];34(3):326. Availabe from

https://journals.lww.com/jpgn/fulltext/2002/03000/cfc1_gene_mutation_and_biliary_atresia_with.26.aspx

25. Tarr PI, Haas JE, Christie DL. Biliary atresia, cytomegalovirus, and age at referral. *Pediatrics* [Internet]. 1996 Jun [cited 2019 Oct 27];97(6 Pt 1):828–31. Available from <https://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/97/6/828.full.pdf>
26. Steele MI, Marshall CM, Lloyd RE, Randolph VE. Reovirus 3 not detected by reverse transcriptase-mediated polymerase chain reaction analysis of preserved tissue from infants with cholestatic liver disease. *Hepatology* [Internet]. 1995 Mar [cited 2019 Oct 27];21(3):697–702. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.1840210315>
27. Riepenhoff-Talty M, Gouvea V, Evans MJ, Svensson L, Hoffenberg E, Sokol RJ, et al. Detection of Group C Rotavirus in Infants with Extrahepatic Biliary Atresia. *J Infect Dis* [Internet]. 1996 Jul [Cited 2019 Oct 27];174(1):8–15. Available from <https://watermark.silverchair.com/174-1-8.pdf> DOI: 10.1093/infdis/174.1.8.
28. Drut R, Drut RM, Gómez MA, Rúa EC, Lojo MM. Presence of human papillomavirus in extrahepatic biliary Atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 1998 Nov [cited 2019 Oct 27];27(5):530–5. Available from https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/1998/11000/Presence_of_Human_Papillomavirus_in_Extrahepatic.7.aspx DOI: 10.1097/00005176-199811000-00007.
29. Balistreri WF, Bezerra JA, Jansen P, Karpen SJ, Shneider BL, Suchy FJ. Intrahepatic cholestasis: Summary of an American Association for the Study of Liver Diseases single-topic conference. *Hepatology* [Internet]. 2005 Jul [cited 2019 Oct 27];42(1):222–35. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.20729> DOI: 10.1002/hep.20729.
30. Davenport M, Gonde C, Redkar R, Koukoulis G, Tredger M, Mieli-Vergani G, et al. Immunohistochemistry of the liver and biliary tree in extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2001 Jul [cited 2019 Oct 27];36(7):1017–25. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(01\)13900-X/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(01)13900-X/fulltext) DOI: 10.1053/jpsu.2001.24730.
31. Feng J, Li M, Gu W, Tang H, Yu S. The aberrant expression of HLA-DR in intrahepatic bile ducts in patients with biliary atresia: An immunohistochemistry and immune electron microscopy study. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2004 Nov [cited 2019 Oct 27];39(11):1658–62. Available from

[https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(04\)00471-3/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(04)00471-3/fulltext) DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2004.07.010.

32. Whittington PF, Malladi P, Melin-Aldana H, Azzam R, Mack CL, Sahai A. Expression of osteopontin correlates with portal biliary proliferation and fibrosis in biliary atresia. *Pediatr Res* [Internet]. 2005 Jun [cited 2019 Oct 27];57(6):837–44. Available from <https://www.nature.com/articles/pr2005156.pdf> DOI: 10.1203/01.PDR.0000161414.99181.61
33. Bezerra JA, Tiao G, Ryckman FC, Alonso M, Sabla GE, Shneider B, et al. Genetic induction of proinflammatory immunity in children with biliary atresia. *The Lancet* [Internet]. 2002 Nov [cited 2019 Oct 27];360(9346):1653–9. Available from [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(02\)11603-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(02)11603-5/fulltext) DOI: 0.1016/S0140-6736(02)11603-5.
34. Riepenhoff-talty M, Schaekel K, Clark HF, Mueller W, Uhnoo I, Rossi T, et al. Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice. *Pediatr Res* [Internet]. 1993 Apr [cited 2019 Oct 27];33(4):394–9. Available from <https://www.nature.com/articles/pr199382.pdf> DOI: 0.1203/00006450-199304000-00016.
35. Czech-Schmidt G, Verhagen W, Szavay P, Leonhardt J, Petersen C. Immunological gap in the infectious animal model for biliary atresia. *J Surg Res* [Internet]. 2001 Nov [cited 2019 Oct 27];101(1):62–7. Available from [https://www.journalofsurgicalresearch.com/article/S0022-4804\(01\)96234-1/pdf](https://www.journalofsurgicalresearch.com/article/S0022-4804(01)96234-1/pdf) DOI: 10.1006/jsre.2001.6234.
36. Shivakumar P, Campbell KM, Sabla GE, Miethke A, Tiao G, McNeal MM, et al. Obstruction of extrahepatic bile ducts by lymphocytes is regulated by IFN- γ in experimental biliary atresia. *J Clin Invest* [Internet]. 2004 Aug [cited 2019 Oct 27];114(3):322–9. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC484981/pdf/JCI0421153.pdf> DOI: 0.1172/JCI21153
37. 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* [Internet]. 2005 April [cited 2019 Oct 27];40(4):637–42. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(04\)00868-1/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(04)00868-1/fulltext) DOI: 0.1016/j.jpedsurg.2004.12.002.
38. Perlmutter DH, Shepherd RW. Extrahepatic biliary atresia: A disease or a phenotype? *Hepatology* [Internet]. 2002 Jun [cited 2019 Oct 27];35(6):1297–304. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1053/jhep.2002.34170> DOI: 10.1053/jhep.2002.34170.

39. Lee H-J, Lee S-M, Park W-H, Choi S-O. Objective Criteria of Triangular Cord Sign in Biliary Atresia on US Scans. *Radiology* [Internet]. 2003 Nov [cited 2019 Oct 27];229(2):395–400. Available from <https://pubs.rsna.org/doi/pdf/10.1148/radiol.292020472> DOI: 10.1148/radiol.292020472.
40. Hartley JL, Davenport M, Kelly DA. Biliary atresia. *The Lancet* [Internet]. 2009 Nov [cited 2019 Oct 27];374(9702):1704–13. Available from <https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140673609609466/fulltext> DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60946-6
41. Mieli-Vergani G, Vergani D. Biliary atresia. *Semin Immunopathol* [Internet]. 2009 Sep [cited 2019 Oct 27];31(3):371–81. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s00281-009-0171-6> DOI: 10.1007/s00281-009-0171-6
42. Gosseye S, Otte JB, De Meyer R, Maldague P. A histological study of extrahepatic biliary atresia. *Acta Paediatr Belg*. 1977 Jun;30(2):85–90.
43. Ohya T, Fujimoto T, Shimomura H, Miyano T. Degeneration of intrahepatic bile duct with lymphocyte infiltration into biliary epithelial cells in biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery*. 1995 Apr;30(4):515–8.
44. Chuang J-H, Chou M-H, Wu C-L, Du Y-Y. Implication of innate immunity in the pathogenesis of biliary atresia. *Chang Gung Med J*. 2006 Jun;29(3):240–50.
45. Mack CL, Tucker RM, Lu BR, Sokol RJ, Fontenot AP, Ueno Y, et al. Cellular and humoral autoimmunity directed at bile duct epithelia in murine biliary atresia. *Hepatology*. 2006 Nov;44(5):1231–9.
46. Shivakumar P, Sabla GE, Whittington P, Chougnet CA, Bezerra JA. Neonatal NK cells target the mouse duct epithelium via Nkg2d and drive tissue-specific injury in experimental biliary atresia. *Journal of Clinical Investigation*. 2009 Aug 3;119(8):2281–90.
47. Sokol RJ, Mack C. Etiopathogenesis of biliary atresia. *Seminars in Liver Disease*. 2001;21(04):517–24.
48. Harada K, Nakanuma Y. Biliary innate immunity: function and modulation. *Mediators of Inflammation*. 2010;2010:1–9.
49. Shinkai M, Shinkai T, Puri P, Stringer MD. Elevated expression of IL2 is associated with increased infiltration of CD8+ T cells in biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery*. 2006 Feb;41(2):300–5.
50. Mohanty SK, Shivakumar P, Sabla G, Bezerra JA. Loss of interleukin-12 modifies the pro-inflammatory response but does not prevent duct obstruction in experimental biliary atresia. *BMC Gastroenterology*

- [Internet]. 2006 Dec [cited 2019 Oct 28];6(1). Available from <http://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-6-14>.
51. Jafri M, Donnelly B, Bondoc A, Allen S, Tiao G. Cholangiocyte secretion of chemokines in experimental biliary atresia. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2009 Mar [cited 2019 Oct 28];44(3):500–7. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2730110/pdf/nihms107007.pdf> DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2008.07.007
 52. Liu C, Chiu J-H, Chin T, Wang L-S, Li AF-Y, Chow K-C, et al. Expression of Fas ligand on bile ductule epithelium in biliary atresia—A poor prognostic factor. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2000 Nov [cited 2019 Oct 28];35(11):1591–6. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(00\)85350-6/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(00)85350-6/fulltext) DOI: 10.1053/jpsu.2000.18322.
 53. Irie N, Muraji T, Hosaka N, Takada Y, Sakamoto S, Tanaka K. Maternal HLA Class I compatibility in patients with biliary atresia: *J Ped Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2009 Oct [cited 2019 Oct 28];49(4):488–92. Available from https://journals.lww.com/jpgn/FullText/2009/10000/Maternal_HLA_Class_I_Compatibility_in_Patients.20.aspx DOI: 10.1097/MPG.0b013e31819a4e2c.
 54. Suskind DL, Rosenthal P, Heyman MB, Kong D, Magrane G, Baxter-Lowe L-A, et al. Maternal microchimerism in the livers of patients with Biliary atresia. *BMC Gastroenterology* [Internet]. 2004 Dec [cited 2019 Nov 1];4(1). Available from <http://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-4-14>
 55. Kobayashi H, Li Z, Yamataka A, Lane GJ, Miyano T. Role of immunologic costimulatory factors in the pathogenesis of biliary atresia. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2003 Jun [cited 2019 Nov 1];38(6):892–6. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(03\)00117-9/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(03)00117-9/fulltext) DOI: 10.1016/s0022-3468(03)00117-9.
 56. A-Kader HH, Abdel-Hameed A, Al-Shabrawi M, Mohsen N, El-Karakasy H, Hassanein B, et al. Is biliary atresia an autoimmune disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2003 Apr [cited 2019 Nov 1];15(4):447. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(03\)00117-9/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(03)00117-9/fulltext) DOI
 57. Ismail M, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis. *Saudi J Gastroenterol* [Internet]. 2009 Jan [cited 2019 Nov 1];15(1):72. Available from [https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468\(03\)00117-9/fulltext](https://www.jpedsurg.org/article/S0022-3468(03)00117-9/fulltext) [https://www.dldjournalonline.com/article/S1590-8658\(04\)00005-2/fulltext](https://www.dldjournalonline.com/article/S1590-8658(04)00005-2/fulltext) DOI: 10.4103/1319-3767.45072

58. Pinzani M, Rombouts K. Liver fibrosis: from the bench to clinical targets. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2004 Apr [cited 2019 Nov 1];36(4):231–42. Available from [https://www.dldjournalonline.com/article/S1590-8658\(04\)00005-2/fulltext](https://www.dldjournalonline.com/article/S1590-8658(04)00005-2/fulltext) DOI: 10.1016/j.dld.2004.01.003.
59. Desmet VJ, Roskams T. Cirrhosis reversal: a duel between dogma and myth. *J Hepatol* [Internet]. 2004 May [cited 2019 Nov 1];40(5):860–7. Available from [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(04\)00111-4/fulltext](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(04)00111-4/fulltext) DOI: 10.1016/j.jhep.2004.03.007.
60. Tracy TF, Tector AJ, Goerke ME, Kitchen S, Lagunoff D. Somatostatin analogue (octreotide) inhibits bile duct epithelial cell proliferation and fibrosis after extrahepatic biliary obstruction. *Am J Pathol* [Internet]. 1993 Dec [cited 2019 Nov 1];143(6):1574–8. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1887254/pdf/amjpathol00072-0074.pdf>
61. Omenetti A, Yang L, Li Y-X, McCall SJ, Jung Y, Sicklick JK, et al. Hedgehog-mediated mesenchymal–epithelial interactions modulate hepatic response to bile duct ligation. *Lab Invest* [Internet]. 2007 May [cited 2019 Nov 1];87(5):499–514. Available from <https://www.nature.com/articles/3700537.pdf>
62. Glaser SS, Gaudio E, Miller T, Alvaro D, Alpini G. Cholangiocyte proliferation and liver fibrosis. *Expert Reviews in Molecular Medicine* [Internet]. 2009 Feb [cited 2019 Nov 6];11. Available from https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1462399409000994/type/journal_article
63. Ulrich CD, Holtmann M, Miller LJ. Secretin and vasoactive intestinal peptide receptors: Members of a unique family of G protein–coupled receptors. *Gastroenterology* [Internet]. 1998 Feb [cited 2019 Nov 6];114(2):382–97. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2898%2970491-3> DOI: 10.1016/s0016-5085(98)70491-3
64. Alvaro D, Mennone A, Boyer JL. Role of kinases and phosphatases in the regulation of fluid secretion and Cl⁻/HCO₃⁻ exchange in cholangiocytes. *Am J Physiol* [Internet]. 1997 Aug [cited 2019 Nov 6];273(2):G303–13. Available from <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpgi.1997.273.2.G303> DOI: 10.1152/ajpgi.1997.273.2.G303
65. Holz GG, Kang G, Harbeck M, Roe MW, Chepurny OG. Cell physiology of cAMP sensor Epac: cAMP sensor Epac in cell physiology. *J Physiol* [Internet]. 2006 Nov [cited 2019 Nov 6]; 15;577(1):5–15. Available from

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2000694/pdf/tjp0577-0005.pdf> DOI: 10.1113/jphysiol.2006.119644.

66. Glaser S, Alvaro D, Ueno Y, Francis H, Marzioni M, Phinizy JL, et al. Gastrin reverses established cholangiocyte proliferation and enhanced secretin-stimulated ductal secretion of BDL rats by activation of apoptosis through increased expression of Ca²⁺- dependent PKC isoforms. *Liver Int* [Internet]. 2003 Apr [cited 2019 Nov 6];23(2):78–88. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1034/j.1600-0676.2003.00814.x> DOI: 10.1034/j.1600-0676.2003.00814.x.
67. Francis H, Glaser S, Ueno Y, LeSage G, Marucci L, Benedetti A, et al. cAMP stimulates the secretory and proliferative capacity of the rat intrahepatic biliary epithelium through changes in the PKA/Src/MEK/ERK1/2 pathway. *J Hepatol* [Internet]. 2004 Oct [cited 2019 Nov 6];41(4):528–37. Available from [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(04\)00261-2/fulltext](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(04)00261-2/fulltext) DOI: 10.1016/j.jhep.2004.06.009.
68. Gaudio E, Barbaro B, Alvaro D, Glaser S, Francis H, Ueno Y, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates rat cholangiocyte proliferation via an autocrine mechanism. *Gastroenterology* [Internet]. 2006 Apr [cited 2019 Nov 6];130(4):1270–82. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2805%2902561-8> DOI: 10.1053/j.gastro.2005.12.034.
69. Alvaro D, Alpini G, Onori P, Perego L, Baroni GS, Franchitto A, et al. Estrogens stimulate proliferation of intrahepatic biliary epithelium in rats. *Gastroenterology* [Internet]. 2000 Dec [cited 2019 Nov 6];119(6):1681–91. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2800%2946529-7> DOI: 0.1053/gast.2000.20184
70. Marzioni M, Glaser S, Francis H, Marucci L, Benedetti A, Alvaro D, et al. Autocrine/paracrine regulation of the growth of the biliary tree by the neuroendocrine hormone serotonin. *Gastroenterology* [Internet]. 2005 Jan [cited 2019 Nov 6];128(1):121–37. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2804%2901846-3> DOI: 0.1053/j.gastro.2004.10.002.
71. Lazaridis KN, Strazzabosco M, LaRusso NF. The cholangiopathies: Disorders of biliary epithelia. *Gastroenterology* [Internet]. 2004 Nov [cited 2019 Nov 6];127(5):1565–77. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2804%2901395-2> DOI: 10.1053/j.gastro.2004.08.006

72. Alpini G, Glaser SS, Ueno Y, Pham L, Podila PV, Caligiuri A, et al. Heterogeneity of the proliferative capacity of rat cholangiocytes after bile duct ligation. *Am J Physiol* [Internet]. 1998 Apr [cited 2019 Nov 6];274(4):G767–75. Available from <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpgi.1998.274.4.G767> DOI: 10.1152/ajpgi.1998.274.4.G767
73. Masyuk TV, Masyuk AI, Torres VE, Harris PC, Larusso NF. Octreotide inhibits hepatic cystogenesis in a rodent model of polycystic liver disease by reducing cholangiocyte adenosine 3',5'-Cyclic Monophosphate. *Gastroenterology*. 2007 Mar;132(3):1104–16.
74. Marzioni M, Alpini G, Saccomanno S, Candelaresi C, Venter J, Rychlicki C, et al. Glucagon-Like Peptide-1 and Its Receptor Agonist Exendin-4 Modulate Cholangiocyte Adaptive Response to Cholestasis. *Gastroenterology* [Internet]. 2007 Jul [cited 2019 Nov 6];133(1):244–55. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2807%2900736-6> DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.007
75. Alpini G, Glaser S, Robertson W, Phinizy JL, Rodgers RE, Caligiuri A, et al. Bile acids stimulate proliferative and secretory events in large but not small cholangiocytes. *Am J Physiol* [Internet]. 1997 Aug [cited 2019 Nov 6];273(2):G518–29. Available from <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpgi.1997.273.2.G518> DOI: 0.1152/ajpgi.1997.273.2.G518
76. Lazaridis KN, Pham L, Tietz P, Marinelli RA, deGroen PC, Levine S, et al. Rat cholangiocytes absorb bile acids at their apical domain via the ileal sodium-dependent bile acid transporter. *J Clin Invest* [Internet]. 1997 Dec [cited 2019 Nov 6];100(11):2714–21. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC508474/pdf/1002714.pdf> DOI: 10.1172/JCI119816
77. Alpini G, Glaser SS, Ueno Y, Rodgers R, Phinizy JL, Francis H, et al. Bile acid feeding induces cholangiocyte proliferation and secretion: evidence for bile acid-regulated ductal secretion. *Gastroenterology* [Internet]. 1999 Jan [cited 2019 Nov 6];116(1):179–86. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2899%2970242-8> DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70242-8
78. Alpini G. Ursodeoxycholate and tauroursodeoxycholate inhibit cholangiocyte growth and secretion of BDL rats through activation of PKC alpha. *Hepatology* [Internet]. 2002 May [cited 2019 Nov 6];35(5):1041–52. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1053/jhep.2002.32712> DOI: 10.1053/jhep.2002.32712.

79. Gaudio E, Onori P, Pannarale L, Alvaro D. Hepatic microcirculation and peribiliary plexus in experimental biliary cirrhosis: a morphological study. *Gastroenterology* [Internet]. 1996 Oct [cited 2019 Nov 6];111(4):1118–24. Available from [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(96\)70081-1/pdf?referrer=https%3A%2F%2Furopepmc.org%2Farticle%2Fmed%2F8831608](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(96)70081-1/pdf?referrer=https%3A%2F%2Furopepmc.org%2Farticle%2Fmed%2F8831608) DOI: 10.1016/S0016-5085(96)70081-1
80. Gaudio E, Barbaro B, Alvaro D, Glaser S, Francis H, Franchitto A, et al. Administration of r-VEGF-A prevents hepatic artery ligation-induced bile duct damage in bile duct ligated rats. *Am J Physiol* [Internet]. 2006 Aug [cited 2019 Nov 6];291(2):G307–17. Available from <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpgi.00507.2005> DOI: 10.1152/ajpgi.00507.2005.
81. Fabris L, Cadamuro M, Fiorotto R, Roskams T, Spirli C, Melero S, et al. Effects of angiogenic factor overexpression by human and rodent cholangiocytes in polycystic liver diseases. *Hepatology* [Internet]. 2006 May [cited 2019 Nov 6];43(5):1001–12. Available from <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.21143> DOI: 10.1002/hep.21143
82. Amura CR, Brodsky KS, Groff R, Gattone VH, Voelkel NF, Doctor RB. VEGF receptor inhibition blocks liver cyst growth in *pkd2*(WS25/–) mice. *Am J Physiol* [Internet]. 2007 Jul [cited 2019 Nov 6];293(1):C419–28. Available from <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpcell.00038.2007> DOI: 10.1152/ajpcell.00038.2007
83. LeSage G, Alvaro D, Benedetti A, Glaser S, Marucci L, Baiocchi L, et al. Cholinergic system modulates growth, apoptosis, and secretion of cholangiocytes from bile duct–ligated rats. *Gastroenterology* [Internet]. 1999 Jul [cited 2019 Nov 6];117(1):191–9. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2899%2970567-6> DOI: 10.1016/s0016-5085(99)70567-6
84. Glaser S, Alvaro D, Francis H, Ueno Y, Marucci L, Benedetti A, et al. Adrenergic receptor agonists prevent bile duct injury induced by adrenergic denervation by increased cAMP levels and activation of Akt. *Am J Physiology* [Internet]. 2006 Apr [cited 2019 Nov 6];290(4):G813–26. Available from <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpgi.00306.2005> DOI: 0.1152/ajpgi.00306.2005.
85. Gigliozzi A, Alpini G, Svegliati Baroni G, Marucci L, Drudi Metalli V, Glaser SS, et al. Nerve growth factor modulates the proliferative capacity of the intrahepatic biliary epithelium in experimental cholestasis.

- Gastroenterology [Internet]. 2004 Oct [cited 2019 Nov 6];127(4):1198–209. Available from <https://www.gastrojournal.org/action/showPdf?pii=S0016-5085%2804%2901134-5> DOI: 0.1053/j.gastro.2004.06.023.
86. Francis H, Franchitto A, Ueno Y, Glaser S, DeMorrow S, Venter J, et al. H3 histamine receptor agonist inhibits biliary growth of BDL rats by downregulation of the cAMP-dependent PKA/ERK1/2/ELK-1 pathway. *Lab Invest* [Internet]. 2007 May [cited 2019 Nov 6];87(5):473–87. Available from <https://www.nature.com/articles/3700533.pdf> DOI: 10.1038/labinvest.3700533.
 87. Glaser SS, Ueno Y, DeMorrow S, Chiasson VL, Katki KA, Venter J, et al. Knockout of α -calcitonin gene-related peptide reduces cholangiocyte proliferation in bile duct ligated mice. *Lab Invest* [Internet]. 2007 Sep [cited 2019 Nov 6];87(9):914–26. Available from <https://www.nature.com/articles/3700602.pdf> DOI: 0.1038/labinvest.3700602
 88. Chalbos D, Vignon F, Keydar I, Rochefort H. Estrogens Stimulate cell proliferation and induce secretory proteins in a human breast cancer cell Line (T₄₇ D)*. *J. Clin. Endocrinol. Metab* [Internet]. 1982 Aug [cited 2019 Nov 6];55(2):276–83. Available from <https://academic.oup.com/jcem/article-abstract/55/2/276/2676351?redirectedFrom=fulltext> DOI: 10.1210/jcem-55-2-276
 89. Glaser S, DeMorrow S, Francis H, Ueno Y, Gaudio E, Vaculin S, et al. Progesterone stimulates the proliferation of female and male cholangiocytes via autocrine/paracrine mechanisms. *Am J Physiol* [Internet]. 2008 Jul [cited 2019 Nov 6];295(1):G124–36. Available from https://pdfs.semanticscholar.org/dab7/0a350fb1f094ff2d542d0711f0f20be3a5bb.pdf?_ga=2.177563429.1082126998.1594753546-1509170338.1568344367 DOI: 10.1152/ajpgi.00536.2007
 90. Alvaro D, Metalli VD, Alpini G, Onori P, Franchitto A, Barbaro B, et al. The intrahepatic biliary epithelium is a target of the growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis. *J Hepatol* [Internet]. 2005 Nov [cited 2019 Nov 6];43(5):875–83. Available from [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(05\)00328-4/abstract](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(05)00328-4/abstract) DOI: 10.1016/j.jhep.2005.04.011
 91. Gatto M, Drudi-Metalli V, Torrice A, Alpini G, Cantafora A, Blotta I, et al. Insulin-like growth factor-1 isoforms in rat hepatocytes and cholangiocytes and their involvement in protection against cholestatic injury. *Laboratory Investigation*. 2008 Sep;88(9):986–94.
 92. He Y, Wu GD, Sadahiro T, Noh S-I, Wang H, Talavera D, et al. Interaction of CD44 and hyaluronic acid enhances biliary epithelial proliferation in

- cholestatic livers. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2008 Aug;295(2):G305-12.
93. Sedlacek N, Jia J-D, Bauer M, Herbst H, Ruehl M, Hahn EG, et al. Proliferating bile duct epithelial cells are a major source of connective tissue growth factor in rat biliary fibrosis. *The American Journal of Pathology*. 2001 Apr;158(4):1239-44.
 94. Milani S, Herbst H, Schuppan D, Riecken EO, Stein H. Cellular localization of laminin gene transcripts in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol*. 1989 Jun;134(6):1175-82.
 95. Grappone C, Pinzani M, Parola M, Pellegrini G, Caligiuri A, DeFranco R, et al. Expression of platelet-derived growth factor in newly formed cholangiocytes during experimental biliary fibrosis in rats. *Journal of Hepatology*. 1999 Jul;31(1):100-9.
 96. Pinzani M, Marra F, Caligiuri A, DeFranco R, Gentilini A, Failli P, et al. Inhibition by pentoxifylline of extracellular signal-regulated kinase activation by platelet-derived growth factor in hepatic stellate cells. *British Journal of Pharmacology*. 1996 Nov;119(6):1117-24.
 97. Cho J-J, Hocher B, Herbst H, Jia J-D, Ruehl M, Hahn EG, et al. An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2000 Jun;118(6):1169-78.
 98. Roskams T, Desmet V. Ductular reaction and its diagnostic significance. *Semin Diagn Pathol*. 1998 Nov;15(4):259-69.
 99. Díaz R, Kim JW, Hui J-J, Li Z, Swain GP, Fong KSK, et al. Evidence for the epithelial to mesenchymal transition in biliary atresia fibrosis. *Human Pathology*. 2008 Jan;39(1):102-15.
 100. Sicklick JK, Choi SS, Bustamante M, McCall SJ, Pérez EH, Huang J, et al. Evidence for epithelial-mesenchymal transitions in adult liver cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2006 Oct;291(4):G575-83.
 101. Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL, Pekalski M, Zhao L, Booth TA, et al. Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Laboratory Investigation*. 2008 Feb;88(2):112-23.
 102. Alvaro D, Mancino MG, Glaser S, Gaudio E, Marzioni M, Francis H, et al. Proliferating cholangiocytes: a neuroendocrine compartment in the diseased liver. *Gastroenterology*. 2007 Jan;132(1):415-31.

103. Alcolado R, Arthur M, Iredale J. Pathogenesis of liver fibrosis. *Clinical Science*. 1997;103-12.
104. Friedman SL, Roll FJ, Boyles J, Bissell DM. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1985 Dec 1;82(24):8681-5.
105. Brenner DA. Molecular pathogenesis of liver fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2009;120:361-8.
106. Fallowfield JA, Kendall TJ, Iredale JP. Reversal of fibrosis: no longer a pipe dream? *Clinics in Liver Disease*. 2006 Aug;10(3):481-97.
107. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008 May;134(6):1655-69.
108. Friedman SL. Liver fibrosis – from bench to bedside. *Journal of Hepatology*. 2003 Jan;38:38-53.
109. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2005 Feb 1;115(2):209-18.
110. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: A retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology*. 1997 Feb;112(2):463-72.
111. Wanless IR. Pathogenesis of cirrhosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2004 Dec;19(s7):S369-71.
112. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *Journal of Biological Chemistry*. 2000 Jan 28;275(4):2247-50.
113. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology*. 2001 May;34(5):730-9.
114. Davis G. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. *Liver Transplantation*. 2003 Apr;9(4):331-8.
115. Berenguer M. Severe recurrent hepatitis C after liver retransplantation for hepatitis C virus-related graft cirrhosis. *Liver Transplantation*. 2003 Mar;9(3):228-35.
116. Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *The American Journal of Gastroenterology*. 2004 Jun;99(6):1160-74.
117. Sporea I, Popescu A, Sirli R. Why, who and how should perform liver biopsy in chronic liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3396.

118. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *The American Journal of Gastroenterology*. 2002 Oct;97(10):2614–8.
119. Forns X. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002 Oct;36(4):986–92.
120. Fontana RJ, Lok ASF. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C: Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5B):s57–64.
121. Hirata M, Akbar SMF, Horiike N, Onji M. Noninvasive diagnosis of the degree of hepatic fibrosis using ultrasonography in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus. *European Journal of Clinical Investigation*. 2001 Jun;31(6):528–35.
122. Callewaert N, Vlierberghe HV, Hecke AV, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nature Medicine*. 2004 Apr;10(4):429–34.
123. Schiano T. Adult living donor liver transplantation: The hepatologist's perspective. *Hepatology*. 2001 Jan;33(1):3–9.
124. Benhamou Y. Factors affecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus–and hepatitis C virus–coinfected patients: Impact of protease inhibitor therapy. *Hepatology*. 2001 Aug;34(2):283–7.
125. Farci P, Roskams T, Chessa L, Peddis G, Mazzoleni AP, Scioscia R, et al. Long-term benefit of interferon α therapy of chronic hepatitis D: regression of advanced hepatic fibrosis. *Gastroenterology*. 2004 Jun;126(7):1740–9.
126. Schuppan D. Structure of the Extracellular Matrix in Normal and Fibrotic Liver: Collagens and Glycoproteins. *Seminars in Liver Disease*. 1990 Feb;10(01):1–10.
127. Bataller R. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatology*. 2003 Mar;37(3):493–503.
128. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma and hepatitis C in the United States: hepatocellular carcinoma and hepatitis C in the United States. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5B):s74–83.
129. Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, et al. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *Journal of Hepatology*. 2006 Sep;45(3):429–38.

130. De Minicis S, Seki E, Oesterreicher C, Schnabl B, Schwabe RF, Brenner DA. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase mediates fibrotic and inflammatory effects of leptin on hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2008 Dec;48(6):2016–26.
131. Wynn T. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *The Journal of Pathology*. 2008 Jan;214(2):199–210.
132. Bertolani C, Marra F. The role of adipokines in liver fibrosis. *Pathophysiology*. 2008 Aug;15(2):91–101.
133. Novo E, Cannito S, Zamara E, di Bonzo LV, Caligiuri A, Cravanzola C, et al. Proangiogenic cytokines as hypoxia-dependent factors stimulating migration of human hepatic stellate cells. *The American Journal of Pathology*. 2007 Jun;170(6):1942–53.
134. Pinzani M, Marra F. Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells. *Seminars in Liver Disease*. 2001;21(03):397–416.
135. Corpechot C. Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology*. 2002 May;35(5):1010–21.
136. Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *Journal of Hepatology*. 2001 Aug;35(2):297–306.
137. Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology*. 2006 Sep;131(3):934–45.
138. De Minicis S, Bataller R, Brenner DA. NADPH oxidase in the liver: defensive, offensive, or fibrogenic? *Gastroenterology*. 2006 Jul;131(1):272–5.
139. Choi SS, Omenetti A, Witek RP, Moylan CA, Syn W-K, Jung Y, et al. Hedgehog pathway activation and epithelial-to-mesenchymal transitions during myofibroblastic transformation of rat hepatic cells in culture and cirrhosis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2009 Dec;297(6):G1093–106.
140. Robertson H, Kirby JA, Yip WW, Jones DEJ, Burt AD. Biliary epithelial-mesenchymal transition in posttransplantation recurrence of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Apr;45(4):977–81.
141. Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed*. 2002 Jul 15;4(3):27.
142. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiological Reviews*. 2008 Jan;88(1):125–72.

143. Schnabl B, Scholten D, Brenner DA. What is the potential role of antifibrotic agents for the treatment of liver disease? *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*. 2008 Sep;5(9):496–7.
144. Hellerbrand C, Stefanovic B, Giordano F, Burchardt ER, Brenner DA. The role of TGF β 1 in initiating hepatic stellate cell activation in vivo. *Journal of Hepatology*. 1999 Jan;30(1):77–87.
145. Gressner AM, Gao C-F, Gressner OA. Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver: A short survey. *World Journal of Gastroenterology*. 2009;15(20):2433.
146. Popper H, Udenfriend S. Hepatic fibrosis. *The American Journal of Medicine*. 1970 Nov;49(5):707–21.
147. Pérez-Tamayo R. Cirrhosis of the liver: a reversible disease? *Pathol Annu*. 1979;14 Pt 2:183–213.
148. Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HWL, Woessner M, Stephenson SL, et al. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology*. 2003 Jan;124(1):105–17.
149. Dufour J-F. Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis. *Annals of Internal Medicine*. 1997 Dec 1;127(11):981.
150. Wakim-Fleming J, Mullen KD. Long-term management of alcoholic liver disease. *Clinics in Liver Disease*. 2005 Feb;9(1):135–49.
151. Serpaggi J, Carnot F, Nalpas B, Canioni D, Guéchet J, Lebray P, et al. Direct and indirect evidence for the reversibility of cirrhosis. *Human Pathology*. 2006 Dec;37(12):1519–26.
152. Ghiassi-Nejad Z, Friedman SL. Advances in antifibrotic therapy. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2008 Dec;2(6):803–16.
153. Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH, Suchy FJ, Ryckman FC, Perlmutter DH, et al. Biliary atresia: current concepts and research directions. Summary of a symposium. *Hepatology*. 1996 Jun;23(6):1682–92.
154. Kasai M. Treatment of biliary atresia with special reference to hepatic porto-enterostomy and its modifications. *Prog Pediatr Surg*. 1974;6:5–52.
155. Hadžić N, Davenport M, Tizzard S, Singer J, Howard ER, Mieli-Vergani G. Long-term survival following kasai portoenterostomy: is chronic liver disease inevitable?: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2003 Oct;37(4):430–3.
156. Karrer FM, Lilly JR. Corticosteroid therapy in biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery*. 1985 Dec;20(6):693–5.

157. Miner PB, Gaito JM. Bile flow in response to pharmacologic agents. *Biochemical Pharmacology*. 1979 Apr;28(7):1063–6.
158. Carvalho E, Liu C, Shivakumar P, Sabla G, Aronow B, Bezerra J. Analysis of the biliary transcriptome in experimental biliary atresia. *Gastroenterology*. 2005 Aug;129(2):713–7.
159. Sokol RJ, Mack C, Narkewicz MR, Karrer FM. Pathogenesis and outcome of biliary atresia: current concepts. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2003 Jul;37(1):4–21.
160. Nio M, Ohi R, Miyano T, Saeki M, Shiraki K, Tanaka K. Five- and 10-year survival rates after surgery for biliary atresia: a report from the Japanese biliary atresia registry. *Journal of Pediatric Surgery*. 2003 Jul;38(7):997–1000.
161. Yoon PW, Bresee JS, Olney RS, James LM, Khoury MJ. Epidemiology of biliary atresia: a population-based Study. *Pediatrics*. 1997 Mar 1;99(3):376–82.
162. McKiernan PJ, Baker AJ, Kelly DA. The frequency and outcome of biliary atresia in the UK and Ireland. *The Lancet*. 2000 Jan;355(9197):25–9.
163. Narkewicz MR. Biliary atresia: an update on our understanding of the disorder: Current Opinion in Pediatrics. 2001 Oct;13(5):435–40.
164. Bezerra JA, Balistreri WF. Cholestatic syndromes of infancy and childhood. *Semin Gastrointest Dis*. 2001 Apr;12(2):54–65.
165. Muraji T, Higashimoto Y. The improved outlook for biliary atresia with corticosteroid therapy. *Journal of Pediatric Surgery*. 1997 Jul;32(7):1103–7.
166. Haber BA, Russo P. Biliary atresia. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2003 Sep;32(3):891–911.
167. Balistreri WF. Bile acid therapy in pediatric hepatobiliary disease: the role of ursodeoxycholic acid. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 1997 May;24(5):573–89.
168. Bu L-N, Chen H-L, Chang C-J, Ni Y-H, Hsu H-Y, Lai H-S, et al. Prophylactic oral antibiotics in prevention of recurrent cholangitis after the Kasai portoenterostomy. *Journal of Pediatric Surgery*. 2003 Apr;38(4):590–3.
169. Lares-Asseff I, Villegas F, Pérez G, Toledo A, Camacho A, López DC. Kinetic effects of trimethoprim-sulfamethoxazole in children with biliary atresia: a new dosing regimen. *Arch Med Res*. 1996;27(2):183–90.
170. Nio M, Ohi R. Biliary Atresia. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2000 Nov;9(4):177–86.

171. Mack CL, Falta MT, Sullivan AK, Karrer F, Sokol RJ, Freed BM, et al. Oligoclonal expansions of CD4+ and CD8+ T-Cells in the target organ of patients with biliary atresia. *Gastroenterology*. 2007 Jul;133(1):278–87.
172. Shivakumar P, Sabla G, Mohanty S, McNeal M, Ward R, Stringer K, et al. Effector role of neonatal hepatic CD8+ lymphocytes in epithelial injury and autoimmunity in experimental biliary atresia. *Gastroenterology*. 2007 Jul;133(1):268–77.
173. Narayanaswamy B, Gonde C, Tredger JM, Hussain M, Vergani D, Davenport M. Serial circulating markers of inflammation in biliary atresia—evolution of the post-operative inflammatory process. *Hepatology*. 2007 Jul;46(1):180–7.
174. Hsieh C-S, Huang C-C, Huang L-T, Tsai Y-J, Chou M-H, Chuang J-H. Glucocorticoid treatment down-regulates chemokine expression of bacterial cholangitis in cholestatic rats. *Journal of Pediatric Surgery*. 2004 Jan;39(1):10–5.
175. Muraji T, Nio M, Ohhama Y, Hashimoto T, Iwanaka T, Takamatsu H, et al. Postoperative corticosteroid therapy for bile drainage in biliary atresia—a nationwide survey. *Journal of Pediatric Surgery*. 2004 Dec;39(12):1803–5.
176. Lünzmann K, Schweizer P. The Influence of cholangitis on the prognosis of extrahepatic biliary atresia. *European Journal of Pediatric Surgery*. 1999 Feb;9(01):19–23.
177. Ecoffey C, Rothman E, Bernard O, Hadchouel M, Valayer J, Alagille D. Bacterial cholangitis after surgery for biliary atresia. *The Journal of Pediatrics*. 1987 Dec;111(6):824–9.
178. Kang N, Davenport M, Driver M, Howard ER. Hepatic histology and the development of esophageal varices in biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery*. 1993 Jan;28(1):63–6.
179. Yerushalmi B, Sokol RJ, Narkewicz MR, Smith D, Karrer FM. Use of rifampin for severe pruritus in children with chronic cholestasis. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 1999 Oct;29(4):442–7.
180. Balistreri WF, Bezerra JA. Whatever Happened to “Neonatal Hepatitis”? *Clinics in Liver Disease*. 2006 Feb;10(1):27–53.
181. Chardot C, Carton M, Spire-Bendelac N, Le Pommelet C, Golmard J-L, Reding R, et al. Is the Kasai operation still indicated in children older than 3 months diagnosed with biliary atresia? *The Journal of Pediatrics*. 2001 Feb;138(2):224–8.

182. Karrer FM. Long-term results with the Kasai operation for biliary atresia. *Archives of Surgery*. 1996 May 1;131(5):493.
183. Chardot C, Carton M, Spire-Bendelac N, Le Pommelet C, Golmard J-L, Auvert B. Prognosis of biliary atresia in the era of liver transplantation: french national study from 1986 to 1996. *Hepatology*. 1999 Sep;30(3):606–11.
184. Chandra RS, Altman RP. Ductal remnants in extrahepatic biliary atresia: A histopathologic study with clinical correlation. *The Journal of Pediatrics*. 1978 Aug;93(2):196–200.
185. Baerg J, Zuppan C, Klooster M. Biliary atresia—a fifteen-year review of clinical and pathologic factors associated with liver transplantation. *Journal of Pediatric Surgery*. 2004 Jun;39(6):800–3.
186. Ohi R. Biliary atresia. *Clinics in Liver Disease*. 2000 Nov;4(4):779–804.
187. Sangkhathat S, Patrapinyokul S, Tadtayathikom K, Osatakul S. Peri-operative factors predicting the outcome of hepatic porto-enterostomy in infants with biliary atresia. *J Med Assoc Thai*. 2003 Mar;86(3):224–31.
188. Volpert D, White F, Finegold MJ, Molleston J, DeBaun M, Perlmutter DH. Outcome of early hepatic portoenterostomy for biliary atresia. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2001 Mar;32(3):265–9.
189. Schwartz MZ, Hall RJ, Reubner B, Lilly JR, Brogen T, Toyama WM. Agenesis of the extrahepatic bile ducts: report of five cases. *Journal of Pediatric Surgery*. 1990 Jul;25(7):805–7.
190. van Heurn LWE, Saing H, Tam PKH. Portoenterostomy for biliary atresia: long-term survival and prognosis after esophageal variceal bleeding. *Journal of Pediatric Surgery*. 2004 Jan;39(1):6–9.
191. Ohhama Y, Shinkai M, Fujita S, Nishi T, Yamamoto H. Early prediction of long-term survival and the timing of liver transplantation after the Kasai operation. *Journal of Pediatric Surgery*. 2000 Jul;35(7):1031–4.
192. Rudolph JA, Balistreri WF. Optimal treatment of biliary atresia?? halfway? there! *Hepatology*. 1999 Sep;30(3):808–10.
193. Mowat AP, Davidson LL, Dick MC. Earlier identification of biliary atresia and hepatobiliary disease: selective screening in the third week of life. *Archives of Disease in Childhood*. 1995 Jan 1;72(1):90–2.
194. Balistreri WF, Heubi JE, Suchy FJ. Immaturity of the enterohepatic circulation in early life: factors predisposing to “physiologic” maldigestion and cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1983 May;2(2):346–54.

195. Bezerra JA. The next challenge in pediatric cholestasis: deciphering the pathogenesis of biliary atresia. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2006 Jul;43(Supplement 1):S23–9.
196. Makin E, Quaglia A, Kvist N, Petersen BL, Portmann B, Davenport M. Congenital biliary atresia: liver injury begins at birth. *Journal of Pediatric Surgery*. 2009 Mar;44(3):630–3.
197. Schreiber RA, Barker CC, Roberts EA, Martin SR, Alvarez F, Smith L, et al. Biliary atresia: the canadian experience. *The Journal of Pediatrics*. 2007 Dec;151(6):659–665.e1.
198. Sokol RJ, Shepherd RW, Superina R, Bezerra JA, Robuck P, Hoofnagle JH. Screening and outcomes in biliary atresia: summary of a national institutes of health workshop. *Hepatology*. 2007 Aug;46(2):566–81.
199. Shneider BL, Brown MB, Haber B, Whittington PF, Schwarz K, Squires R, et al. A multicenter study of the outcome of biliary atresia in the United States, 1997 to 2000. *The Journal of Pediatrics*. 2006 Apr;148(4):467–474.e1.
200. Serinet M-O, Wildhaber BE, Broue P, Lachaux A, Sarles J, Jacquemin E, et al. Impact of age at Kasai operation on its results in late childhood and adolescence: a rational basis for biliary atresia screening. *Pediatrics*. 2009 May 1;123(5):1280–6.
201. Benchimol EI, Walsh CM, Ling SC. Early diagnosis of neonatal cholestatic jaundice: test at 2 weeks. *Can Fam Physician*. 2009 Dec;55(12):1184–92.
202. Bongers-Schokking JJ, de Muinck Keizer-Schrama SMPF. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on mental, psychomotor, and behavioral development in children with congenital hypothyroidism. *The Journal of Pediatrics*. 2005 Dec;147(6):768–74.
203. Kimberlin DW, Lin C-Y, Sánchez PJ, Demmler GJ, Dankner W, Shelton M, et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *The Journal of Pediatrics*. 2003 Jul;143(1):16–25.
204. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2006 Aug;29(4):516–25.
205. Hsiao C-H, Chang M-H, Chen H-L, Lee H-C, Wu T-C, Lin C-C, et al. Universal screening for biliary atresia using an infant stool color card in Taiwan. *Hepatology*. 2007 Dec 20;47(4):1233–40.

206. Kieling CO, Santos JL dos, Vieira SMG, Ferreira CT, Linhares ARR, Lorentz AL, et al. Biliary atresia: we still operate too late. *Jornal de Pediatria*. 2008 Oct 13;84(5):436–41.
207. Pape L, Olsson K, Petersen C, von Wasilewski R, Melter M. Prognostic value of computerized quantification of liver fibrosis in children with biliary atresia. *Liver Transplantation*. 2009 Aug;15(8):876–82.
208. 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. *Journal of Pediatric Surgery*. 2009 Apr;44(4):695–701.
209. Yokoyama T, Copeland N, Jenkins N, Montgomery C, Elder F, Overbeek P. Reversal of left-right asymmetry: a situs inversus mutation. *Science*. 1993 Apr 30;260(5108):679–82.
210. Lee H-C, Chang T-Y, Yeung C-Y, Chan W-T, Jiang C-B, Chen W-F, et al. Genetic variation in the vascular endothelial growth factor gene is associated with biliary atresia. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2010 Feb;44(2):135–9.
211. Spence JR, Lange AW, Lin S-CJ, Kaestner KH, Lowy AM, Kim I, et al. Sox17 regulates organ lineage segregation of ventral foregut progenitor cells. *Developmental Cell*. 2009 Jul;17(1):62–74.
212. Yamashita R, Takegawa Y, Sakumoto M, Nakahara M, Kawazu H, Hoshii T, et al. Defective development of the gall bladder and cystic duct in *Lgr4*-hypomorphic mice. *Developmental Dynamics*. 2009 Apr;238(4):993–1000.
213. Kobayashi H, Tamatani T, Tamura T, Kusafuka J, Yamataka A, Lane GJ, et al. Maternal microchimerism in biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery*. 2007 Jun;42(6):987–91.
214. Muraji T, Hosaka N, Irie N, Yoshida M, Imai Y, Tanaka K, et al. Maternal microchimerism in underlying pathogenesis of biliary atresia: quantification and phenotypes of maternal cells in the liver. *Pediatrics*. 2008 Mar 1;121(3):517–21.
215. Jafri M, Donnelly B, Allen S, Bondoc A, McNeal M, Rennert PD, et al. Cholangiocyte expression of $\alpha_2\beta_1$ -integrin confers susceptibility to rotavirus-induced experimental biliary atresia. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2008 Jul;295(1):G16–26.

216. Barnes BH, Tucker RM, Wehrmann F, Mack DG, Ueno Y, Mack CL. Cholangiocytes as immune modulators in rotavirus-induced murine biliary atresia. *Liver International*. 2009 Sep;29(8):1253–61.
217. Ohi R. Surgery for biliary atresia. *Liver International*. 2001 Jun;21(3):175–82.
218. Davenport M, Stringer MD, Tizzard SA, McClean P, Mieli-Vergani G, Hadzic N. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of corticosteroids after Kasai portoenterostomy for biliary atresia. *Hepatology*. 2007 Dec;46(6):1821–7.
219. Chung HY, Kak Yuen Wong K, Cheun Leung Lan L, Kwong Hang Tam P. Evaluation of a standardized protocol in the use of steroids after Kasai operation. *Pediatric Surgery International*. 2008 Sep;24(9):1001–4.
220. Petersen C, Harder D, Melter M, Becker T, Wasielewski RV, Leonhardt J, et al. postoperative high-dose steroids do not improve mid-term survival with native liver in biliary atresia. *The American Journal of Gastroenterology*. 2008 Mar;103(3):712–9.
221. Willot S, Uhlen S, Michaud L, Briand G, Bonnevalle M, Sfeir R, et al. Effect of ursodeoxycholic acid on liver function in children after successful surgery for biliary atresia. *Pediatrics*. 2008 Dec 1;122(6):e1236–41.
222. Bezerra JA. Biliary atresia--translational research on key molecular processes regulating biliary injury and obstruction. *Chang Gung Med J*. 2006 Jun;29(3):222–30.
223. Aller MA, Duran M, Ortega L, Arias JL, Nava MP, Prieto I, et al. Comparative study of macro- and microsurgical extrahepatic cholestasis in the rat. *Microsurgery*. 2004;24(6):442–7.
224. Aller MA, Lorente L, Alonso S, Arias J. A model of cholestasis in the rat, using a microsurgical technique. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1993 Jan;28(1):10–4.
225. Abraldes JG. Animal models of portal hypertension. *World Journal of Gastroenterology*. 2006;12(41):6577.
226. García-Moreno LM, Conejo NM, González-Pardo H, Aller MA, Nava MP, Arias J, et al. Evaluation of two experimental models of hepatic encephalopathy in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2005 Jan;38(1):127–32.
227. Feng J, Li M, Cai T, Tang H, Gu W. Rotavirus-induced murine biliary atresia is mediated by nuclear factor- κ B. *Journal of Pediatric Surgery*. 2005 Apr;40(4):630–6.



GLOSARIUM

- Antibodi : protein yang terbentuk sebagai respons terhadap paparan dari suatu antigen (zat yang merangsang sistem kekebalan tubuh) dan bereaksi secara spesifik dengan antigen tersebut, atau disebut juga immunoglobulin
- Atresia bilier : penyakit kolangiodestruktif yang disertai obstruksi lumen saluran empedu dan dapat menyebabkan sirosis bilier, kegagalan hati, dan kematian
- Bilirubin : pigmen berwarna kuning kecokelatan yang ditemukan di dalam empedu, darah, dan ginjal; merupakan hasil pemecahan heme yang berasal dari hemoglobin dan sel darah merah
- CMV : *Cytomegalovirus*, adalah virus keluarga herpes (*Herpesviridae family*). Virus yang paling sering terjadi pada janin di dalam kandungan dan menyebabkan kelainan bawaan
- Fibrosis hati : proses pembentukan jaringan parut yang disebabkan perubahan deposisi matriks ekstraseluler di dalam hati akibat berbagai stimulus
- Jaundis (ikterus) : perubahan warna kuning pada kulit, sklera, dan membran mukosa yang disebabkan oleh penumpukan bilirubin konjugasi

- Hati : organ internal terbesar dalam tubuh dan memiliki dua tipe sel epitel, hepatosit, dan kolangiosit
- Kista Koledokus : pelebaran kistik pada saluran bilier yang terjadi akibat kelainan bawaan pada saluran bilier sehingga menyebabkan tersumbatnya aliran empedu
- Kolangiosit : tipe sel target pada jalur *growth hormon* (GH), *Insulin like growth faktor-1* (IGF1)
- Kolestasis neonatal : kolestasis akibat peningkatan level serum bilirubin konjugasi dalam jangka waktu yang lama pada tiga bulan pertama kehidupan
- NODs : *Nucleotide-binding protein oligomerization domain protein*; reseptor dalam pengenalan antigen oleh sel epitel bilier
- Saluran bilier : jaringan yang tersusun oleh sel epitelial sekretorik/ekskresi yang disebut kolangiosit
- Sirosis bilier : kondisi terbentuknya jaringan parut (fibrosis) di dalam hati akibat kerusakan hati yang kronis
- TGF- β : *Transforming growth factor- β* ; sitokin fibrogenik paling ampuh yang menginduksi fibrosis melalui beberapa mekanisme



ATRESIA

BILIER

Ilmu Dasar hingga
Studi Translasional



Airlangga
University
Press

■ Pusat Penerbitan dan Percetakan
Universitas Airlangga

ISBN 978-602-473-627-9



9 786024 736279