



TINJAUAN IMUNOLOGI

ATRESIA BILIER PADA ANAK



BAGUS SETYOBOEDI

Diterbitkan atas kerja sama Airlangga University Press dengan
Direktorat Inovasi dan Pengembangan Pendidikan Universitas Airlangga

TINJAUAN
IMUNOLOGI
ATRESIA BILIER PADA ANAK

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).

TINJAUAN IMUNOLOGI

ATRESIA BILIER PADA ANAK

BAGUS SETYOBOEDI



TINJAUAN IMUNOLOGI ATRESIA BILIER PADA ANAK

Bagus Setyo-boedi

ISBN: 978-602-473-949-2 (PDF)

© 2023 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

Direktorat Inovasi dan Pengembangan Pendidikan UNAIR

Kampus C Unair, Gedung Kahuripan Lt. 2, Ruang 203, Mulyorejo Surabaya 60115

Telp. (031) 5920424 Fax. (031) 5920532 E-mail: direktorat@ditipp.unair.ac.id

Editor Naskah (Anas Abadi)

Layout (Djaiful Eko Suharto)

Cover (Roy Wahyudi)

AUP (1306/04.23)

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.

Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.



Prakata

Puji syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah Swt. atas rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku yang berjudul Tinjauan Imunologi Atresia Bilier pada Anak. Buku ini berisi pembahasan mengenai gambaran umum tentang atresia bilier, patofisiologis terjadinya atresia bilier, inflamasi, proses imunologi yang terjadi pada atresia bilier, hingga terapi steroid pada atresia bilier. Tenaga kesehatan, terutama dokter dan bidan dapat melakukan deteksi awal atresia bilier sehingga dapat dilakukan rujukan sedini mungkin untuk dilakukan evaluasi pada anak dengan kolestasis yang akan dijelaskan pada buku ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu hingga terselesaikan buku ini. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam pembuatan buku ini, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk perbaikan buku ini.

Surabaya, Februari 2023

Penulis,

Bagus Setyoboedi



Daftar Isi

Prakata	v
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xiii

BAB 1

PENDAHULUAN	1
--------------------------	----------

BAB 2

ATRESIA BILIER	5
2.1 Embriologi Saluran Bilier.....	5
2.2 Anatomi Sistem Bilier.....	7
2.3 Fisiologi Sistem Bilier.....	9
2.4 Gambaran Klinis Atresia Bilier	12

2.5	Diagnosis Atresia Bilier	15
2.6	Tahapan Penyakit Atresia Bilier	19
2.7	Tata Laksana dan Prognosis Atresia Bilier	21
2.8	Etiopatogenesis Atresia Bilier	24
2.9	Morfogenesis Abnormal (Faktor Genetik) pada Atresia Bilier.....	31
2.10	Infeksi Virus pada Atresia Bilier	34
2.11	Mekanisme Imunologi Atresia Bilier.....	72

BAB 3

INFLAMASI PADA ATRESIA BILIER	79
3.1 Studi pada Manusia	81
3.2 Studi pada Hewan Coba.....	82
3.3 Mekanisme Kerusakan Epitel dan Obstruksi Saluran.	88

BAB 4

PERAN SISTEM IMUN PADA PATOGENESIS ATRESIA BILIER	91
4.1 Dasar Teori Imunologi pada Atresia Bilier	92
4.2 Immunobiologi Kolangiosit.....	93
4.3 Imunitas Bawaan (<i>Innate</i>) pada Patogenesis Atresia Bilier	95
4.4 Mediator Kimia pada <i>Innate Immunity</i> Atresia Bilier ..	99
4.5 Imunitas Adaptif: Imunitas Seluler pada Patogenesis Atresia Bilier.....	102
4.6 Peran <i>Adaptive Cellular Immunity: T-Cell Subsets</i>	105
4.7 Imunitas Adaptif: Imunitas Humoral pada Patogenesis Atresia Bilier.....	107
4.8 Mekanisme Inflamasi Post Obstruksi.....	111

BAB 5

AUTOIMUNITAS PADA PATOGENESIS ATRESIA BILIER 115

- 5.1 *Epithelial-Mesenchymal Transition* (EMT) pada Patogenesis Atresia Bilier 119
- 5.2 Temuan Klinis Peran Proses Immunologi pada Atresia Bilier 120

BAB 6

KORTIKOSTEROID PADA ATRESIA BILIER..... 125

- 6.1 Mekanisme Antiinflamasi Kortikosteroid 125
- 6.2 Pengobatan Kortikosteroid pada Atresia Bilier 134

- Ringkasan..... 153
- Daftar Pustaka..... 155
- Glosarium 185
- Indeks..... 187



Daftar Tabel

Tabel 2.1	Sejarah atresia bilier.....	12
Tabel 2.2	Faktor yang berhubungan dengan patogenesis atresia bilier	29
Tabel 2.3	Konsekuensi morfologis mutasi gen-gen pengatur morfogenesis saluran empedu pada mencit	33
Tabel 2.4	Studi Infeksi CMV pada model binatang.	52
Tabel 2.5	Studi yang tidak didapatkan bukti infeksi CMV pada atresia bilier.	54
Tabel 2.6	Studi yang didapatkan bukti infeksi CMV pada atresia bilier.	54
Tabel 2.7	Beberapa penelitian pada atresia bilier berkaitan dengan infeksi reovirus.....	64
Tabel 2.8	Beberapa penelitian pada atresia bilier berkaitan dengan infeksi rotavirus.....	69

Tabel 2.9	Beberapa penelitian atresia bilier berkaitan dengan infeksi virus lain.	71
Tabel 3.1	Perbandingan fenotipe klinis, histologis, dan imunologis atresia bilier antara manusia dan model eksperimental mencit Rotavirus	83
Tabel 3.2	Insiden terjadinya kolestasis dan atresia bilier oleh karena induksi virus (<i>virally induced</i>)	86
Tabel 3.3	Korelasi umur hari/tahun mencit dibandingkan manusia.....	87
Tabel 6.1	Mekanisme immunosupresi yang diinduksi glukokortikoid.....	133
Tabel 6.2	Berat badan subjek penelitian	139
Tabel 6.3	Perbandingan gambaran histopatologis saluran bilier secara kualitatif antara kelompok kontrol, kelompok induksi RRV dengan kelompok perlakuan <i>dexamethasone</i>	140
Tabel 6.4	Perubahan ekspresi CD 68 pada kelompok kontrol, induksi RRV dan <i>dexamethasone</i>	144
Tabel 6.5	Perubahan ekspresi CD39 pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan <i>dexamethasone</i>	145
Tabel 6.6	Perubahan ekspresi TLR3 pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan <i>dexamethasone</i>	146
Tabel 6.7	Perubahan ekspresi NF-kB pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan <i>dexamethasone</i>	147
Tabel 6.8	Perubahan ekspresi CD4+ pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan <i>dexamethasone</i>	148
Tabel 6.9	Perubahan ekspresi CD8+ pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan <i>dexamethasone</i>	149
Tabel 6.10	Perubahan ekspresi sel B pada kelompok kontrol, induksi RRV dan <i>dexamethasone</i>	150
Tabel 6.11	Perubahan ekspresi ANCA pada kelompok kontrol, induksi RRV dan <i>dexamethasone</i>	151



Daftar Gambar

Gambar 2.1	Embriogenesis usia 30 hari setelah konsepsi	6
Gambar 2.2	Ilustrasi skematik kantung empedu dan saluran bilier ekstrahepatik	8
Gambar 2.3	Siklus enterohepatik asam empedu	10
Gambar 2.4	Tinja akolik.	16
Gambar 2.5	Visualisasi <i>triangular cord sign</i> pada USG atresia bilier.....	16
Gambar 2.6	Gambaran histopatologi khas pada atresia bilier	17
Gambar 2.7	Saluran empedu model mencit atresia bilier dengan pewarnaan hematoksilin/eosin dan <i>trichrome</i>	20
Gambar 2.8	Algoritma tata laksana atresia bilier	23
Gambar 2.9	Etiologi multifaktor penyebab atresia bilier	27
Gambar 2.10	Skema Struktur CMV.....	36
Gambar 2.11	Morfologi CMV	39

Gambar 2.12	Skema struktur reovirus	61
Gambar 2.13	Skema struktur rotavirus (kiri) dan mikrograf elektron (kanan).....	65
Gambar 2.14	Mekanisme yang diusulkan untuk autoimunitas yang dipicu oleh rotavirus.....	67
Gambar 2.15	Usulan model BA yang diinduksi virus, autoreaktivitas dimediasi sel T menyebabkan kerusakan epitel saluran empedu	73
Gambar 2.16	Serangan sistem imun pada sel epitel bilier (BEC).....	76
Gambar 3.1	Infiltrasi jaringan oleh sel mononuklear setelah paparan rotavirus jenis rhesus (RRV)	84
Gambar 3.2	Histologi irisan dari saluran empedu ekstrahepatik dari mencit yang terinfeksi rotavirus (model hewan atresia bilier)	85
Gambar 3.3	Mekanisme cedera epitel pada atresia bilier eksperimental.....	89
Gambar 4.1	Etiopatogenesis atresia bilier.....	92
Gambar 4.2	Reseptor yang terlibat dalam respons <i>innate immunity</i> pada kolangiosit.....	98
Gambar 4.3	Pewarnaan imunohistokimia untuk <i>human beta defensin</i> (hBD)-1 pada hati normal (a) dan hBD-2 pada obstruksi bilier ekstrahepatik (b)	100
Gambar 4.4	Skema hipotesis <i>T-reg deficits</i> pada patogenesis atresia bilier	107
Gambar 4.5	Mekanisme obstruksi pada atresia bilier	110
Gambar 4.6	Mekanisme inflamasi post obstruksi saluran empedu	112
Gambar 5.1	Imunohistokimia potongan jaringan liver pada kelompok atresia bilier dibandingkan dengan kelompok koloestasis lainnya.....	122

Gambar 6.1	Gambaran molekuler parsial mekanisme antagonisme terhadap peradangan yang diinduksi glukokortikoid	127
Gambar 6.2	Tiga mekanisme kerja utama glukokortikoid dan reseptor glukokortikoid dalam menghambat peradangan	130
Gambar 6.3	Beberapa cara kortikosteroid dalam mengatur ekspresi gen	132
Gambar 6.4	Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-3	141
Gambar 6.5	Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-7	141
Gambar 6.6	Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-14.....	142
Gambar 6.7	Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-21	142



BAB 1

Pendahuluan

Atresia bilier (*Biliary Atresia/BA*) sering disebut sebagai kolangiopati obstruktif pada anak, dengan etiologi tidak diketahui dan patogenesis yang belum jelas.^{1,2,3} Namun akhir-akhir ini pemahaman tentang patogenesis penyakit ini meningkat pesat, meskipun etiologi masih belum diketahui secara pasti. Studi pada penderita maupun kajian *in vitro* yang digabungkan dengan model eksperimental dapat mengidentifikasi mekanisme seluler dan molekuler yang berperan pada kerusakan saluran empedu.^{4,5,6} Secara historis, pengetahuan tentang faktor-faktor yang dianggap berkontribusi pada patogenesis kerusakan saluran empedu masih terbatas dan data secara mekanistik yang masih kurang. Namun, pada atresia bilier didapatkan banyak data mengenai (a) kerentanan genetik, aktivasi sirkuit proinflamasi dan interaksinya dalam menghasilkan lesi khas saluran empedu ekstrahepatik, dan (b) kerusakan intrahepatik yang berlangsung setelah portoenterostomi.⁷

Atresia bilier merupakan kolangiopati yang paling umum terjadi pada anak, dengan obstruksi lengkap pada segmen tertentu atau seluruh saluran empedu ekstrahepatik. Atresia bilier terjadi pada 1 dari 15.000 kelahiran di AS,⁷ memengaruhi semua kelompok etnis,⁸ dan dengan frekuensi yang lebih tinggi pada anak perempuan. Insiden BA di Asia selatan adalah satu kejadian dari 3000 kelahiran. Hingga saat ini, waktu hepatoporto-enterostomi yang tepat adalah strategi terbaik untuk memulihkan aliran empedu.^{9,10} Namun, meskipun dilakukan intervensi bedah tepat waktu, kerusakan berkelanjutan saluran empedu intrahepatik masih sering terjadi yang dapat menyebabkan kolangiopati progresif dan berakhir sirosis bilier. Laju perkembangan penyakit yang tidak seragam, mungkin berhubungan dengan bentuk klinis penyakit dan/atau tampilan patologi hati saat diagnosis.¹¹ Meskipun insiden BA tidak terlalu tinggi namun merupakan penyebab paling umum dari kolestasis neonatal, penyakit hati stadium akhir pada anak-anak, dan indikasi nomor satu transplantasi hati pada anak di seluruh dunia.¹¹ Bayi dengan BA jika tidak diterapi, maka akan mengalami fibrosis yang berkembang pesat, menyebabkan hipertensi portal, penyakit hati stadium akhir, dan selalu mengakibatkan kematian dalam 2 tahun pertama kehidupan.¹² Pada anak yang sudah menjalani operasi portoenterostomi Kasai, proses cedera saluran empedu yang destruktif masih berkembang sehingga menyebabkan sirosis bilier pada sebagian besar anak-anak.¹¹

Pada buku ini pembahasan atresia bilier dimulai dengan ilmu dasar pada bagian hepatologi, yaitu embriologi saluran bilier, anatomi sistem bilier, dan fisiologi sistem bilier. Pembahasan tentang atresia bilier dimulai dari gambaran klinis atresia bilier, diagnosis atresia bilier, tahapan penyakit atresia bilier, tata laksana dan prognosis atresia bilier, etiopatogenesis atresia bilier, morfogenesis abnormal (faktor genetik) pada atresia bilier, infeksi virus pada atresia bilier, mekanisme imunologi atresia bilier. Pada buku ini, proses terjadinya atresia bilier

yang diawali dengan inflamasi diperdalam dengan pembahasan pada studi pada manusia, studi pada hewan coba, hingga pembahasan mekanisme kerusakan epitel dan obstruksi saluran. Peran sistem imun pada patogenesis atresia bilier yang dijelaskan meliputi dasar teori imunologi pada atresia bilier, imunobiologi kolangosit, imunitas bawaan pada patogenesis atresia bilier dan mediator kimia pada *innate immunity* atresia bilier, imunitas adaptif hingga mekanisme inflamasi *post-obstruksi*. Proses autoimunitas pada patogenesis atresia bilier dan peluang terapi kortikosteroid pada atresia bilier juga diperdalam dalam buku ini.



BAB 2

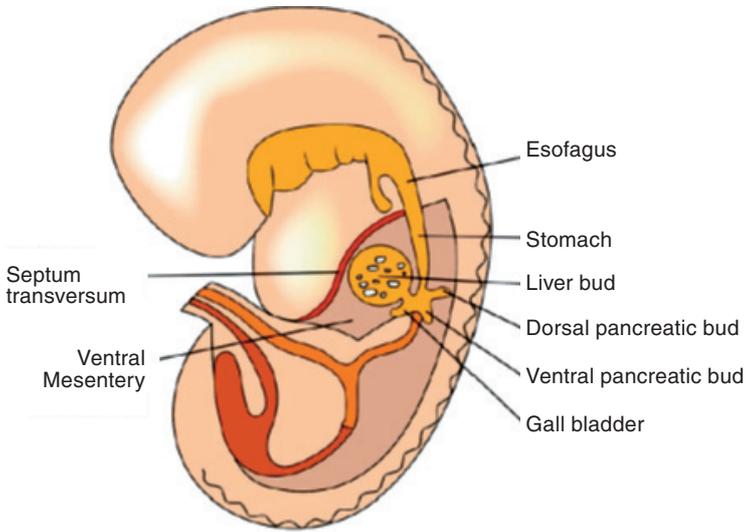
Atresia Bilier

2.1 EMBRIOLOGI SALURAN BILIER

Perkembangan saluran empedu intrahepatik dimulai dengan formasi *ductal plate* pada hari ke-30 setelah konsepsi atau saat usia kehamilan antara minggu ke-5 dan minggu ke-9.¹³

Formasi *ductal plate* pada saat embriogenesis diawali dengan cincin berlapis tunggal yang terdiri atas sel hepatoblas yang mengelilingi mesenkim dari saluran *primordial portal tracts* (PTs). Sekitar minggu ke-12 terjadi *remodelling* pada *ductal plate* yang mengarah ke pembentukan *double-layered ductal plate* tapi terputus-putus. Saluran tersebut menyatu ke dalam mesenkim dari *primordial portal tracts*. Setelah menyatu, tubulus imatur mengalami *remodelling* menjadi saluran empedu tunggal yang secara bertahap bermigrasi ke pusat PT. Sampai saat ini *ductal plate* yang tidak bergabung masih menjadi kontroversi apakah akhirnya dihilangkan oleh proses apoptosis atau mengalami diferensiasi menjadi hepatosit. Namun, kegagalan dalam diferensiasi dan/atau

resorpsi selama kehidupan janin diketahui menghasilkan malformasi *ductal plate* dan kerusakan atau agenesis dari *ductal plate* diperkirakan memainkan peran dalam proses terjadinya BA intrahepatik. Proses selanjutnya adalah ketika saluran bilier terminal mengalami maturasi dan menyatu ke PT, terjadi koneksi antara saluran bilier dengan parenkim hati melalui *bile ductules* yang dilapisi oleh sel kolangiosit. Struktur *bile ductules* selanjutnya membuka ke arah *canals of Hering* yang secara anatomi dan fisiologi menghubungkan antara sistem kanalikuli intralobular dengan pohon bilier. Proses *remodelling* dari *ductal plate* terus berlanjut sepanjang kehidupan janin dimulai di PTs yang secara bertahap meluas ke arah tepi. Selama proses aktif myelopoiesis porta sekitar minggu ke-20 hingga ke-32 terjadi perlambatan *remodelling* sampai bulan pertama kelahiran.¹³

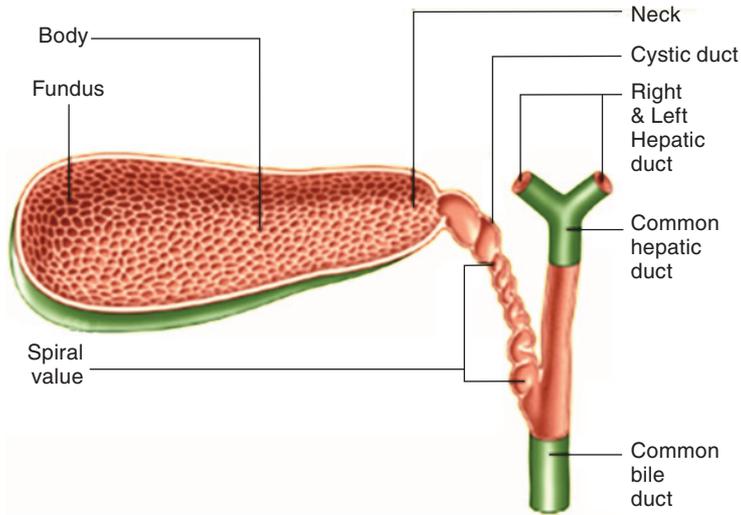


GAMBAR 2.1 Embriogenesis usia 30 hari setelah konsepsi.¹³

Saluran empedu ekstrahepatik berkembang lebih cepat daripada saluran empedu intrahepatik dan keduanya muncul dari bagian ekor divertikulum hepatik yang terletak di kaudal kuncup hati dan dekat dengan tunas pankreas ventral. Sistem saluran empedu intrahepatik dan ekstrahepatik bergabung pada hilus hati. Saluran kistik dan kandung empedu menjadi terlihat kecil pertumbuhan divertikulum hepatik pada minggu ke-4 kehamilan. Pada minggu ke-5, semua elemen saluran empedu ekstrahepatik (kandung empedu, saluran kistik, saluran hati, saluran empedu, saluran pankreas terlihat jelas pada minggu ke-11, saluran empedu utama di porta hepatis sepenuhnya terbentuk dan masuk bersamaan dengan dilatasi pada permulaan tubular kantong empedu. Lapisan epitel dari traktus bilier ekstrahepatik merupakan struktur berongga yang bersambung dan menyatu pada ujung kaudalnya dengan epitel duodenum sedangkan bagian kranial menyatu dengan sel hati primitif. Hal tersebut mendukung hipotesis bahwa BA merupakan hasil dari kegagalan “kanalisasi”. Perkembangan saluran empedu ekstrahepatik sangat bergantung dari fungsi yang tepat dari kedua epitel kolangiosit dan mesenkim yang berdekatan. Jika dibandingkan dengan saluran empedu intrahepatik, sedikit diketahui tentang mekanisme molekuler yang mengontrol.¹³

2.2 ANATOMI SISTEM BILIER

Kantung empedu atau *vesica fellea* terletak di antara dua lobus hepar. *Vesica fellea* merupakan tempat penyimpanan garam empedu yang berbentuk kantung piriformis, memiliki panjang 7–10 cm dan lebar 3–4 cm, serta dapat menampung sebanyak 30–50 ml empedu. *Vesica fellea* terdiri atas tiga bagian yaitu korpus, fundus, infundibulum, dan kolum.¹⁴



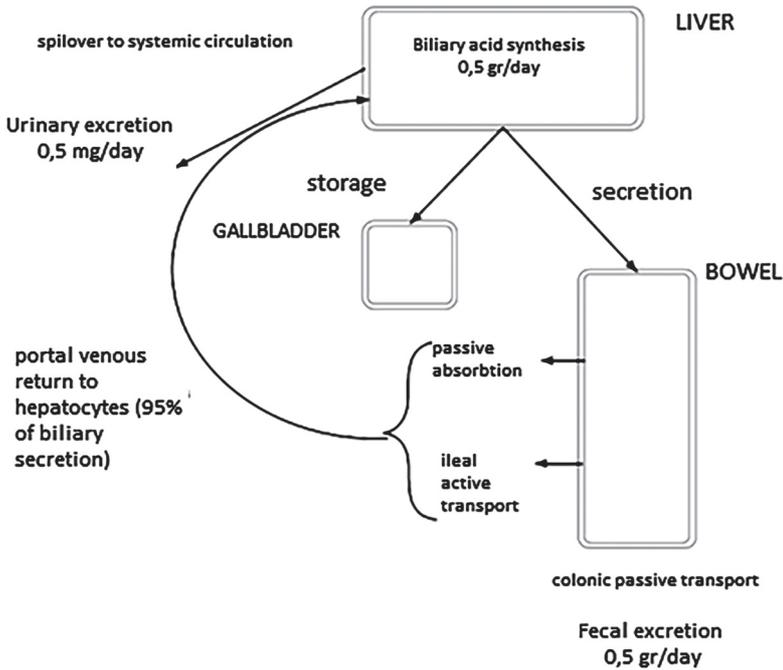
GAMBAR 2.2 Ilustrasi skematik kantung empedu dan saluran bilier ekstrahepatik.¹⁴

Gambar diatas memperlihatkan fundus membentang hingga 1 cm tepi bebas hepar. Korpus merupakan bagian terbesar dengan infundibulum yang merupakan area transisional antara korpus dan kolum. Kantung Hartmann merupakan penonjolan pada permukaan inferior infundibulum. *Vesica fellea* akan berakhir pada duktus sistikus yang berdiameter 7 mm dan dengan mukosa yang memiliki valvula spiralis (*valves of Heister*). Duktus sistikus akan mengalirkan empedu menuju duktus koledokus. Duktus koledokus merupakan duktus yang melalui caput pankreas akan berakhir pada *sfincter Oddi* yang menembus dinding duodenum dan membentuk suatu bangunan yang disebut ampula Vateri. Duktus hepatikus berasal dari lobus dekster dan lobus sinister bersatu membentuk duktus hepatikus komunis pada porta hepatis dekat pada *processus papilaris lobus kaudatus*. Panjang duktus hepatikus komunis kurang lebih 3 cm. Terletak di sebelah ventral arteri hepatica propria dekster dan ramus dekster vena porta

kemudian bersatu dengan duktus sistikus menjadi duktus koledokus. Duktus koledokus mempunyai panjang kira-kira 7 cm dibentuk oleh persatuan duktus sistikus dengan duktus hepaticus komunis pada porta hepatis. Di dalam perjalanannya dibagi menjadi tiga bagian yaitu bagian pertama terletak pada tepi bebas ligamentum hepatoduodenale, sedikit di sebelah dekstro-anterior arteri hepatica komunis dan vena porta. Bagian kedua berada di sebelah dorsal pars superior duodeni, berada di luar ligamentum hepatoduodenale yang berjalan sejajar dengan vena porta dan tetap di sebelah kanan vena porta. Bagian kaudal yang terletak di bagian dorsal kaput pankreatis, di sebelah ventral vena renalis sinister, dan vena cava inferior. Pada kaput pankreatis duktus koledokus bersatu dengan duktus pankreatikus wirsugi membentuk ampula, kemudian bermuara pada duodenum membentuk suatu tonjolan ke dalam lumen yang disebut papila duodeni mayor.¹⁴

2.3 FISILOGI SISTEM BILIER

Empedu memiliki dua fungsi utama yaitu untuk penyerapan lemak dan sebagai sarana pengeluaran kolesterol, besi, dan tembaga. Asam empedu merupakan komponen aktif utama dari sekresi bilier. Asam empedu disekresi oleh hepatosit melewati membran kanalikular ke dalam celah kanalikular. Proses sekresi terjadi secara aktif dan pasif dengan fase aktif yang akan menghasilkan aliran empedu. Produk dari sekresi aktif dikenal sebagai *primary solutes* dan dibentuk oleh asam empedu terkonjugasi, bilirubin terkonjugasi, glutathion, dan hormon steroid konjugat. Zat yang dapat difiltrasi dihasilkan dari sekresi pasif yang diinduksi oleh tekanan osmotik dan dikenal sebagai *secondary solutes*. Zat tersebut berisi terutama plasma, glukosa, elektrolit, asam organik dengan berat molekul rendah, dan kalsium. Rerata jumlah aliran basal cairan empedu pada manusia adalah 620 ml/d.¹³



GAMBAR 2.3 Siklus enterohepatik asam empedu.¹³

Cairan empedu diproduksi oleh sel hepatosit secara kontinu, tetapi umumnya akan disimpan dalam kantung empedu hingga akhirnya dibutuhkan oleh duodenum. Volume maksimum yang dapat ditampung oleh kantung empedu adalah 30–60 mL, namun sejumlah sekresi empedu selama 12 jam (umumnya berjumlah 450 mL) dapat ditampung dalam kantung empedu karena air, natrium, klorida, dan sejumlah elektrolit kecil secara kontinu diserap oleh mukosa kantung empedu dan dipadatkan sisa cairan yang mengandung garam empedu, kolesterol, lesitin, dan bilirubin. Ketika makanan mulai dicerna di saluran pencernaan atas, kantung empedu akan mengosongkan isinya terutama saat makanan berlemak memasuki duodenum. Mekanisme pengosongan terjadi dengan adanya kontraksi ritmis dinding kantung empedu, tetapi agar terjadi proses pengosongan yang lebih

efektif dibutuhkan adanya relaksasi dari sfingter Oddi yang akan mengarahkan pengeluaran cairan empedu menuju duodenum. Sekitar 94% dari garam empedu yang telah disekresi akan diserap ke dalam darah dan kembali ke hepar kemudian hampir seluruh garam empedu akan diserap oleh hepatosit dan mengalami resekreasi. Sebagian kecil cairan empedu akan terbuang melalui feses dan akan digantikan oleh produksi empedu baru dari hepar. Proses resirkulasi garam empedu ini disebut dengan sirkulasi enterohepatik.¹³

Epidemiologi Atresia Bilier

Atresia bilier adalah cacat lahir yang langka, ditemukan pada sekitar 0,5 hingga 0,8 per 10.000 kelahiran di sebagian besar populasi yang dilaporkan di negara maju. Pada negara berkembang, kasus terdiagnosis saat di rumah sakit selama bulan pertama dalam kehidupan bayi. Kebanyakan bayi dengan atresia bilier tidak memiliki gejala setelah lahir, diagnosis atresia bilier sering terjadi setelah keluarnya bayi baru lahir dan dapat terlewatkan oleh pencatatan yang berfokus pada cacat lahir yang terjadi pada periode neonatal. Untuk itu, atresia bilier terbatas pada laporan dari register dan studi klinis di rumah sakit¹⁵. Insiden kejadian atresia bilier di mana 1 kejadian setiap 12.000 kelahiran hidup di USA, sedangkan di Asia selatan 1 kejadian dari 3000 kelahiran.¹⁶

Pada tinjauan epidemiologi deskriptif atresia bilier menunjukkan variasi regional dalam prevalensi, dengan peningkatan prevalensi di antara bayi perempuan dan bayi dari ibu kulit hitam nonhispanik. Usia ibu lanjut juga berhubungan dengan peningkatan prevalensi atresia bilier. Prevalensi juga lebih tinggi pada bayi prematur dan bayi berat lahir rendah. Mungkin karena data surveilans yang terbatas pada populasi yang lebih besar, hanya sedikit studi epidemiologi deskriptif untuk atresia bilier.¹⁵

Sejarah Atresia Bilier

Pada tahun 1817, Burns membuat laporan paling awal dari kasus atresia bilier yang menggambarkan penyakit kuning awal kehidupan, feses acholic, yang dianggap berasal dari beberapa keadaan aparatus bilier yang tidak dapat disembuhkan. Pada tahun 1891, Thomas meninjau total 50 kasus berdasarkan pengalaman pribadi dan tinjauan literatur dan 25 tahun kemudian Holmes menyebutkan bahwa beberapa kasus di mana saluran empedu yang terlibat, secara teoritis dapat menerima pembedahan dengan pengangkatan segmen yang dihilangkan. Dan pada tahun 1928, Ladd melaporkan keberhasilan dalam menghilangkan obstruksi pada lesi tersebut. Pada tahun 1960 oleh Kasai pada studi histopatologi menunjukkan bahwa pengangkatan duktus empedu atretik sebelum perkembangan inflamasi ke dalam porta hepatis dan sistem bilier intrahepatik memungkinkan untuk terapi lain. Kemudian kasai mengembangkan prosedur hepatoportoenterostomi sebagai terapi atresia bilier.^{17,18,19}

TABEL 2.1 Sejarah atresia bilier.¹⁹

1817	Burns, mendeskripsikan bayi dengan atresia bilier
1891	Thomson, meninjau 50 kasus
1961	Holmes meninjau temuan anatomi dan mengusulkan pendekatan pembedahan
1928	Ladd melaporkan keberhasilan pembedahan pada kasus tertentu
1968	Kasai mendeskripsikan hepatoportoenterostomy
1982	Konsensus Konferensi NIH: transplantasi hati sebagai terapi untuk <i>end-stage</i> yang disebabkan oleh atresia bilier

2.4 GAMBARAN KLINIS ATRESIA BILIER

Penderita dengan BA memiliki gambaran klinis yang konsisten, yaitu: ikterus (hiperbilirubinemia terkonjugasi), tinja berwarna pucat (seperti dempul), dan urine berwarna kuning gelap dalam beberapa minggu

pertama kehidupan bayi. Penderita BA kadang dengan pertumbuhan yang normal pada saat diagnosis ditegakkan. Munculnya gambaran klinis berupa hepatomegali, splenomegali, gagal tumbuh, pruritus, dan koagulopati, tergantung pada tahap perkembangan penyakit saat diagnosis ditegakkan. Meskipun secara umum gambaran klinis tersebut sama pada semua penderita, namun waktu timbulnya gejala, kelainan bawaan koeksistensi nonhepatik, dan variasi anatomis sisa-sisa dari saluran-saluran empedu ekstrahepatik memungkinkan pengelompokan penderita ke dalam beberapa tipe BA.^{20,21}

Tipe Perinatal

Sebagian besar ($\pm 90\%$) kasus atresia bilier adalah tipe perinatal. Pada tipe ini, bayi biasanya mengalami gejala setelah adanya interval bebas ikterus setelah kelahiran. Terjadinya kolestasis pada bayi baru lahir yang sebelumnya tidak mengalami gejala apapun menunjukkan bahwa penyakit tersebut merupakan hasil suatu proses kerusakan saluran empedu pada awal paska kelahiran atau perinatal, yang menyebabkan inflamasi dan fibrosis obstruktif progresif pada lumen saluran empedu. Tipe ini sering disebut sebagai atresia bilier “perinatal” atau “didapat”.^{22,23,24}

Tipe Embrional

Lebih kurang 10–15% penderita BA merupakan tipe embrional, dengan onset ikterus lebih awal, bahkan sering nampak pada saat kelahiran, dan disertai dengan kelainan bawaan nonhepatik.²⁵ Kelompok penderita ini disebut memiliki atresia bilier tipe “embrionik”, “bawaan/kongenital”, atau “fetal”. Sehubungan dengan cedera saluran empedu yang terjadi lebih dini, saluran empedu ekstrahepatik mungkin sudah tidak ada saat lahir.²⁶ Kelainan limpa seperti asplenia, limpa ganda, dan polisplenia dilaporkan terjadi pada 8–12% bayi tersebut, baik dalam bentuk isolasi

atau kombinasi dengan satu atau lebih cacat tambahan dalam suatu varian yang dikenal sebagai sindrom *Biliary Atresia Splenic Malformation* (BASM). Sindrom BASM memiliki risiko kejadian lebih tinggi dengan ibu diabetes, dengan hasil portoenterostomi yang lebih buruk dan kemampuan bebas transplantasi kurang dari dua tahun.^{27,28}

Tipe Kistik (*Cystic Variant*)

Adanya malformasi kistik dekat lokasi obstruksi pada saluran empedu ekstrahepatik, yang disebut varian "*cystic biliary atresia*" umumnya berhubungan dengan drainase empedu yang membaik setelah dilakukan portoenterostomi.²⁹ Dalam beberapa kasus, kista empedu terdeteksi sebelum lahir saat pemeriksaan USG rutin janin. Ikterus dan tinja yang pucat dapat terjadi segera setelah lahir atau disertai interval bebas gejala yang bervariasi. Sebuah kajian yang melibatkan sebuah kelompok besar penderita atresia bilier melaporkan adanya kista empedu pada $\pm 8\%$ penderita. Pada studi tersebut, dilaporkan pula bayi dengan varian kistik gejala muncul lebih awal, tapi keterlambatan dalam melakukan portoenterostomi melampaui usia 70 hari berkaitan dengan kelangsungan hidup jangka panjang dengan hati asli yang lebih buruk. Gambaran anatomi dan perbedaan dalam hasil penanganan varian ini meningkatkan kemungkinan bahwa tipe ini memiliki perbedaan dalam mekanisme penyakit.^{22,30}

Keberadaan bentuk klinis dan variannya merupakan dasar dari argumen bahwa atresia bilier mencakup suatu spektrum fenotipe penyakit. Penerapan teknik molekuler untuk mempelajari kasus-kasus dalam berbagai bentuk klinis dapat memberikan wawasan tentang dasar biologis dari variasi anatomi/klinis yang mungkin berpengaruh terhadap perbedaan protokol penatalaksanaan.³¹

2.5 DIAGNOSIS ATRESIA BILIER

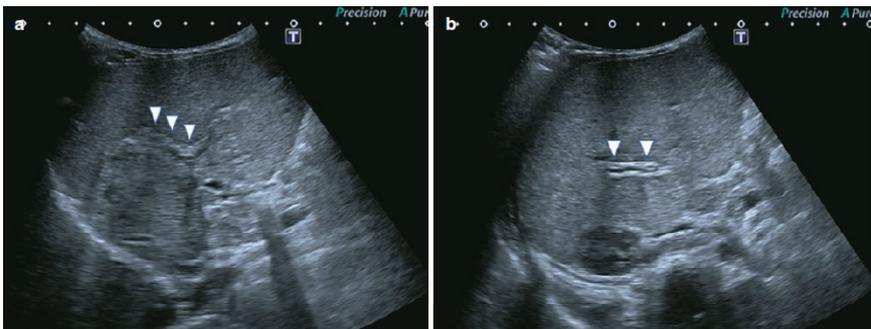
Gambaran klinis BA (ikterus, tinja pucat, dan urine gelap) yang muncul pada atau segera setelah lahir secara umum sama seperti ikterus fisiologis atau kolestasis karena sebab yang lain (misal neonatal hepatitis) yang sering terjadi pada bayi. Ikterus dan tinja warna pucat merupakan tanda yang spesifik dari kelainan ini. Ikterus yang lebih dari 2 minggu, disertai dengan tinja pucat, dan urine yang berwarna gelap.³² Pemeriksaan dari warna spesimen feses segar mungkin berguna untuk membedakan kolestasis (*clay stool*) dengan hiperbilirubin nonkonjugasi (*bright yellow stool*).³³ Sebuah penelitian di Taiwan tentang penggunaan kartu warna tinja memberikan hasil yang bermakna.³⁴ *Clay colored stools* dapat digunakan sebagai alat untuk memprediksi adanya BA.³⁵ Hal tersebut juga didukung sebuah penelitian oleh El Guindi yang menyatakan *clay stool* mempunyai sensitivitas tinggi 92,5% dengan spesifisitas yang rendah 55,6%.³⁶

Sebagian besar bayi dengan BA tidak memiliki gejala utama dalam beberapa minggu pertama kehidupan, sehingga diagnosis sering tertunda. Hal ini menjadi masalah khususnya pada bayi dengan BA tipe perinatal/didapat, karena tinja mungkin masih memiliki sedikit pigmen dalam beberapa minggu pertama kehidupan, sebelum aliran empedu benar-benar tersumbat.^{1,37} Diagnosis dan tindakan bedah yang tertunda berdampak pada prognosis yang buruk. Oleh karena itu, sangat penting bagi para petugas kesehatan memeriksa lebih lanjut warna urine dan kotoran semua bayi dengan ikterus, terlepas dari kondisi kesehatan secara umum atau usianya. Jika didapatkan urine gelap dan tinja yang pucat segera rujuk ke pusat-pusat khusus untuk mendapatkan penanganan lebih lanjut.³⁸ Hingga saat ini belum ada tes skrining khusus yang memuaskan untuk BA, meskipun penggunaan kartu warna tinja (*stool colour chart*) memberikan hasil yang menjanjikan berdasarkan studi yang dilakukan di Taiwan.^{39,40,41}



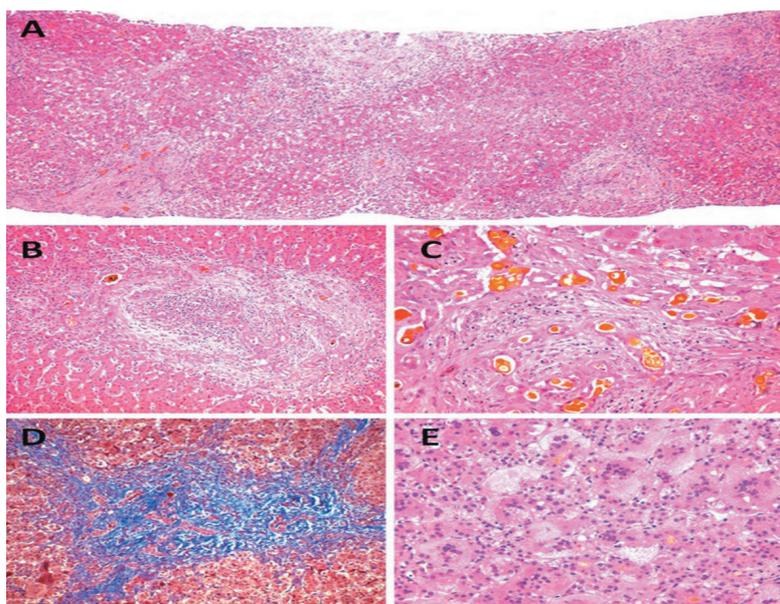
GAMBAR 2.4 Tinja akolik.

Pemeriksaan fisik dan tes laboratorium memberikan sedikit petunjuk pada diagnosis BA. Pemeriksaan laboratorium BA menunjukkan bilirubin konjugasi/*direct* yang meningkat. Selain itu juga terdapat peningkatan *alkaline phosphatase*, *gamma glutamyl transpeptidase*, *aspartate aminotransferase*, *alanine aminotransferase*, dan serologi virus yang terdeteksi.^{18,36} *Gamma glutamyl transpeptidase* dan *alkali transaminase* sering tumpang tindih dengan penyebab lain pada kolestasis neonatal.^{17,36} Analisis awal adalah dengan mengeksklusi diagnosis banding galaktosemia, hepatitis virus, hipotiroid, dan duktus koledokus.³⁶



GAMBAR 2.5 Visualisasi *triangular cord sign* pada USG atresia bilier.¹³

Pemeriksaan ultrasonografi (USG) kandung empedu dilakukan setelah 12 jam puasa, kandung empedu yang mengecil walaupun puasa, hilum hati terlihat *hyperechoic* (gambaran *triangular cord sign*) dan pemanjangan kandung empedu, serta terdapat kista di hilum hati merupakan indikator adanya suatu BA.^{32,42} Jika hasil USG kandung empedu normal, hal tersebut tidak menyingkirkan kemungkinan BA sehingga kolangiografi dan biopsi hati perlu dilakukan. Biopsi hati merupakan pemeriksaan invasif dibandingkan dengan modalitas pemeriksaan lain, tetapi biopsi hati dapat secara langsung memprediksi obstruksi duktus bilier ekstrahepatik lebih dari 90% kasus.⁴³ Pada pemeriksaan histopatologi biopsi hati, jika dilakukan oleh seorang histopatologis yang berpengalaman dapat mengarah pada diagnosis BA hingga 90%.⁴⁴ Sedangkan pada pemeriksaan histopatologi ditemukan proliferasi duktus bilier, infiltrasi *small cell*, fibrosis portal, dan hilangnya fibrosis sinusoid.^{17,18}



GAMBAR 2.6 Gambaran histopatologi khas pada atresia bilier.¹⁷

Gambar di atas menunjukkan A: Pada pembesaran kecil tampak *portal tract* yang sangat melebar, B: *Portal tract* melebar dengan inflamasi ringan, edema, dan proliferasi duktuli yang prominen, beberapa mengandung *bile plug*. C: Proliferasi duktuli dengan *bile plug* yang prominen, D: Fibrosis porta terlihat pada banyak kasus, E: Kolestasis prominen khas pada BA dengan didapatkannya *giant cell transformation* yang merupakan variabel yang bermakna penting.

Kolangiografi dibutuhkan untuk menentukan morfologi dan patensi dari cabang bilier.⁴⁵ *Endoscopic retrograde cholangio pancreatography* (ERCP) bisa digunakan pada neonatus tapi hanya terbatas pada pusat rujukan.^{18,32} Sebuah kolangiogram dapat dilakukan secara perkutaneus dengan endoskopi ERCP atau saat operasi.³⁶ Pemeriksaan ini terbukti efektif dengan *positive* dan *negative predictive value* yang tinggi.⁴⁵ Jika semua pemeriksaan telah dilakukan tetapi belum memastikan adanya suatu BA, maka laparotomi eksploratif dengan kolangiografi intra operatif dapat dilakukan oleh ahli bedah yang berpengalaman.⁴⁶ Sebagian besar penderita mengalami hepatomegali dan splenomegali dengan derajat yang ringan. Asites maupun tanda-tanda kulit penyakit hati kronis (*gatal-gatal*, *xanthelasma*) jarang terdeteksi pada tahap awal penyakit. Hasil pemeriksaan biokimia nonspesifik, seperti kadar transaminase (SGOT/SGPT), *gamma glutamyl transpeptidase* (GGT) dan fosfatase alkali tidak jauh berbeda dengan kolestasis neonatal lain. Koagulopati dapat terjadi pada sebagian penderita dan umumnya respons terhadap pemberian vitamin K intravena.^{47,10} Hasil pemeriksaan USG pada penderita BA biasanya didapatkan kandung empedu yang abnormal dengan dinding tidak beraturan atau bahkan hilang, sedangkan pada bayi yang lebih tua kadang didapatkan gambaran *triangular cord sign*.⁴⁸ Namun, kandung empedu yang normal atau tidak adanya *triangular cord sign* tidak menyingkirkan kemungkinan BA.⁴⁹

Pemeriksaan histopatologi biopsi hati dapat membantu dalam menegakkan diagnosis BA, dan jika dilakukan oleh seorang histopatologis yang berpengalaman dapat mengarah pada diagnosis BA

yang benar hingga 90% kasus.⁵⁰ Temuan histologis yang khas adalah edema saluran porta dengan tanda-tanda inflamasi, proliferasi saluran empedu dan sumbatan empedu (*bile plugs*), tetapi gambaran tersebut kurang jelas pada bayi yang sangat muda. *Scintigraphy* menggunakan bahan radionuklida bilier hanya berguna bila isotop nampak dalam usus, sehingga dipastikan tidak terjadi sumbatan dan menghindari laparotomi.⁵¹ Jika hasil biopsi hati meragukan tetapi tinja tetap pucat, bisa dilakukan pemeriksaan *magnetic resonance cholangiography* (MRCP) atau *endoscopic retrograde cholangiography* (ERCP) untuk menilai patensi saluran empedu.^{52,53,54}

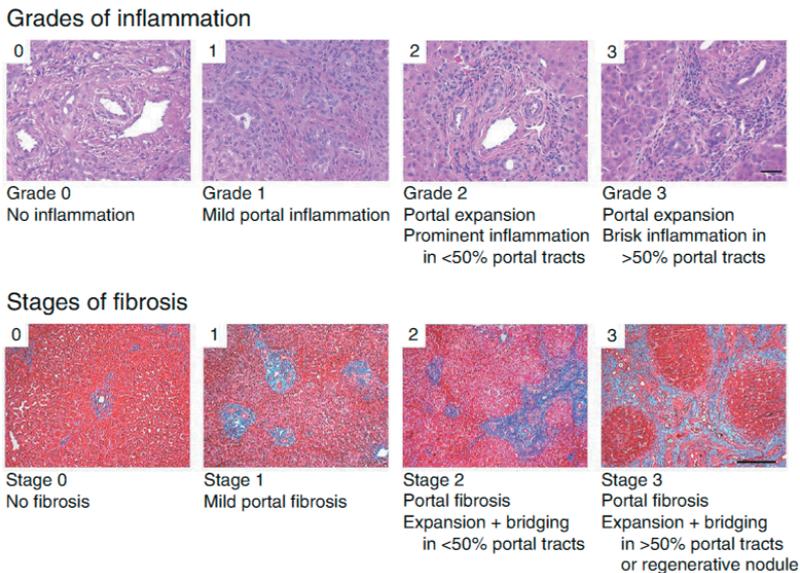
Jika semua pemeriksaan telah dilakukan tetapi belum memberikan informasi yang pasti, diperlukan laparotomi eksploratif dengan kolangiografi intraoperatif oleh ahli bedah yang berpengalaman. Hipoplasia saluran ekstrahepatik yang disebabkan kolestasis intrahepatik dapat ditafsirkan sebagai atretik, sehingga terjadi kesalahan diagnosis.⁵⁵

2.6 TAHAPAN PENYAKIT ATRESIA BILIER

Secara umum, durasi penyakit yang lebih lama mengarah pada perkembangan kerusakan jaringan. Sejalan dengan konsep ini, diagnosis dan intervensi bedah pada bayi lebih muda berkaitan dengan aliran empedu yang membaik setelah portoenterostomi dan hasil jangka panjang yang baik pula.⁵⁶ Namun usia saja bukan merupakan prediktor hasil yang sama pada penderita BA.^{55,57} Hal ini menunjukkan bahwa faktor-faktor lain juga berkontribusi terhadap perjalanan klinis penyakit. Salah satu faktor potensial adalah jenis dan tingkat kerusakan hati saat diagnosis. Bayi dengan peradangan hati yang luas pada saat diagnosis cenderung memiliki hasil klinis yang buruk,⁵⁸ namun penelitian lain meragukan hal tersebut. Dilaporkan hasil yang buruk pada anak-anak dengan fibrosis hati lanjut,^{59,60} atau tidak ada korelasi antara fibrosis dan hasil klinis.³

Dalam satu studi yang meneliti hubungan antara tingkat peradangan/fibrosis dan perjalanan klinis setelah portoenterostomi, didapatkan histologi biopsi hati saat diagnosis didapatkan 30% keradangan, 36% fibrosis, dan 34% lainnya tidak dapat diklasifikasikan. Didapatkan pula hubungan antara kelompok histologis dengan usia saat diagnosis, parameter klinis, atau kelangsungan hidup dua tahun dengan hati asli. Meskipun bayi dengan tanda keradangan memiliki usia lebih muda, namun usia saja tidak bisa memprediksi klasifikasi molekulernya. Beberapa bayi yang lebih muda dari delapan minggu sudah diklasifikasikan ke dalam kelompok fibrosis dan memiliki kelangsungan hidup bebas transplantasi pada dua tahun yang rendah.⁶¹

Moyer dkk. juga melakukan penelitian dan menemukan tahapan proses atresia bilier melalui pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin/eosin dan *trichrome* (Gambar 2.7).



GAMBAR 2.7 Saluran empedu model mencit atresia bilier dengan pewarnaan hematoksilin/eosin dan *trichrome*.⁶¹

Foto saluran empedu dengan pewarnaan hematoksilin/eosin (panel atas) digunakan untuk *grading* pada atresia bilier berdasarkan infiltrasi sel-sel inflamasi (*Grades of inflammation*). Sedangkan pewarnaan *trichrome* (panel bawah) foto berdasarkan tingkat fibrosis (*Stages of fibrosis*).⁶¹

Perbedaan petanda molekuler dan hubungan peradangan dengan usia lebih muda meningkatkan kemungkinan bahwa gambaran ekspresi gen mencerminkan dua tahap penyakit yang berbeda tetapi saling terkait. Tahap pertama umumnya terjadi pada awal patogenesis (umumnya pada usia lebih muda) dengan gambaran peradangan, sedangkan penderita yang telah beralih ke stadium lebih lanjut memberikan gambaran fibrosis (Gambar 7). Jika ini merupakan suatu kontinum biologis, bayi dengan gambaran molekuler peradangan mungkin memiliki respons yang lebih baik terhadap pengobatan antiinflamasi, seperti kortikosteroid. Diperlukan suatu uji klinis dan laboratorium untuk menguji hipotesis ini dan menentukan apakah menyesuaikan tata laksana dengan tahap molekuler penyakit akan meningkatkan respons pengobatan dan kelangsungan hidup jangka panjang dengan hati asli.⁶¹

2.7 TATA LAKSANA DAN PROGNOSIS ATRESIA BILIER

Tata laksana utama BA adalah intervensi bedah yang bertujuan untuk memperbaiki aliran empedu. Berdasarkan lokasi penyumbatannya, terdapat tiga bentuk makroskopik BA, yaitu:

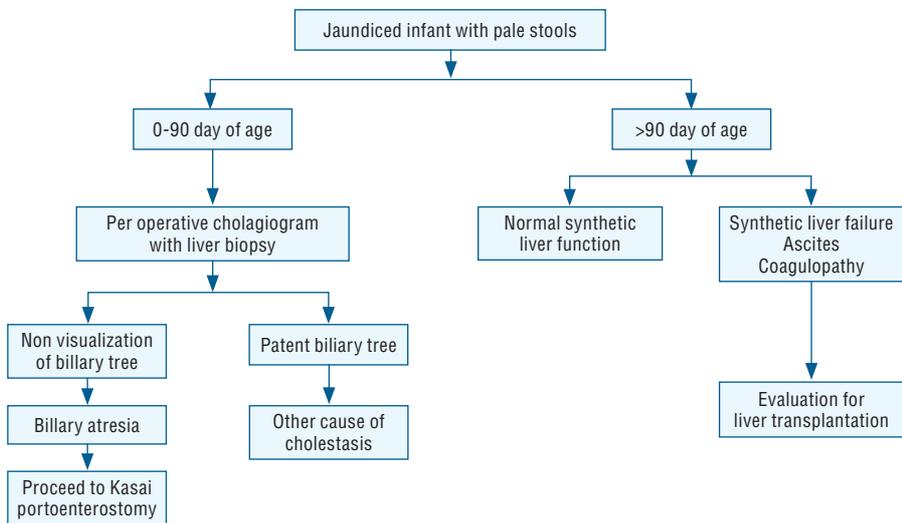
1. Tipe I : Atresia pada bagian distal duktus koledokus
2. Tipe II : Atresia pada duktus hepatikus, tetapi masih ada duktus koledokus dan kandung empedu
3. Tipe III : Atresia pada duktus hepatikus kiri dan kanan, serta kandung empedu

Bentuk yang terbanyak adalah tipe III (85–90% kasus), yang sering disebut sebagai '*uncorrectable*' dan menjadi tantangan pada tindakan bedah rekonstruksi (portoenterostomi). Pada penderita tersebut, jaringan fibrosa di porta hepatis ditranseksi hingga rata dengan hati, kemudian Roux-en-Y loop dari jejunum dianastomosekan sekitar tepi fibrosa dari jaringan yang ditranseksi, dan membentuk portoenterostomi. Pada 5–10% bayi dengan saluran empedu yang masih paten dan berhubungan dengan saluran empedu intrahepatik, anastomosis usus empedu melalui Roux-en-Y biasanya menghasilkan drainase empedu yang memuaskan.⁶² Prediktor preoperatif terbaik dari keberhasilan portoenterostomi adalah usia saat operasi. Hal tersebut menekankan pentingnya rujukan dini ke pusat-pusat khusus. Jika portoenterostomi ini dilakukan oleh ahli bedah yang berpengalaman, aliran empedu yang membaik dengan nilai bilirubin serum normal dapat dicapai di lebih dari 80% anak-anak yang dioperasi sebelum usia 60 hari, tetapi hanya menjadi 20–30% jika operasi terlambat dilakukan.^{62,63} Data dari Jepang menunjukkan tidak ada perbedaan hasil bayi dioperasi pada usia kurang dari 30 hari dengan yang dioperasi di antara 30 sampai 90 hari, dan perbedaan yang signifikan hanya untuk mereka yang dioperasi di lebih dari 90 hari.⁶²

Keberhasilan operasi dinilai dengan munculnya pigmen dalam tinja dan hilangnya ikterus. Jika bilirubin kembali normal, dilaporkan kelangsungan hidup 15 tahun mencapai 90%,^{57,62} dengan kualitas hidup yang baik hingga dasawarsa keempat kehidupannya.⁵⁵ Jika bilirubin tidak berkurang dengan operasi, laju perkembangan sirosis tidak dapat dihambat dan kelangsungan hidup di luar ulang tahun kedua umumnya jarang dicapai. Jika hanya terjadi drainase empedu parsial, perkembangan menjadi penyakit hati kronis tahap akhir mungkin dapat ditunda hingga pubertas atau dewasa muda. Pada akhirnya, 70–80% penderita yang menjalani portoenterostomi Kasai, meskipun operasinya dinilai sukses, masih memerlukan transplantasi hati

atau terjadi kegagalan hati yang progresif dan kematian.^{62,63,64} Pada laporan yang lain, 11% anak dengan koreksi pembedahan BA bebas dari tanda-tanda klinis dan biokimia penyakit hati hingga 10 tahun pengamatan.^{52,63}

Tata laksana BA dengan menggabungkan intervensi bedah dan perawatan jangka panjang. Intervensi bedah dengan prosedur *hepatoportointerostomigical* (HPE) yang bertujuan untuk memperbaiki aliran bilier. Prosedur ini lebih dikenal dengan sebutan Kasai prosedur. Pasien atresia bilier yang melakukan operasi *kasai* pada bulan pertama kehidupan memiliki survival rate 80–90%,^{11,32} atau sebelum umur 3 bulan.⁶⁵



GAMBAR 2.8 Algoritma tata laksana atresia bilier.⁶⁷

Studi di RSUD Dr. Soetomo meneliti perbaikan kadar bilirubin setelah menjalani operasi Kasai. Pada studi tersebut, umur pada saat pengobatan Kasai berkisar antara 59 hingga 238 hari dengan median 152,5 hari. Rata-rata bilirubin total, bilirubin serum langsung sebelum

Kasai adalah $11,03 + 4,57$ dan $8,58 + 3,23$, sedangkan setelah prosedur Kasai masing-masing adalah $12,03 + 5,49$ dan $9,75 + 3,12$. Sebanyak 30% kasus mengalami penurunan bilirubin serum total dalam waktu 7 hari setelah prosedur Kasai dan sebanyak tujuh kasus dengan penurunan bilirubin lebih dari 20%.⁶⁶

Algoritma tata laksana BA di atas telah digunakan sebagai protokol BA pada negara-negara berkembang. Manajemen utama BA sampai saat ini adalah persiapan untuk operasi Kasai apabila BA telah ditegakkan pada bayi usia kurang dari atau di atas 3 bulan namun dengan fungsi hati yang masih baik.⁶⁷ Operasi Kasai bertujuan untuk mempertahankan drainase empedu dari duktul empedu mikroskopis tetap mengalir ke porta hepatis dan mencegah komplikasi penurunan fungsi hati. Akan tetapi 50% dari pasien yang menjalani prosedur kasai akan mendapatkan transplantasi hepar pada usia 2 tahun,⁶⁸ dan sebanyak 67% mengalami penyakit hati kronik karena proses inflamasi yang masih berlanjut.⁶⁵ Hal inilah yang menyebabkan manajemen BA merupakan tata laksana jangka panjang dan masih membutuhkan medikasi obat-obatan setelah operasi Kasai. Pada suatu studi disebutkan bahwa setelah dilakukan transplantasi hepar, didapatkan biopsi histologi tidak normal pada 73% pasien yang masih dalam pengawasan jangka panjang.⁶⁵

2.8 ETIOPATOGENESIS ATRESIA BILIER

Etiologi atresia bilier masih belum diketahui secara pasti, namun pemahaman tentang patogenesisnya mengalami kemajuan pesat. Pada awalnya mekanisme patogenesis yang diyakini adalah bermula dari infeksi virus pada epitel saluran empedu, diikuti proses imunologis dan autoimun sekunder, kemudian berakhir dengan obliterasi saluran empedu.^{69,70} Pandangan tentang patogenesis, diduga melibatkan baik

infeksi virus hepatobilier perinatal primer dan kerusakan sekunder dari saluran empedu yang dimediasi oleh proses autoimun.^{4,71,72}

Pengamatan dan analisis biopsi hati mengidentifikasi lima faktor potensial yang berperan dalam patogenesis BA, yaitu racun/toksin dari lingkungan, gangguan sirkulasi janin, kelainan morfogenesis dari saluran empedu, infeksi virus, dan peradangan.^{3,73}

Berdasarkan studi sisa-sisa saluran empedu yang diambil saat operasi dan spesimen hati postmortem penderita BA menunjukkan bahwa pada kebanyakan kasus berasal dari proses inflamasi disertai sklerosis pada saluran empedu, baik sebelum maupun sesudah terbentuk.⁷⁴ Namun penyebab proses peradangan tersebut masih belum diketahui secara pasti. Diduga bahwa BA merupakan fenotip secara umum dari jalur akhir kerusakan hati neonatal dari beragam penyebab yang terjadi dalam periode antenatal atau 3 bulan pertama kehidupan pada individu yang memiliki kerentanan genetik.^{3,23,26}

Diduga BA bukan merupakan kelainan bawaan, karena hanya terjadi pada salah satu dari kembar identik dan terjadinya BA di antara anggota keluarga yang sama sangat langka. Kecenderungan genetik respons imun yang menyimpang atau mutasi gen yang mengatur morfogenesis saluran empedu diduga juga ikut terlibat dalam terjadinya BA.^{23,70}

Peran toksin atau gangguan sirkulasi perinatal pada patogenesis BA memiliki bukti yang terbatas. Toksin dari lingkungan diduga terlibat dalam terjadinya ikterus dan penyumbatan saluran empedu pada anak domba dan anak sapi di New South Wales, Australia pada tahun 1964 dan 1988,⁷³ tetapi tidak ada agen penyebab yang dapat diidentifikasi. Kelainan sirkulasi prenatal juga dianggap berperan berdasarkan adanya varian anatomi arteri hepatic (hiperplasia/hipertrofi arteri) pada beberapa penderita BA,⁷⁵ namun data yang mendukung mekanisme ini sangat terbatas.

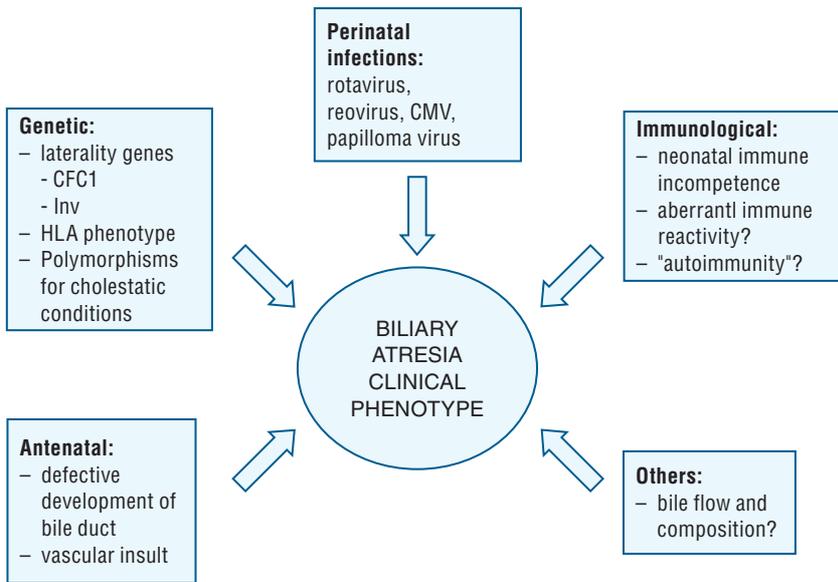
Penyebab terjadinya BA masih belum dapat dijelaskan meskipun gejala sudah dapat diterangkan dengan jelas. Bayi dengan kemungkinan BA muncul dengan kuning yang menetap selama lebih dari 2 minggu setelah lahir disertai tinja warna *acholic* (pucat) dan urine warna pekat.¹⁵ Meskipun beberapa faktor genetik telah diidentifikasi, BA bilier tampaknya memiliki etiologi multifaktor yang masih belum jelas.^{11,15}

Studi sebelumnya menyebutkan bahwa usia ibu saat hamil ($p=0.009$), paritas ($p=0.035$), dan usia gestasi ($p=0.005$) merupakan faktor pre-natal dan post-natal yang dianggap berhubungan dengan kejadian atresia bilier pada 85 bayi dengan atresia bilier di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.⁷⁶

Studi potong lintang dilakukan untuk membandingkan insidensi infeksi CMV pada bayi kolestasis dengan atresia bilier dibandingkan bukan atresia bilier. Studi tersebut dilakukan pada bayi usia 1–6 bulan yang menjalani biopsi hati. Pemeriksaan histopatologi dilakukan dan dilanjutkan dengan pemeriksaan PCR CMV. Sebanyak 37 bayi terlibat dalam penelitian tersebut, terdiri atas 16 bayi dengan atresia bilier dan 21 bayi bukan atresia bilier. Pada studi tersebut didapatkan bahwa terdapat perbedaan berat badan ($p = 0,002$), usia ($p = 0,009$), berat lahir ($p = 0,02$), dan usia gestasi ($p = 0,03$) pada bayi dengan atresia bilier dibandingkan bayi bukan atresia bilier.⁷⁴

Pemahaman yang jelas tentang penyebab yang terkait dengan kerusakan epitel saluran empedu akan memberikan konsep intervensi untuk target terapi yang bertujuan melindungi sistem empedu dari kerusakan yang sedang berlangsung. Atresia bilier bukanlah penyakit yang diturunkan.¹⁵ Sebagian besar kasus (80%) dianggap penyebabnya didapat saat perinatal, dan sebagian kecil bersifat bawaan.⁶⁸ Akan tetapi menurut Mack dkk., genetik berhubungan dengan sindrom BA atau BA dengan anomali lain.⁷⁷ Sedangkan Saito dkk. berpendapat bahwa BA terjadi pada 3 bulan pertama kehidupan yang mengisyaratkan keterlibatan faktor genetik dan ketidakmatangan imunologis yang

ditemui sebagai penyebabnya⁷⁸. Beberapa teori menyatakan penyebab terjadinya BA adalah faktor genetik, toksin, infeksi virus, vaskuler, dan proses autoimunitas.^{17,18,12,77} Studi yang lain juga menyebutkan kejadian BA adalah akibat kegagalan rekanalisasi, morfologi yang rusak, dan iskemia.^{12,15,17,19}



GAMBAR 2.9 Etiologi multifaktor penyebab atresia bilier.²⁶³

Skema di atas menjelaskan bahwa BA merupakan fenotip klinis akhir dari kombinasi beberapa faktor *environment* dan *host pathogenic factors* (defek pada awal morfogenesis atau suplai pembuluh darah embrional, *trigger* akibat toksik atau infeksi, latar belakang imunogenetik dan/atau reaktivitas imun yang menyimpang pada bayi muda).⁷⁹ Secara biologis dapat dijelaskan bahwa infeksi kolangiotropik dapat menjadi *trigger* suatu serangan pada saluran empedu saat respons *adaptive immunity* pada bayi muda masih belum sempurna sehingga proses ini dapat berkembang menjadi “autoimun” *liver injury* yang berlangsung

terus-menerus tanpa henti. Hipotesis ini tidak memperhitungkan bayi kembar yang kadang-kadang diamati atau bahkan kehamilan kembar tiga dengan hanya satu bayi terkena BA.⁷⁹

Mekanisme infeksi virus pertama kali oleh Benjamin Landing dan bukti serologis dari paparan virus disajikan pada penelitian dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR),⁶⁸ namun bukti substantif dalam bentuk isolasi virus langsung atau badan inklusi masih sulit dipahami. Berbagai virus enterik diduga sebagai penyebab yang paling banyak dikutip adalah infeksi reovirus dan cytomegalovirus (CMV).⁸⁰ Patogenesis BA tetap tidak jelas meskipun ada banyak teori tentang penyebabnya.^{15,19} Terlepas dari berbagai teori penyebabnya, akibat proses yang bergulir pada patomekanisme BA adalah sama yaitu terjadinya kolangiopati panduktular oklusif dari kedua saluran empedu intrahepatik dan ekstrahepatik.¹¹

Studi observasional analitik dilakukan pada bayi usia 1–12 bulan di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Pada studi tersebut, pemeriksaan PCR jaringan dari biopsi hati dilakukan untuk menganalisis CMV. Studi tersebut dilakukan pada 30 bayi yang terdiri atas 16 (53%) laki-laki dan 14 (47%) perempuan. Sebanyak 28 bayi memiliki IgG CMV positif dan sebanyak 15 IgM CMV positif ditemukan pada 15 bayi. PCR CMV memberikan hasil positif pada 67% bayi yang mengikuti studi tersebut.⁸¹ Studi lain menyebutkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada kejadian infeksi CMV pada bayi kolestasis yang menderita atresia bilier dibandingkan bukan atresia bilier. Namun demikian, infeksi CMV lebih banyak ditemukan pada bayi kolestasia yang bukan atresia bilier.⁷⁴

Kondisi klinis pada bayi dengan BA umumnya lahir normal dan tidak ada masalah sampai umur 3–6 minggu awal kehidupan. Ketika bayi tampak kuning setelah 2 minggu kehidupan awal bayi, itu bukanlah fisiologis.⁶⁸ Beberapa ciri yaitu hiperbilirubinemia terkonjugasi, feses yang tidak berwarna atau pucat, dan hiperbilirubinuria merupakan

kunci terjadinya BA namun bisa ditemukan atau tidak spesifik. Akan tetapi jika salah satu tanda tersebut ditemukan, maka harus segera dilakukan pemeriksaan untuk menyingkirkan obstruksi mekanis penyebab kuning dengan cepat. Hiperbilirubinemia terkonjugasi bisa disebabkan oleh banyak penyebab, termasuk infeksi *toxoplasmosis*, selain virus rubella, *cytomegalovirus* dan virus herpes simpleks (TORCH), penyakit genetik (*Alagille syndrome*, defisiensi α 1-*antitripsin*, dan fibrosis

TABEL 2.2 Faktor yang berhubungan dengan patogenesis atresia bilier.¹⁷

<p>Imunologi</p> <p>Ekspresi berlebihan molekul adhesi pada epitel bilier</p> <p>Ekspresi HLA I dan II</p> <p>Ekspresi Fas ligand dan peningkatan apoptosis sel epitel duktus bilier</p> <p>Maternal microchimerism</p> <p>Respons Th1 and Th2</p> <p>Respons imun alami (<i>natural killer cells and Toll-like receptors</i>)</p>
<p>Virus</p> <p>Reovirus tipe 3</p> <p>Rotavirus</p> <p>Cytomegalovirus</p> <p>Papillomavirus</p> <p>Lainnya</p>
<p>Genetik/metabolik</p> <p>CFC1 <i>gene</i>/CRYPTIC protein</p> <p>VEGF <i>gene</i></p> <p>Jagged-1/<i>Notch signalling</i></p> <p>Inversin gene (inv)</p> <p>α1-Antitrypsin deficiency</p>
<p>Vascular</p> <p>Hipertrofi medial cabang arteri hepatic yang ditemukan pada pemeriksaan histopatologi dan pemeriksaan <i>imaging</i></p>
<p><i>Environmental</i>/lainnya</p> <p>Penggunaan obat saat hamil (amphetamines, alkohol)</p> <p>Phytotoxins, mycotoxins</p> <p>Industrial toxins</p> <p>Diabetes Mellitus gestasional, umur ibu saat hamil</p>

kistik), penyakit metabolik (*tyrosinemia*, galaktosemia, hipotiroid, dan *inborn error of bile acid metabolism*), obstruksi kista koleduktus, dan perforasi spontan duktus bilier.

Atresia bilier dianggap sebagai suatu penyakit yang kompleks karena interaksi yang rumit antara faktor lingkungan dan predisposisi genetik.⁸² Atresia bilier dianggap sebagai kelainan kongenital karena mewakili perkembangan abnormal dari suatu sistem organ. Pada tahun 2010, Garcia-Barcelo dkk., melakukan studi yang berhubungan dengan genom dan berhasil mengidentifikasi dengan kuat hubungan antara lokus 10q24 dengan BA.^{83,77} Di samping itu, Leyva-Vega dkk., menjelaskan terdapat kerentanan penyakit yang potensial di kromosom 2q37. Salah satu pasien diketahui mengalami delesi pada kromosom tersebut termasuk gen 30, namun ayah pasien dalam studi tersebut memiliki delesi yang sama dan tidak memiliki penyakit hati sehingga masih menunjukkan kompleksitas penyakit ini.⁸⁴ Aspek genetik lain dari BA adalah reaksi peradangan yang terjadi karena infeksi virus atau faktor lingkungan. Penelitian Xiao dkk., telah menunjukkan peningkatan regulasi miRNA miR200-b pada pasien dengan BA. Atresia bilier dapat muncul bersamaan dengan anomali kongenital lain atau sebagai bagian dari sindrom. Sindrom genetik yang telah dikaitkan dengan BA di antaranya adalah *Mitchell-Riley syndrome*, *cat-eye syndrome*, *Zimmermann-Laband syndrome*, dan *Fanconi anemia complementation group Q*.⁸⁵

Sistem saluran empedu menerima suplai darah secara eksklusif dari arteri hepatic dan mungkin terjadi penurunan aliran darah sehingga menyebabkan nekrosis iskemik dan obliterasi fibrosa pada saluran empedu berakibat oleh adanya anomali pada vaskuler utama sistem bilier akan menjadi salah satu penyebab terjadinya atresia bilier.⁸⁶ Selain itu, terdapat cabang arteri hepatica yang berliku-liku yang mengalami hiperplastik dan hipertropik di saluran ekstrahepatik dan intrahepatik pada BA.¹² Dos Santos dkk., melaporkan adanya hipertropi

arteri hepatic yang signifikan pada portoenterostomi bayi dengan BA dibandingkan dengan bayi tanpa penyakit hati.⁸⁷

Faktor lingkungan yang memengaruhi kejadian BA dapat dilihat dari kejadian wabah BA pada anak domba dan anak sapi di New South Wales, Australia. Laporan yang didapatkan adalah hewan yang hamil tersebut mengonsumsi tanaman yang mengandung toksin.⁸⁸ Selaras dengan kejadian tersebut Lorent dkk., menggunakan tes sekresi bilier pada ikan zebra untuk mengisolasi isoflavoid-biliatreson, merupakan senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan selektif pada saluran bilier ekstrahepatik.⁸⁹

Toksin juga menyebabkan hilangnya silia pada kolangiosit ekstrahepatik dan gangguan polaritas sel dan lapisan integrasi lapisan tunggal pada spheroid kolangiosit.⁹⁰ Hal ini menyebabkan kerusakan lapisan tunggal kolangiosit dan peningkatan permeabilitas pada saluran empedu ekstrahepatik dan menyebabkan gangguan dan fibrosis subepitel pada saluran bilier ekstrahepatik.¹²

2.9 MORFOGENESIS ABNORMAL (FAKTOR GENETIK) PADA ATRESIA BILIER

Atresia bilier tipe embrional diyakini disebabkan oleh gangguan morfogenesis saluran empedu. Pada sebagian (10–20%) penderita BA didapatkan memiliki anomali bawaan lain, di antaranya kelainan limpa (asplenia, polisplenia), situs inversus total atau sebagian, posisi hati di tengah, malrotasi usus, atresia vena cava inferior, vena porta preduodenal dan cacat jantung bawaan. Kelompok tersebut masuk dalam kelompok dengan etiologi terpisah yang disebut sindrom BASM dan merupakan akibat gangguan embriogenesis.⁹¹

Malformasi *ductal plate* yang terjadi pada beberapa penderita BA menunjukkan keterlibatan determinasi kelainan sel dalam perkembangan saluran empedu pada patogenesis atresia bilier. *Ductal*

plate adalah struktur tubular dua lapis dikelilingi oleh mesenkim tebal yang terbentuk dekat vena porta antara 11 dan 13 minggu kehamilan. *Ductal plate* menghilang secara bertahap, kecuali untuk area di mana terbentuk lumen dan selanjutnya membentuk saluran empedu intrahepatik. Menetapnya *Ductal plate* postnatal pada bayi dengan atresia bilier meningkatkan kemungkinan yang mendukung kelainan mesenkimal dan remodeling saluran bilier yang tidak tepat bisa menjadi faktor patogen penting pada tahap awal penyakit. Meskipun kelainan anatomi tersebut dipercaya hanya pada bayi atresia bilier dengan tipe embrional, namun analisis morfologi saluran atresia bilier portal baru-baru ini pada 8 bayi dengan tipe perinatal dan enam dengan BASM didapatkan malformasi *ductal plate* pada 10% dari saluran porta, tanpa kecenderungan pada salah satu bentuk klinis dari penyakit.⁹²

Dua studi melaporkan adanya *microchimerism* ibu pada anak-anak dengan BA. Hayashida dkk., menemukan kromosom sel XX tiga kali lebih banyak pada laki-laki dengan BA dibandingkan kontrol. Didapatkan *microchimerism* ibu pada penderita laki-laki maupun wanita dengan BA, hal tersebut ditunjukkan dengan adanya *human leukocyte antigen* (HLA) ibu.⁹³ *Microchimerism* ibu diduga juga menjadi faktor penyebab potensial dari BA karena sel-sel ibu bisa menimbulkan respons imun yang sama dengan penyakit *graft-versus host*.^{94,95}

Mutasi resesif insersional daerah proksimal kromosom 4 mencit atau delesi lengkap gen inversi (*inv*) pada mencit mengarah kepada terjadinya anomali sistem hepatobilier. Namun tidak ditemukan mutasi yang konsisten gen *inv* pada penderita BA termasuk dengan BASM, hal tersebut menunjukkan bahwa gen *inv* tidak terlibat dalam kasus BA tipe embrional.⁹⁶ Gen *CFC1* yang mengkode protein CRYPTIC juga diselidiki pada BA. Meskipun fungsi yang tepat dari protein CRYPTIC tidak diketahui, namun dipercaya bertindak sebagai kofaktor dalam jalur nodal yang menentukan sumbu kanan kiri perkembangan. Mutasi heterozigot gen *CFC1* didapatkan pada 9 dari 144 penderita dengan

kelainan *laterality* (penentuan kiri-kanan embriogenesis organ visceral) sporadis atau familial,⁹¹ termasuk satu dengan BASM. Jacquemin dkk., mendapatkan mutasi gen heterozigot dalam dua bersaudara dengan cacat *laterality* yang diwariskan secara maternal, salah satunya dengan BA. Studi terakhir menemukan mutasi genetik ekson 5 gen CFC1 yang diikuti substitusi asam amino Ala145Thr, ditemukan pada 5 dari 10 bayi dengan BASM.²⁷ Konsisten dengan pengamatan di atas, ekspresi berlebihan atau inaktivasi beberapa gen lain pada mencit telah terbukti dapat mengganggu embriogenesis normal saluran empedu ekstrahepatik, berakibat hilangnya segmen anatomis (misalnya, kandung empedu dan duktus sistikus) tanpa memengaruhi pertumbuhan menjadi dewasa (Tabel 2).⁹⁷

TABEL 2.3 Konsekuensi morfologis mutasi gen-gen pengatur morfogenesis saluran empedu pada mencit.⁹⁷

Protein	IHBD	EHBD	Kandung Empedu
Jagged Notch	Abnormal	Tidak terdampak	Tidak terdampak
Inversi	Normal	Atresia	Normal
Hes1	Tidak terdampak	Hipoplasia	Agenesis
HNF6	Malformasi “ductal plate” dan kista bilier intrahepatik	Abnormal	Agenesis
HNF1 _β	Hilangnya IHBD kecil dan displasia IHBD besar	Konstriksi	Epitel abnormal dan duktus sistikus dilatasi
Foxf1	Normal	Tidak terdampak	Kecil atau tidak ada; tidak ada sel epitel
Foxmlb	Agenesis	Normal	Tidak terdefinisi
Foxal/Foxa2	Hiperplasia duktus biliaris	Tidak terdefinisi	Tidak terdefinisi
Sox17	Normal	Pankreas ektopik	Tidak ada
Lgr4	Normal	Normal	Hipoplasia
Pdx1	Normal	PBG tidak ada	Tidak terdefinisi

Tabel di atas menunjukkan berbagai gen yang terlibat dalam morfogenesis saluran empedu pada mencit dan konsekuensinya bila terjadi mutasi di antara gen-gen tersebut. Konsekuensi tersebut dapat terjadi pada semua segmen saluran empedu, baik IHBD, EHBD, maupun kandung empedu.⁹⁷

2.10 INFEKSI VIRUS PADA ATRESIA BILIER

Infeksi virus sebagai penyebab atresia bilier pertama kali dijelaskan oleh Landing beberapa dekade yang lalu, bahwa fenotipe atresia bilier berasal dari paparan virus yang mungkin menghasilkan sebuah kontinum dari kolestasis intrahepatik neonatal dan kista duktus koledokus.⁹⁸ Sejak itu, beberapa virus diduga terlibat dalam atresia bilier, baik dari deteksi langsung jaringan hati dan sisa-sisa empedu maupun petanda serologis. Virus-virus tersebut meliputi Cytomegalovirus, Human Papilloma Virus, Virus Herpes 6, Virus Epstein-Barr, Reovirus, dan Rotavirus.^{72,99,100}

Dukungan pada etiologi virus juga berdasar pada kemampuan virus untuk menginduksi primer pada janin mencit intra-uterin yang mengganggu pembentukan saluran empedu (misalnya, reovirus) atau memicu terjadinya penyumbatan saluran empedu ekstrahepatik melalui proses inflamasi (sebagai contoh: Rotavirus). Model hewan tersebut juga memberikan wawasan mengapa sulit untuk mengisolasi virus dari jaringan yang terkena. Sebagai contoh, dalam percobaan atresia bilier yang diinduksi Rotavirus, teknik amplifikasi yang sangat sensitif bahkan gagal untuk mengidentifikasi virus setelah saluran empedu tersumbat.^{23,101} Dengan demikian, di masa depan dapat dilakukan studi untuk deteksi virus menggunakan teknologi mutakhir yang menghasilkan bukti tidak langsung adanya infeksi virus, misalnya petanda molekuler suatu respons imun terhadap infeksi virus pada anak-anak dengan atresia bilier.^{58,102}

Cytomegalovirus (CMV) dan Atresia Bilier

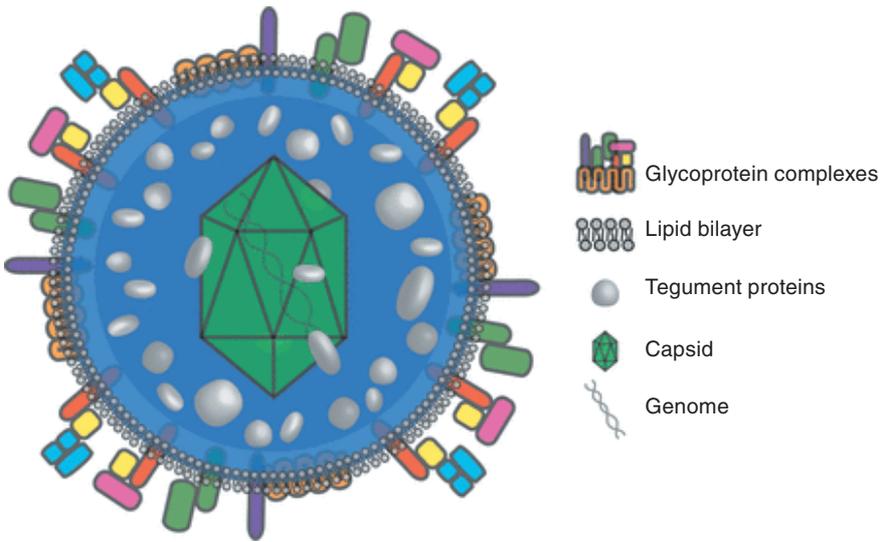
CMV atau disebut sebagai *human cytomegalovirus* dan *human herpes virus-5* merupakan virus *double-stranded (ds)DNA* yang berasal dari famili *herpesviridae*. Infeksi CMV pada bayi yang baru lahir atau individu yang memiliki sistem imun yang lemah dapat menimbulkan dampak yang berat, meskipun bersifat asimtomatik pada dewasa yang sehat. Virus CMV dapat ditemukan pada beberapa lokasi, seperti darah, urine, saliva, semen, dan ASI. Beberapa gejala dan tanda infeksi CMV kongenital, antara lain: ikterus, gangguan pendengaran, *petechiae*, kalsifikasi periventrikuler, gangguan penglihatan, mikrosefali, kejang, dan gangguan pada perkembangan motorik.¹⁶

Studi pada hewan coba mendukung hipotesis bahwa adanya inflamasi lokal dan aktivasi sistem imun seluler yang diperantarai oleh sel Th1 berkontribusi terhadap kerusakan saluran bilier.¹⁰³ CMV merupakan virus yang paling besar dan kompleks dari anggota famili *Betaherpesviridae*, sub famili *Herpesviridae*. CMV merupakan patogen yang tersebar luas yang dapat menginfeksi dari bayi hingga dewasa. Virus ini dapat membentuk infeksi seumur hidup dengan beberapa sel menjadi infeksi laten, suatu keadaan dimana virus terbaring dorman didalam sel, dan terdapat penularan yang intermiten dari virion yang infeksius. IgG CMV pada serum, ditransfer melalui plasenta ibu, akan menghilang secara berangsur-angsur selama 2 tahun. IgM CMV positif pada plasma mengindikasikan bahwa pasien baru saja terinfeksi oleh virus.^{104,105}

Cytomegalovirus (CMV) adalah virus DNA untai ganda yang mampu menginfeksi epitel saluran empedu dan bukti serologis infeksi telah terlihat pada 30–40% bayi dengan atresia bilier secara seri dari Swedia,¹⁰⁶ Brazil,¹⁰⁷ dan Cina.^{85,108}

Virion CMV mempunyai struktur herpesvirus prototipikal dan siklus replikasinya mempunyai kaskade ekspresi gen yang terkontrol dengan baik. Virion CMV mempunyai capsid protein ikosahedral

yang mengandung 235 kb DNA untai ganda. Capsid dikelilingi oleh tegumen protein dan lapisan luar amplop lemak. Virion masuk ke dalam sel melalui fusi membran, melibatkan membran sel terluar dan glikoprotein pada amplop virion. Begitu terjadi fusi antara dua membran terjadi, capsid protein yang mengandung DNA dan protein tegumen dilepaskan ke dalam sel.¹⁰⁵



GAMBAR 2.10 Skema Struktur CMV.¹⁰⁹

Virion CMV secara struktural dibagi menjadi 3 regio capsid, tegumen, dan amplop. Struktur yang paling dalam, capsid, merupakan struktur ikosahedral yang mengandung 12 penton, 150 keson, dan 320 tripleks. Komponen protein pada capsid termasuk minimal 5 protein, UL86 (protein capsid utama), UL48-49 (protein capsid terkecil), UL85 (protein capsid minor), UL46 (minor capsid binding protein), dan UL80 (*assembly protein*). Melalui interaksi protein, dan aktivitas scaffolding activity of the uncleaved UL80, protein-protein ini berkumpul menjadi struktur ikosahedral yang bekerja sebagai unit panjang DNA virus.^{104,105}

Protein Tegumen virion dideskripsikan sebagai pelapis amorfik capsid yang mengatur hubungan antara kapsid dan envelope virion. Beberapa protein tegumen diekspresikan hanya di sitoplasma (ppUL32, pp150 or ppUL99, pp28) atau di nukleus (ppUL69) selama siklus replikasi CMV. Tegumen tampak dibentuk oleh protein tambahan sekuensial, pertama pada nukleus, lalu pada sitoplasma. Beberapa protein tegumen lain diekspresikan pada nukleus sel saat awal setelah infeksi tetapi pada akhir infeksi secara predominan terlokalisir pada sitoplasma. Hal tersebut yang membuat belum jelas apakah protein tegumen berhubungan dengan capsid pada nukleus atau pada kompartemen sitoplasmik. Protein tegumen yang telah menunjukkan dapat meregulasi ekspresi gen virus atau memodifikasi respons sel host terhadap infeksi CMV termasuk ppUL82 (pp71), ppUL84, ppUL47, ppUL69, ppUL26, dan ppUL83 (pp65).^{104,105}

Salah satu target terapi di masa depan terapi antivirus adalah protein CMV yang terlokalisir pada tegumen, seperti yang telah disebutkan, tegumen pada CMV terletak antara lapisan lipid luar dan protein ikosahedral protein, yang mengandung genom DNA untai ganda virus. Virus masuk ke dalam sel melalui fusi yang melibatkan membran luar sel dan membran lipid virion. Masuknya protein tegumen, sama seperti protein capsid yang mengandung DNA terjadi setelah fusi 2 membran ini. Setelah dilepaskan ke dalam sitoplasma, protein tegumen menjadi aktif secara fungsional, di mana mereka memainkan peran penting pada semua tahap siklus hidup virus, termasuk masuknya virus, ekspresi gen, penghindaran dari sistem imun, *assembly*, dan *egress*. Terdapat beberapa protein tegumen yang menjadi perhatian karena mereka memiliki peran dalam replikasi CMV, termasuk pp65, pp71, pp150, dan pp28.^{104,105}

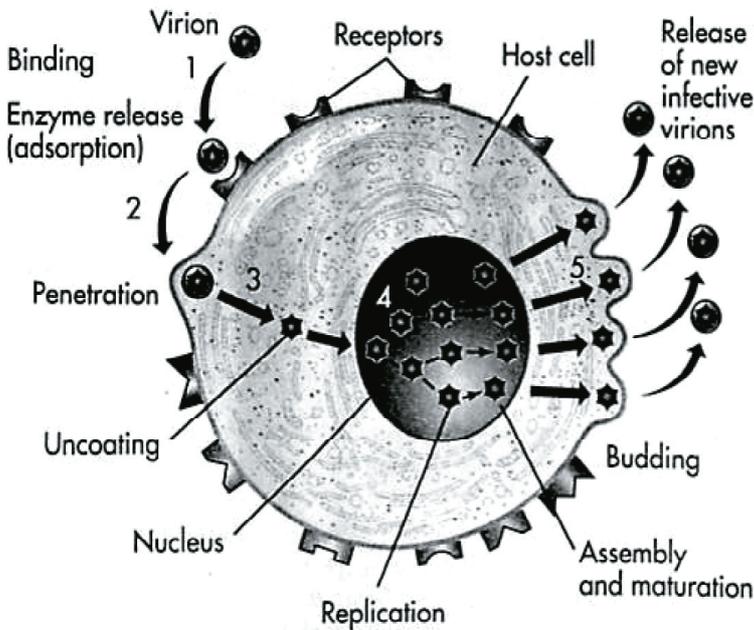
Pp65 merupakan salah satu protein tegumen yang paling banyak, dan konstituen utama dari partikel virus ekstraselular. Namun pp65 tidak begitu penting dalam hal produksi partikel infeksius virus baru

yang dibuktikan pada *strain* yang kurang gen pp65 yang tetap dapat mereplikasi pada kultur. Pp65 merupakan protein tegumen utama yang bertanggung jawab dalam modulasi/penghindaran respons imun selama infeksi. Pp65 terlibat dalam melawan respons imun baik *innate* maupun adaptif selama infeksi CMV. Peran pp65 dalam penghindaran sistem imun, sebagian besar disebabkan oleh penargetan baik humoral maupun seluler, sebagai target antigen dominan limfosit T sitotoksik. Telah ditunjukkan bahwa pp65 tidak hanya mencegah protein dikenali oleh komponen sistem imun, tetapi juga menghambat sintesis beberapa komponen yang terlibat pada respons imun host. Salah satu cara di mana pp65 melawan imunitas adaptif adalah melalui aktivitas enzim kinase. Telah ditunjukkan bahwa pp65 memediasi fosforilasi viral *immediate-early* protein yang menghalangi presentasi mereka terhadap molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas I. Aktivitas kinase pp65 juga terlibat dalam penyebab degradasi rantai alfa pada *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II, HLA-DR melalui akumulasi molekul HLA kelas II pada lisosom. Lebih jauh, beberapa studi telah memberikan bukti bahwa pp65 terlibat dalam memediasi penurunan ekspresi molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II.^{104,105}

Protein tegumen pp71 penting pada efisiensi replikasi virus. Mekanisme yang diduga untuk bagaimana pp71 mengaktifkan ekspresi gen virus adalah dengan menetralkan efek protein selular Daxx, yang mana direkrut pada promotor oleh faktor transkripsi yang berikatan dengan DNA, menghasilkan represi transkripsi. Sebagai tambahan, telah ditunjukkan bahwa pp71 meningkatkan infektivitas genom DNA virus ketika ditransfer pada sel kultur dan bipp71 juga diimplikasikan pada penghindaran imunitas, mirip dengan pp65 dengan mengganggu ekspresi mayor permukaan sel dari komponen respons imun.^{104,105}

Pp150 dan pp28 sangat imunogenik dan memainkan peran dalam perakitan dan keluarnya partikel virus. Kedua tegumen protein ini memiliki peran yang mirip, tetapi memiliki fungsi yang berbeda. Pp150

merupakan tegumen protein terbanyak setelah pp65, penting dalam masuknya nukleokapsid menjadi partikel virus. Pp150 penting dalam menjaga stabilitas sitoplasma kapsid dan mengarahkan pergerakan mereka. Pp50 juga memainkan peran dalam reorganisasi kompartemen sitoplasma selama perakitan virion.^{104,105}



GAMBAR 2.11 Morfologi CMV.¹⁰⁴

CMV memasuki sel dengan cara terikat pada reseptor yang ada di permukaan sel inang, kemudian menembus membran sel, masuk ke dalam vakuole di sitoplasma, lalu selubung virus terlepas, dan nukleokapsid cepat menuju ke nukleus sel inang. Dalam waktu cepat setelah itu, ekspresi gen *immediate early* (IE) spesifik RNA (*ribonucleic acid*) atau transkrip gen alfa (α) dapat dijumpai tanpa ada sintesis protein virus de novo atau replikasi DNA virus. Ekspresi protein ini adalah esensial untuk ekspresi gen virus berikutnya yaitu gen *early*

atau gen β yang menunjukkan transkripsi kedua dari RNA. CMV tidak menghentikan sintesis protein inang, bahkan pada awalnya meningkatkan sintesis protein inang. Hal ini menunjukkan bahwa replikasi dan perakitan CMV, tergantung dari beberapa enzim inang.¹¹⁰

Lokasi hidup virus pada infeksi CMV yang berjalan laten sukar diketahui. CMV dapat hidup di dalam bermacam sel seperti sel epitel, endotel, fibroblas, leukosit polimorfonukleus, makrofag yang berasal dari monosit, sel dendritik, limfosit T (CD4+, CD8+), limfosit B, sel progenitor granulosit-monosit, dan lain-lain. Dengan demikian, berarti CMV menyebabkan infeksi sistemik dan menyerang banyak macam organ antara lain kelenjar ludah, tenggorokan, paru, saluran cerna, hati, kantong empedu, limpa, pankreas, ginjal, adrenal, otak atau sistem saraf pusat. Virus dapat ditemukan dalam saliva, air mata, darah, urine, semen, sekret vagina, air susu ibu, cairan amnion, dan lain-lain cairan tubuh.^{111,112}

Transmisi Penularan

Penularan infeksi CMV terjadi melalui beberapa cara yaitu intra uterin, perinatal, postnatal. Infeksi kongenital terjadi transplasental dan menyebabkan infeksi asimtomatik atau tidak asimptomatik pada neonatus, kemungkinan penularan pada fetus dan gejala yang simptomatik terjadi paling banyak selama infeksi CMV maternal primer. Diperkirakan 1–4 dari infeksi CMV ibu dengan seronegatif akan terinfeksi selama kehamilan dan 30–40% dari wanita yang terinfeksi akan menularkan pada fetus yang dikandung. Infeksi maternal yang selain primer dapat juga menularkan kepada fetus. Infeksi ini juga dapat terjadi pada wanita dengan seropositif dengan *strain* virus yang baru. Saat ini diperkirakan 10–30% dari wanita akan kembali terinfeksi dan 1–3% akan menularkan pada fetus.¹¹³ Keadaan laten harus dibedakan dengan infeksi persisten. Virus dalam keadaan laten

tidak memproduksi virion yang infeksius, sedangkan pada infeksi persisten virus masih memproduksi virion yang infeksius, namun dalam jumlah yang sedikit. Kadangkala kedua keadaan tersebut dapat terjadi simultan pada sel yang berbeda. Pada umumnya infeksi persisten adalah asimtomatik. Menurut *Zani dkk.*, waktu terjadinya infeksi CMV pada bayi masih belum diketahui, karena pada penelitian tersebut tidak ditemukan serologi ibu yang dapat memastikan terjadinya penularan virus, hanya komponen inflamasi CMV yang signifikan pada biopsi liver. Fibrosis seringkali merupakan hasil akhir dari respons inflamasi dan penelitian tersebut menunjukkan peningkatan skor fibrosis yang signifikan pada kelompok CMV.⁸⁰ Hal tersebut mirip dengan berbagai model murine atresia bilier dengan berbagai virus hepatotropik (tidak menggunakan CMV) yang dilakukan inokulasi postnatal awal yang menyebabkan kolangiopati dan cedera bilier structural.^{108,114} Hal ini berbeda dari sindrom infeksi CMV kongenital yang jauh lebih umum (1–2% dari semua kelahiran hidup) karena tidak memiliki manifestasi ekstrahepatik yang terlihat, meskipun pada bayi seperti itu hepatosplenomegali dan ikterus sering terjadi.¹¹⁵ Fisher dkk., melaporkan bahwa dua bayi yang telah diobati dengan gansiklovir tetapi hanya satu yang merespons sehingga mengakibatkan penyakit hati kronis terkompensasi.¹⁰⁶ Pada penelitian oleh Wang dkk., menyatakan bahwa status kekebalan tubuh, respons lokal terhadap inflamasi dan sel mediasi Th1 yang berkontribusi pada kerusakan hati yang disebabkan oleh infeksi CMV perinatal. Pada kelinci percobaan terjadinya kerusakan hepatobilier yang terkait dengan infeksi CMV dan memverifikasi tropisme bilier gpCMV dan kemampuannya untuk melukai area portal dan memicu peradangan pada epitel saluran empedu.¹¹⁶ Penelitian yang sama dilakukan oleh Yi Xu tahun 2012 di Cina untuk mengetahui angka infeksi virus pada DNA jaringan hati pasien dengan AB dan mengetahui efek dari infeksi CMV perinatal pada AB dari biopsi hati pada 85 bayi yang dilakukan operasi kasai.

Penelitian ini menunjukkan terdapat 51 DNA CMV dari 85 pasien dan menyimpulkan infeksi perinatal HCMV merupakan salah satu dari penyebab penting terjadinya AB di Cina.¹⁰⁸

Sebuah penelitian menunjukkan hubungan antara AB dengan infeksi CMV yang memiliki peran pada patogenesis dan perjalanan AB ekstrahepatik. Infeksi CMV persisten yang terdeteksi pada darah sebesar 14 (42%) dan 8 (33,9%) nya memiliki IgM CMV positif (+). Tidak terdapat infeksi seperti Toxoplasma, Rubella, atau Herpes simpleks yang terdeteksi begitu halnya dengan PCR untuk mendeteksi EBV, HBsAg, dan anti-HCV.¹¹⁷ Zwick CZ dkk., melakukan penelitian pada 74 pasien dengan penyakit hepatobilier antara tahun 2000–2011 menunjukkan bahwa 39 (52%) AB dan 35 pasien bukan AB. Sebanyak 21 (78%) pasien dengan AB menunjukkan hasil IgM/IgG CMV positif.¹¹⁸ Di Srilangka terdapat 3 kasus AB yang dilaporkan berdasarkan hasil biopsi hati menunjukkan hasil positif pada pemeriksaan PCR DNA CMV. Infeksi CMV seharusnya dipertimbangkan sebagai penyebab potensial terjadinya AB ekstrahepatik dengan prognosis yang buruk setelah operasi kasai.¹¹⁹ Masih diperlukan penelitian multicenter prospektif yang lebih besar dengan kontrol yang tepat untuk bisa dilakukan pemeriksaan aspek hubungan antara infeksi CMV pada BA.

Respons Imun pada Infeksi CMV

Riwayat infeksi CMV sangat kompleks, setelah infeksi primer, virus diekskresi melalui beberapa tempat, ekskresi menetap beberapa minggu, bulan, bahkan tahun sebelum virus hidup laten. *Episode* infeksi ulang sering terjadi, karena reaktivasi dari keadaan laten dan terjadi pelepasan virus lagi sampai bertahun-tahun. Infeksi ulang juga dapat terjadi eksogen dengan *strain* lain dari CMV. Infeksi CMV dapat terjadi setiap saat dan menetap sepanjang hidup. “Sekali terinfeksi, tetap terinfeksi”, virus hidup *dormant* dalam sel inang tanpa menimbulkan keluhan atau hanya keluhan ringan seperti *common cold*. Namun, infeksi

yang bersifat ringan ini bukan berarti diam dalam sepanjang kehidupan individu. Reaktivasi dapat terjadi berbulan-bulan atau bertahun-tahun setelah infeksi primer, dan sering terjadi reinfeksi endogen, karena ada replikasi virus. Reaktivasi, replikasi, dan reinfeksi umum terjadi secara intermiten, meskipun tanpa menimbulkan keluhan atau kerusakan jaringan replikasi DNA virus dan pembentukan kapsid terjadi di dalam nukleus sel inang. Sel-sel terinfeksi CMV dapat berfusi satu dengan yang lain, membentuk satu sel besar dengan nukleus yang banyak. *Endothelial giant cells (multinucleated cells)* dapat dijumpai dalam sirkulasi selama infeksi CMV menyebar. Sel berinti ganda yang membesar ini sangat berarti untuk menunjukkan replikasi virus, yaitu apabila mengandung inklusi intranukleus berukuran besar seperti "mata burung hantu (*owl eye*).¹²⁰

Respons imun terhadap infeksi CMV sama seperti terhadap virus pada umumnya, bersifat kompleks yang meliputi baik faktor atau komponen yang berperan dalam respons imun seluler maupun humoral. Kontrol yang cepat, segera pada infeksi akut dilakukan oleh sistem imun yang diperantarai sel yaitu sel NK (*natural killer*), sel T CD8+ dan dengan bantuan sel T CD4+. Sel NK, anggota limfosit nonT-nonB yang beredar dalam sirkulasi darah dan jaringan merupakan komponen nonspesifik dari sistem imun bawaan akan mengenal sel inang yang terinfeksi virus, kemudian menghancurkan sel tersebut dengan cara lisis proteolitik. Pada awal infeksi akut, dalam respons imun spesifik, antigen virus diproses oleh makrofag *antigen presenting cells (APC)*, dipresentasikan ke sel limfosit T CD4+ (*T helper*) yang memproduksi sitokin dan memicu proliferasi klon tunggal sel T sitotoksik atau sitolitik (CD8+) yang tersensitasi. Sel T CD8+ yang teraktivasi kemudian secara spesifik akan menghancurkan sel inang yang mengekspresikan antigen virus yang berikatan dengan *major histocompatibility complex (MHC)* atau *human leucocyte antigen (HLA)* kelas I di permukaan sel. MHC atau HLA kelas I dijumpai pada hampir semua sel berinti. Respons imun

ini ditargetkan terhadap bermacam antigen seperti protein IE1, IE2, gB, dan pp65. Sel T-CD4+ spesifik juga memegang peran penting di dalam mengontrol infeksi virus dengan cara melepaskan *interferon* γ (IFN- γ) yang kemudian mengaktifkan makrofag sebagai fagosit. Imunitas yang diperantarai sel ini memegang peran utama untuk menekan aktivitas virus yang menetap secara laten.^{111,112}

Respons imun humoral terbentuk karena fragmen antigen yang berikatan dengan molekul MHC kelas II dipresentasikan oleh APC kepada limfosit T-CD4+. Produksi sitokin terpacu untuk mengaktifkan sel B, kemudian sel B berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi atau imunoglobulin. IgM muncul pertama kali, setelah itu dengan mutasi somatik yang terjadi pada limfosit B yang terstimulasi antigen, maka akan terjadi *isotype switching* dan terbentuk *isotype immunoglobulin* yang lain seperti IgG, IgA, IgE, IgD. Antibodi yang terbentuk pada awalnya memiliki kekuatan mengikat antigen yang masih lemah, selanjutnya terjadi *affinity maturation* terhadap sebagian dari sel B, sehingga menghasilkan antibodi yang mampu mengikat antigen dengan kuat. Kekuatan ikatan antibodi terhadap antigen ini disebut *high-affinity* dan *high avidity*. Antibodi IgG adalah yang paling utama melakukan netralisasi dan eliminasi terhadap CMV yang beredar dalam sirkulasi. IgG tersebut adalah antibody anti-gB (anti- glikoprotein B) yang merupakan antibodi terhadap antigen paling imunogenik dari *envelope* CMV.¹¹²

Respons imun seluler merupakan mekanisme utama di mana replikasi CMV di kontrol. Sel T merupakan sel penting dalam mengontrol dan membatasi replikasi virus pada manusia dengan infeksi persisten. Respons imun seluler diinduksi oleh sel dendritik yang mempresentasikan antigen kepada sel T CD4+ dan CD8+ dalam kelenjar limfe setelah masuk dalam peredaran darah. Kekuatan respons imun dipengaruhi oleh fungsi stimulasi dari sel dendritik yang menentukan proses antigen, ekspresi MHC, dan kostimulasi.¹²¹ Sel T

CD8+ merupakan peran penting dalam imunitas seluler yang diketahui pada penelitian mencit di mana eliminasi limfosit yang ditemukan bersama dengan peningkatan kadar reaktifasi dan diseminasi dari infeksi virus. Begitu halnya terjadi peningkatan sel T CD4+ dalam mengontrol infeksi CMV.¹²² Brindley 2012 melakukan penelitian pada 16 anak dengan AB mendapatkan bahwa sel T pada jaringan hati berespons terhadap CMV diidentifikasi pada pasien dengan diagnosis AB menunjukkan bahwa infeksi perinatal CMV sebagai inisiasi dan autoreaktivitas, yang secara potensial menjadi kemungkinan kerusakan duktus bilier. Defisiensi T regulator pada AB menunjukkan penurunan hambatan dari inflamasi kerusakan duktus bilier yang berlebihan¹²³. Menurut Kodo pada pasien atresia bilier terjadi peningkatan kadar sel T helper (Th1 dan Th17) dan penurunan sel T regulatori dan pada biopsi dan IgM CMV serum positif meskipun antigen CMV jaringan hati negatif, sehingga dianggap bahwa infeksi CMV sebagai penyebab AB.¹²⁴

Tingkat positif infeksi CMV tinggi pada anak-anak dengan AB, namun demikian, korelasi langsung antara ekspresi positif CMV dan kerusakan sistem bilier masih kurang dipahami. Pada penelitian Wang dkk., menyatakan kolestasis, aglomerasi yang ditandai dari limfosit mononuklear di area portal, ekspresi CMV-mRNA dan kerusakan atau absisi akibat peradangan pada sel epitel sistem bilier terjadi setelah infeksi CMV, selain itu fibrosis dan gangguan struktural di area portal dan proliferasi saluran empedu reaktif juga terjadi. Pada penelitian tersebut ekspresi CMV mRNA terjadi terutama pada sel endotel vaskuler, sel epitel bilier, membran basilar saluran empedu, jaringan ikat di area portal, dan sel matriks di kapsul kandung empedu. Infiltrasi limfosit mononuklear juga terjadi di daerah ini.¹¹⁶ Virus dapat bereplikasi baik pada hepatosit maupun kolangiosit selama infeksi dan dapat secara langsung menginduksi kerusakan pada hepar dan sistem duktus bilier dan menginduksi kerusakan imunitas pada sel

yang terinfeksi, dihubungkan dengan efek sitopatik langsung pada respons imun, menunjukkan inklusi bodies pada hepatosit dan sel epitel vaskuler khususnya sel epitel pada duktus bilier.

Pada *host* dengan sistem kekebalan yang normal, maka infeksi virus memicu kerusakan ke saluran portal, kolangiolitis, degenerasi hepatosit, infiltrasi limfosit, dan sel limfoid. Sedangkan pada *host* dengan gangguan kekebalan, terjadi kerusakan hati yang luas namun disertai sedikit bukti peradangan. Pada penelitian Wang setelah infeksi CMV, perubahan yang paling mencolok adalah inflamasi (terutama limfosit mononuklear), kolestasis, dan fokal degenerasi sel hati. Maka status kekebalan, tanggapan lokal terhadap peradangan dan antivirus yang dimediasi oleh sel Th1 respons imun berkontribusi pada kerusakan hati yang disebabkan oleh infeksi CMV.¹¹⁶ Zagory dkk., menyimpulkan bahwa Prom 1 secara fungsional terlibat dalam fibrogenesis yang terkait dengan AB melalui transdiferensiasi HPC dan perluasan reaksi duktular yang mengekspresikan subunit integrin profibrogenik, menunjukkan bahwa Prominin-1 mungkin menjadi target yang masuk akal untuk strategi anti-fibrogenik dalam terapi atresia bilier.¹²⁵

Interaksi antara kemampuan virus menghindari mekanisme pertahanan tubuh *host* dan kemampuan *host* untuk mencegah infeksi virus merupakan hal yang kompleks.¹²¹ Sistem imun alami memainkan peranan penting melawan CMV baik kongenital dan perinatal, serta juga mengawasi suatu respons imun adaptif. Komponen yang berperan dalam sistem imun alami adalah Sel NK, TLR, sel dendritik, dan sitokin. Terdapat 10 TLR pada manusia dan *Toll Like Receptor* mempunyai peranan penting dalam pengenalan antigen CMV khususnya TLR 2, TLR 3, TLR 9.¹²⁶ Fungsi TLR untuk melawan patogen melalui interaksi *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMPs) melalui *Pattern Recognition Receptors* (PRRs).¹²⁶ TLR3 dan TLR9 telah terbukti merupakan komponen yang penting dari imunitas alami melawan infeksi CMV pada tikus.¹²² Terdapat bukti interaksi antara beberapa

TLR dengan CMV memengaruhi respons imun. TLR 2 meskipun secara khas dipertimbangkan dalam adanya PAMPs melawan polisakarida bakteri, juga sebuah PRR untuk glikoprotein B dan glikoprotein H.¹¹³ Stimulasi TLR oleh CMV mengaktifasi jalur sinyal transduksi termasuk menginduksi sekresi sitokin yang mengeluarkan sel dari sistem imun *innate* dan *upregulation* dari molekul *co-stimulator* seperti CD 80 dan CD 86 yang penting dalam aktivasi imunitas adaptif.¹²² Sel NK merupakan efektor imun alami yang mengontrol infeksi virus.¹¹³ Pada inokulasi virus, jalur sinyal diaktifkan, menyebabkan aktivasi dari sel NK. Sel NK dapat mengenal sel yang terinfeksi virus karena sel sasaran tersebut mengekspresikan molekul glikoprotein pada permukaan sel yang membedakannya dari sel normal. Sitolisis terjadi karena dilepaskannya faktor sitotoksik (sitolisin/perforin) yang berasal dari granula dalam sel NK. Sel NK bekerja pada masa awal infeksi CMV dan dapat membedakan keparahan, perluasan, dan durasi infeksi. Sitokin berperan dalam mengontrol imun dari infeksi CMV meskipun laporan sitokin berhubungan dengan proteksi dan peningkatan kerentanan infeksi dalam infeksi CMV perinatal dan kongenital sulit didapatkan dari penelitian. Terdapat sedikit data tentang peran sel fagosit (neutrofil dan makrofag) dalam melawan infeksi kongenital. Neutrofil berperan penting dalam lini pertama melawan penularan infeksi secara vertikal.¹¹³ Imunitas humoral efektif dalam melawan CMV, dalam membatasi penyebaran virus dan mengurangi beratnya penyakit. Saat ini antibodi untuk melawan atau memproteksi dan mengontrol infeksi CMV masih diperdebatkan. Dalam imunitas adaptif, imunitas seluler yang berperan adalah CD4 dan CD8.¹¹³

Penegakan Diagnosis Infeksi CMV

Diagnosis infeksi CMV tidak dapat ditegakkan hanya berdasarkan latar belakang klinik, terlebih bila tidak dijumpai keluhan atau hanya menimbulkan keluhan yang mirip dengan infeksi virus pada umumnya.

Deteksi secara laboratoris diperlukan untuk menunjang diagnosis. Tes serologik metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), atau *enzyme linked immunofluorescent assay* (ELFA), merupakan cara yang paling sering dilakukan yaitu untuk menetapkan IgM, IgG, IgG *avidity* spesifik anti-CMV dalam sirkulasi. Antibodi yang dideteksi dengan metode serologik *in vitro* adalah antibodi terhadap protein nonstruktural dari CMV dan bukan merupakan antibodi terhadap protein struktural yang bersifat protektif *in vivo*. Pemeriksaan serologik untuk menetapkan antibodi atau imunoglobulin (Ig) merupakan pemeriksaan yang umum dikerjakan. Penetapan antibodi anti-CMV IgM spesifik dalam serum, meskipun tidak sempurna benar, merupakan metode laboratorik yang dapat diterima untuk menilai infeksi akut, primer, dan infeksi yang didapat sejak di dalam kandungan. Pada keadaan dengan IgM negatif atau nonreaktif, bukan berarti penderita sembuh, karena tetap dapat timbul reaktivasi, replikasi, reinfeksi. Demikian pula hasil IgM positif tidak hanya terbatas pada infeksi primer akut karena dapat juga dijumpai hasil positif pada reaktivasi atau reinfeksi.⁶ Perlu dilakukan pemantauan serial terhadap tes serologik dengan interval waktu 2–3 minggu untuk melihat serokonversi atau ada tidaknya peningkatan titer atau kadar antibodi. Tes IgG dipakai untuk mendeteksi infeksi yang telah terjadi sebelumnya atau di masa lalu. Apabila hanya ada satu pemeriksaan IgG yang menunjukkan positif atau titer IgG mencapai fase tinggi mendatar (*plateau*) disertai dengan IgM yang positif, maka tidak mungkin membedakan infeksi primer dengan reaktivasi-reinfeksi atau dengan kemungkinan suatu stimulasi poliklonal. Infeksi baru dapat dibedakan dari infeksi lama dengan menetapkan IgG *avidity*. IgG yang diproduksi dalam 3–5 bulan setelah infeksi primer memiliki *aviditas* rendah, sedangkan yang diproduksi lebih dari 3–5 bulan atau bertahun-tahun memiliki *aviditas* yang tinggi. Pemeriksaan *aviditas* IgG selain dapat dipakai untuk mengetahui apakah infeksi sudah lama atau baru terjadi, primer atau sekunder, dapat pula dipakai untuk

mempertimbangkan kemungkinan perlu pemberian terapi atau tidak. Penetapan aviditas IgG dilakukan bersamaan waktu dengan penetapan IgG karena interpretasi hasil aviditas IgG tidak dapat dilakukan dengan baik bila kadar IgG di bawah 6 aU/ml atau di atas 400 aU/ml. Tes harus diulang dan dilakukan pengenceran bila kadar IgG di atas 400 aU/ml.^{110,111}

Menurut Brindley dkk., peningkatan interferon-gamma (IFN γ) sel T hepar terhadap protein CMV pada 56% pasien atresia bilier dan juga korelasi signifikan kadar CMV IgM plasma meskipun antigen virus tidak terdeteksi, hal tersebut menyiratkan riwayat infeksi CMV pada pasien atresia bilier periode perinatal.¹²⁷ Infeksi CMV pada pasien atresia bilier periode perinatal, dengan kemungkinan interpretasi infeksi CMV sebagai penyebab yang memicu atresia bilier atau infeksi sekunder selama perkembangan yang disebabkan oleh sebab lainnya.¹²⁸ Pemeriksaan skrining universal pada ibu atau bayi baru lahir tidak ada, wanita hamil dengan serokonversi dari IgG negatif dapat menjadi IgG positif atau IgM positif jika konfirmasi dengan *low-avidity* IgG (IgM masih dapat positif 6–9 bulan setelah fase akut infeksi). Infeksi fetus dapat didiagnosis dengan kultur virus positif atau PCR dari cairan ketuban. Diagnosis pada bayi baru lahir dibuat berdasarkan adanya virus pada cairan tubuh melalui PCR, kultur, antigen testing (pp65 Antigen) dalam 3 minggu pertama kehidupan.⁶⁸ Diagnosis infeksi CMV dapat ditegakkan dengan menggunakan beberapa metode laboratorium, pada cairan tubuh seperti darah, urine, air liur, dan jaringan hati dapat dilakukan melalui pemeriksaan kultur, isolasi virus melalui jaringan hati untuk pemeriksaan biopsi, mendeteksi antigen CMV melalui pemeriksaan antigenemia, identifikasi DNA CMV melalui pemeriksaan PCR, dan deteksi antibodi spesifik terhadap CMV melalui pemeriksaan serologi.¹²¹

Kultur virus merupakan *gold standard* untuk infeksi CMV, namun metode ini memerlukan waktu 7–10 hari. Spesimen harus diambil

selama stadium akut, yaitu ketika terjadi pelepasan virus tertinggi. Pemulihan terjadi sporadik dan hasil tidak dapat dipercaya bila diambil selama stadium penyembuhan. Isolasi dilakukan dari saliva atau urine, kadang-kadang dari darah perifer. Kultur virus tidak dapat membantu untuk membedakan infeksi primer dengan infeksi lama karena virus sering dijumpai pada reaktivasi asimtomatik.^{110,111}

Infeksi dalam jaringan dapat dideteksi, namun lebih mudah terlihat pada sel. Antigenemia dapat diketahui dengan mendeteksi antigen CMV pp65, yaitu fosfoprotein tegumen virus yang merupakan salah satu antigen CMV paling imunogenik dalam leukosit segmen neutrofil darah tepi. Pemeriksaan leukosit darah tepi merupakan tes yang valid dan sensitif untuk menilai kesembuhan CMV, namun memerlukan waktu lebih lama dari metode serologik. Metode pengecatan imunofluoresen dengan menggunakan antibodimonoklonal untuk mendeteksi *early antigen* memiliki sensitivitas 84%. Identifikasi inklusi CMV intranukleus sel epitel tubulus ginjal pada sediaan sedimen urine adalah spesifik, bukan sensitif, untuk menunjukkan replikasi virus.^{110,111}

Metode lain untuk menunjang diagnosis infeksi CMV ialah *polymerase chain reaction* (PCR), untuk mendeteksi DNA dari CMV. Bahan pemeriksaan yang dipakai ialah urine, darah atau jaringan. Deteksi CMV dengan hibridisasi DNA atau amplifikasi PCR diperlukan untuk memperkuat hasil serologik. Metode PCR mempunyai sensitivitas 89,2% dan spesifisitas 95,8%.⁶ Peneliti lain melaporkan bahwa spesifisitas metode PCR adalah 100% untuk menunjang hepatitis CMV. Hasil PCR kualitatif positif menunjukkan replikasi virus dalam sel, namun tidak dapat dipakai untuk menjelaskan risiko perkembangan penyakit dan transmisi ke fetus.^{110,111}

Infeksi CMV pada Atresia Bilier

Atresia Bilier merupakan suatu kolangiopati obliteratif yang merusak pada bayi yang ditandai dengan derajat obliterasi yang bervariasi baik pada saluran bilier ekstrahepatik maupun intrahepatik. Bisa jadi bahwa atresia bilier merupakan luaran akhir dengan beberapa penyebab yang mungkin. Dua mekanisme patologis telah diusulkan untuk menjelaskan gangguan utama perkembangan saluran empedu atau kerusakan saluran empedu yang telah terbentuk karena *cholangio-destructive effects* akibat virus hepatotropik atau sekunder karena reaksi autoimun yang dipicu oleh paparan virus. Tetapi bukti substantif dalam bentuk isolasi virus langsung atau *inclusion bodies* sulit dilakukan.¹²⁹

Studi pada Binatang

Infeksi pada individu dengan defisiensi Treg oleh Cytomegalovirus (CMV) mungkin dapat menginduksi serangkaian respons imun yang diarahkan pada saluran bilier. Respons imun ini mungkin berperan dalam patogenesis dan progresi atresia bilier. Untuk mengeksplorasi kemungkinan hubungan antara infeksi CMV dan atresia bilier, dilakukan studi pada model binatang.^{130,131}

Pada studi yang dilakukan oleh Wang W dkk., didapatkan kesimpulan studi pada hewan coba marmut model kerusakan hepatobilier terkait infeksi CMV menunjukkan kemampuan CMV untuk melukai area porta, memicu inflamasi pada epitel saluran bilier, tetapi temuan ini masih perlu dibuktikan secara klinis.¹³⁰ Pada studi yang dilakukan oleh Wen J dkk., didapatkan kesimpulan penurunan penghambatan T limfosit hati dan autoantibodi, akibat menurunnya Treg, dapat menyebabkan *injury* pada saluran bilier intrahepatik dan ekstrahepatik yang berlebihan dan progresif yang mungkin dapat

menyebabkan atresia bilier, disarankan dilakukan penelitian lebih lanjut yang berfokus pada peran Treg dan autoimun pada manusia.¹³¹

TABEL 2.4 Studi Infeksi CMV pada Model Binatang.

Peneliti	Metode	Hasil
Wang W dkk., 2011. ¹³⁰	<p>Kelompok Prenatal (P) 17 marmut betina hamil usia 40-43 hari dibagi dalam 3 kelompok: 10 di injeksi dengan supernatan virus CMV, 4 di injeksi dengan NS 0,9%, dan 3 tidak diberi injeksi apapun</p> <p>Kel. 1: 22 anak marmut lahir (10 dikorbankan pada 12-24 jam setelah lahir, 6 pada 10 hari setelah lahir, dan 6 pada 20 hari setelah lahir)</p> <p>Kel. 2: 11 anak marmut lahir (5 dikorbankan pada 12-24 setelah lahir, 3 setelah hari ke-10, dan 3 setelah hari ke-20)</p> <p>Kel.3: anak marmut lahir (6 dikorbankan pada 12-24 setelah lahir, 3 setelah hari ke-10, dan 3 setelah hari ke-20)</p> <p>Kelompok Neonatal (N) 20 diinjeksikan dengan supernatan virus CMV intraperitoneum: 8 dikorbankan pada hari ke 10, 6 pada hari ke-20, dan 6 pada hari ke 30 setelah inokulasi.</p> <p>Kelompok Infant (I) 16 diinokulasi dengan supernatan virus CMV: 8 dikorbankan pada hari ke 10, 8 dikorbankan pada hari ke 20 setelah inokulasi</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak terdapat perbedaan kadar γGT yang signifikan antara sub kelompok prenatal (P) • Didapatkan kadar ASL & AST yang lebih tinggi secara signifikan pada sub kelompok P1, dibanding sub kelompok P2 & P3 • Tidak didapatkan kenaikan kadar γGT, AST & ALT pada sub kelompok Neonatal (N) • Tidak didapatkan kenaikan kadar γGT, AST & ALT pada sub kelompok Infant (I) • mRNA CMV pada kelompok P 67%; kelompok N 55% (11/20); kelompok I 56,25% • Pada histologi indeks apoptosis sel hepar & sel porta kelompok P 6.7 ± 1.322 dan 5.13 ± 2.112; kelompok N 5.7 ± 0.17 dan 1.13 ± 0.042; ditemukan sedikit sel apoptosis pada kelompok I

Peneliti	Metode	Hasil
Wen J dkk., 2015. ¹³¹	Binatang tikus yang berusia 24 jam setelah lahir, dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, diinjeksikan dengan virus CMV dosis rendah dan dosis tinggi, dan diinjeksikan anti CD25, serta kelompok kontrol diinjeksikan NS 0,9%	<ul style="list-style-type: none"> • Pada kelompok dosis rendah didapatkan inflamasi luas dan atresia pada saluran bilier ekstrahepatik. • Pada kelompok dosis tinggi didapatkan infiltrasi sel inflamasi dan degenerasi lemak pada hepatosit dan injury pada epitel saluran bilier. • Pada kelompok dosis rendah didapatkan inflamasi pada saluran bilier ekstrahepatik menyebabkan obstruksi dan penyempitan parsial.

Studi pada Manusia

Atresia Bilier merupakan suatu kolangiopati obliteratif yang merusak pada bayi yang ditandai dengan derajat obliterasi yang bervariasi baik pada saluran bilier ekstrahepatik maupun intrahepatik. Bisa jadi bahwa atresia bilier merupakan luaran akhir dengan beberapa penyebab yang mungkin. Dua mekanisme patologis telah diusulkan untuk menjelaskan gangguan utama perkembangan saluran empedu atau kerusakan saluran empedu yang telah terbentuk karena *cholangio-destructive effects* akibat virus hepatotropik atau sekunder karena reaksi autoimun yang dipicu oleh paparan virus. Tetapi bukti substantif dalam bentuk isolasi virus langsung atau *inclusion bodies* sulit dilakukan.¹²⁹

Kegagalan untuk menunjukkan DNA CMV tidak mengecualikan kemungkinan infeksi oleh virus ini karena mungkin ada, tetapi dalam jumlah kurang dari batas sensitivitas PCR, namun angka tersebut mungkin tidak signifikan secara klinis. Menurut studi tersebut tidak adanya DNA CMV terbukti dalam biopsi saluran empedu

dengan peradangan kronis dan/atau aktif dari bayi dengan atresia biliaris dengan hibridisasi *in situ* dan PCR menyiratkan bahwa tidak mungkin bahwa CMV memiliki peran utama dalam patogenesis atresia bilier.¹³²

TABEL 2.5 Studi yang tidak didapatkan bukti infeksi CMV pada atresia bilier.

Peneliti	Metode	Hasil
Jevon & Dimmick, 1999 ¹³²	12 anak dengan atresia bilier (diagnosis saat operasi portoenterostomi dan biopsi) dengan sampel jaringan saluran bilier dengan fiksasi formalin <i>paraffin-embedded</i> menggunakan studi insitu hibridisasi & PCR	DNA CMV (-) pada semua sampel
Yaghobi dkk., 2011 ¹³³	Studi retrospektif 34 neonatus dengan atresia bilier, sampel jaringan hati dari biopsi dan autopsi, diperiksa dengan imunohistokimia & PCR	DNA CMV (-) dan CMV antigen (-) pada semua sampel

TABEL 2.6 Studi yang didapatkan bukti infeksi CMV pada atresia bilier.

Peneliti	Metode	Hasil
Tarr dkk., 1996. ¹³⁵	23 Pasien dengan atresia bilier IgM CMV pada serum dengan protein (Western) immunoblot	5 dari 23 (24%) pasien IgM CMV (+)
Fischler dkk., 2005. ¹³⁶	18 pasien yang lahir dengan atresia dilakukan imunohistokimia untuk mendeteksi deposit IgM & IgG CMV	9 bayi dengan ongoing infeksi CMV (IgM CMV + dan isolasi CMV pada urine)
C Shen dkk., 2008. ¹³⁷	27 pasien dan ibu diperiksa IgG dan IgM CMV dengan ELISA	IgG CMV (+) 21/27 (78%) IgM CMV (+) 13/27 (48%)
Fischler dkk., 2009. ¹³⁸	28 pasien dengan atresia bilier, kriteria ongoing infection CMV (IgM+ pada serum atau CMV pada urine)	11 dari 28 pasien terdapat ongoing CMV Infection

Peneliti	Metode	Hasil
El araby dkk., 2010 ¹³⁹	30 pasien dengan atresia bilier diperiksa serum IgM CMV, IgG CMV ELISA PCR plasma dan jaringan	73,3% (22/30) pasien dengan atresia bilier IgG CMV (+) 16,7 (5/30) pasien dengan atresia bilier IgM (+) 13,3% (4/30) pasien dengan atresia bilier PCR CMV plasma (+) 43,3% (13/30) pasien dengan atresia bilier PCR CMV jaringan (+)
Xu dkk., 2012. ¹⁴⁰	PCR DNA CMV & imunohistokimia	DNA CMV (+) pada 51 (60%) dari 85 bayi
Zabiegac dkk., 2012. ¹⁴¹	IgM CMV (tidak disebutkan metode dalam jurnal)	20 pasien dari 39 pasien atresia bilier dengan IgM CMV (+)
Brindley dkk., 2012. ¹⁴²	Imunohistokimia	Peningkatan IgM CMV pada 8 dari 16 pasien 9 dari 16 pasien atresia bilier menunjukkan peningkatan IFN-c-producing T cells sebagai respons terhadap peptida CMV dan/atau protein homogen CMV
Zani dkk., 2015. ¹²⁹	IgM CMV ELISA	20 (15%) bayi dari 131 bayi IgM CMV (+)
Hill Richard dkk., 2015. ¹⁴³	Imunohistokimia	9 dari 37 pasien didapatkan IgM CMV (+)

Salah satu hipotesis yang terkenal dalam patogenesis atresia bilier adalah injuri pada saluran bilier yang diinisiasi oleh infeksi virus, diikuti oleh respons imun atau respons inflamasi yang berlebihan yang menyerang epitel saluran bilier menyebabkan kerusakan saluran bilier progresif dan obliterasi.^{129,134} Beberapa studi dengan beberapa metode

pemeriksaan mencoba membuktikan bukti infeksi CMV pada atresia bilier.

Terdapat 10 studi yang meneliti hubungan etiologi antara CMV dan atresia bilier. Studi yang dilakukan oleh Tarr dkk., pada 1 Juli 1989–Desember 1993 dengan 23 pasien atresia bilier menggunakan protein (Western) immunoblot untuk mendeteksi IgM CMV didapatkan 24% (5/23) hasil positif dan 17,3% (4/23) kultur urine positif CMV. Tarr dkk., menyimpulkan bahwa hubungan antara CMV dan atresia bilier tetap spekulatif dan diperlukan studi prospektif terkontrol di masa depan.¹³⁵ Studi yang dilakukan oleh Zani pada Januari 2004–Desember 2011 menggunakan metode ELISA untuk mendeteksi IgM CMV, didapatkan 9,5% (20/210) pasien dengan hasil positif, menyimpulkan bahwa CMV-terkait BA tampaknya menjadi etiologi.¹²⁹ Studi yang dilakukan Xu dkk., dengan sampel liver beku 85 pasien dengan atresia bilier menggunakan PCR untuk mendeteksi DNA CMV didapatkan 60%, (51/85) sampel positif. Efek sitopatik dan apoptosis diamati setelah dilakukan injeksi HCMVAD169 menginfeksi sel epitelial biliaris intrahepatik manusia pada hari ke-6. Penelitian tersebut menunjukkan tingginya insiden CMV pada atresia bilier. Atresia Bilier disebabkan oleh respons imun oleh reaktivasi infeksi CMV yang dipicu secara laten. Studi ini mendukung teori bahwa CMV adalah inisiator potensial dari proses imun terjadinya atresia bilier.¹⁴⁰

Studi yang dilakukan oleh Zabiegaj dkk., melalui penelusuran rekam medis didapatkan 78% (21/27) pasien dengan atresia bilier positif IgG/IgM, tidak disebutkan dalam jurnal baik metode uji serologi maupun jumlah sampel yang positif IgM dan/atau IgG menyimpulkan bahwa hubungan antara CMV dan atresia bilier memerlukan investigasi lebih lanjut.¹⁴¹ Studi yang dilakukan oleh C Shen *at al* pada Januari 2002–Maret 2004 menggunakan metode ELISA untuk mendeteksi IgG & IgM CMV didapatkan hasil IgG CMV (+) 21/27 (78%), IgM CMV (+) 13/27 (48%). Ekspresi positif CMV-IgM tinggi dalam serum menunjukkan

infeksi CMV baru telah terjadi. Ini menunjukkan bahwa hepatitis CMV mungkin berhubungan dengan fibrosis saluran empedu intra- dan ekstra-hati dapat menyebabkan obstruksi saluran empedu, bahkan atresia bilier.¹³⁷ Studi yang dilakukan oleh Brindley dkk., didapatkan 9 dari 16 (56%) pasien BA mengalami peningkatan yang signifikan dalam sel T penghasil IFN γ sebagai respons terhadap peptida CMV dan/atau CMV protein homogenat dibandingkan dengan respons terhadap virus lain atau respons kelompok kontrol CMV.¹⁴²

Studi yang dilakukan oleh Fischler pada 1988–1995 dan *follow up* sampai April 2003 pada 18 bayi dengan atresia bilier dengan sampel jaringan hati yang difiksasi formalin 10% *paraffin-embedded*, dan dilakukan pengecatan imunohistokimia didapatkan hasil IgM deposit: 1 bayi dengan *very intense staining*, 6 bayi dengan *intense staining*, 11 bayi dengan *moderate staining*; IgG deposit: 10 bayi dengan *intense staining*, 8 bayi dengan *moderate staining*. Dari studi tersebut disebutkan terdapat hubungan antara infeksi CMV dan jumlah deposit imunoglobulin pada membran kanalikuli dari hepatosit. Studi tersebut juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan dalam intensitas pewarnaan tergantung pada status infeksi CMV pada pasien. Hasil tersebut menunjukkan peran untuk infeksi CMV dalam patogenesis atresia bilier dan dengan demikian menunjukkan bahwa deposit imunoglobulin tidak selalu hanya sekunder akibat kolestasis.¹³⁶

Studi yang juga dilakukan oleh Fischler pada 28 pasien dengan atresia bilier yang lahir antara 1988–1997, yang dilakukan operasi portoentrostomi dan dilakukan *follow up* sampai Agustus 2008, menggunakan sampel serum atau urine untuk mendeteksi IgM CMV didapatkan 11 (39%) pasien memiliki ongoing CMV infection saat pertama kali pemeriksaan, sedangkan 17 pasien tanpa ongoing CMV infection.¹³⁸ Studi yang dilakukan oleh Hill Richard dkk., dari biopsi liver dari 37 pasien didapatkan atresia bilier CMV (+) 9 pasien, atresia bilier dengan malformasi lien 9 pasien, *isolated* atresia bilier 19

pasien.¹⁴³ Studi yang dilakukan oleh El Araby dengan metode ELISA untuk melihat IgM & IgG pada serum dan PCR pada sampel plasma & jaringan didapatkan hasil 73,3% (22/30) pasien dengan atresia bilier IgG CMV (+); 16,7 (5/30) pasien dengan atresia bilier IgM (+); 13,3% (4/30) pasien dengan atresia bilier PCR CMV plasma (+); 43,3% (13/30) pasien dengan atresia bilier PCR CMV jaringan (+).¹³⁹

Manifestasi Atresia Bilier dengan Infeksi CMV

Walaupun tidak ditunjukkan secara langsung, tetapi infeksi virus CMV dikaitkan dengan luaran yang lebih buruk. Studi yang dilakukan oleh Tarr dkk., menunjukkan bahwa pasien dengan atresia bilier dengan IgM CMV (+) dirujuk ke pusat rujukan pada rata-rata usia yang lebih tua (82,4 hari \pm 28,7 hari SD vs 48,8 hari \pm 21,8 hari SD; *two-tailed t-test*, $P = 0,01$) dibanding dengan atresia bilier dengan IgM CMV (-).¹³⁵ Pada studi yang dilakukan oleh Zani dkk., menunjukkan bahwa usia bayi dengan IgM CMV (+) lebih tua pada Kasai portoenterostomy (atau laparotomi) [70 (60-80) hari vs 56 (44-75) hari; $P = 0,003$].¹²⁹ Studi yang dilakukan oleh Fischler dkk., juga didapatkan hasil rata-rata usia dilakukan prosedur Kasai 75 hari (55-150 hari) pada pasien dengan ongoing CMV infection, sedangkan 17 pasien tanpa ongoing CMV infection 70 hari (15-115 hari; $p = 0,12$, Mann-Whitney test).¹³⁸

Infeksi CMV pada atresia bilier juga dikaitkan dengan klinis & laboratoris yang lebih berat. Pada studi yang dilakukan oleh Zani dkk., menunjukkan bahwa bayi dengan atresia bilier disertai IgM CMV (+) didapatkan lebih ikterik [175 (147-224) vs 140 (121-181) $\mu\text{mol/L}$; $P = 0,002$] dengan kadar AST [287 (157-403) vs. 180 (133-254) IU/L; $P = 0,005$] dan rasio indeks aminotransferase-platelet [1,1 (0,79-3,0) vs 0,63 (0,43-0,95)] yang lebih tinggi dan daripada kelompok normal. Dari studi tersebut juga didapatkan gambaran histologi tingkat peradangan dan fibrosis yang lebih berat dibandingkan dengan kelompok kontrol IgM CMV (-).¹²⁹

Ekspresi IgM CMV positif yang tinggi pada serum mengindikasikan infeksi CMV baru telah terjadi. Ekspresi CMV pp65 mempresentasikan adanya duplikasi virus. Pada studi yang dilakukan oleh C Shen dkk. yang membandingkan IgM CMV, IgG CMV, dan CMV pp65 pada pasien dan ibu, menunjukkan ekspresi IgM CMV dan CMV pp65 yang lebih tinggi pada pasien atresia bilier dibandingkan pada ibu mereka. Hasil pada studi tersebut menunjukkan bahwa tingkat infeksi CMV saat ini lebih tinggi pada pasien.¹³⁷ Pada penelitian yang dilakukan oleh Xu dkk., juga menunjukkan CMV-pp65 antigenemia (+) pada semua bayi dengan DNA CMV (+) dan tidak ditemukan pada bayi dengan DNA CMV (-).¹⁴⁰ Studi yang dilakukan oleh Brindley dkk., juga menunjukkan Kadar CMVpp65 lebih tinggi pada kelompok Atresia bilier $143,5 \pm 51,0$; Kontrol $1,3 \pm 0,1$.¹⁴²

Respons Imun pada Atresia Bilier dengan Infeksi CMV

Pembentukan respons imun *host* terhadap infeksi virus dapat menjadi alternatif untuk mengonfirmasi teori etiologi virus. Sebenarnya, pengukuran imunoglobulin plasma untuk target virus, atau deteksi untuk antibodi spesifik virus pada darah yang diambil dari pasien pra-operasi dan paska-operasi, bersama dengan kelompok kontrol yang sesuai umur dengan ibu mereka, dan fokus pada gejala yang berasal dari infeksi virus mungkin merupakan strategi. Studi yang dilakukan oleh Brindley dkk., menunjukkan peningkatan reaktivitas terhadap CMV protein homogenate pada kelompok atresia bilier $59,9 \pm 31,2$; Kontrol $2,0 \pm 0,6$. Selain itu, juga ditemukan peningkatan IgM CMV pada 8 dari 9 pasien yang menunjukkan reaktivitas sel T CMV (+) dibandingkan pada 7 pasien atresia bilier dengan reaktivitas sel T CMV (-) pada 8 pasien kelompok kontrol ($P < 0,0001$; ANOVA). Berdasar analisis Pearson, semua nilai IgM CMV plasma dengan reaktivitas sel T hati terhadap CMV, menunjukkan korelasi positif ($r = 0,76$; $P = 0,001$). Pada studi tersebut didapatkan juga defisit T reg sirkulasi pada

kelompok atresia bilier IgM CMV (+) $2,6 \pm 0,3\%$; kelompok atresia bilier IgM CMV (-) $3,9 \pm 0,3\%$; Kontrol $5,4 \pm 0,5\%$; $P < 0,0001$, ANOVA. Temuan ini menyiratkan adanya riwayat infeksi CMV pada atresia bilier dengan interpretasi yang mungkin dari infeksi CMV memicu atresia bilier atau secara sekunder infeksi selama pembentukan atresia bilier.¹⁴²

Studi yang dilakukan oleh Hill Richard dkk., didapatkan hasil Sel Th1 ditemukan konsentrasi yang lebih tinggi secara signifikan pada porta dibanding acini pada pasien dengan atresia bilier dibanding kelompok kontrol [7 (0–37) vs. 3 (0–35) cells/hpf; $P = 0,001$]. Pada subkelompok, ditemukan konsentrasi tertinggi pada atresia bilier kelompok CMV, dibanding dengan *isolated biliary atresia* dan BASM [18 (7–37) vs. 5 (3–23) cells/hpf; $P=0.002$] and BASM [3 (0–14) cells/hpf; $P=0.002$]. Dari studi tersebut disimpulkan bahwa komposisi sel inflamasi yang berbeda yang dipresentasikan oleh sel th1 pada anak dengan IgM CMV (+) mungkin dapat memberikan bukti bahwa atresia bilier yang terkait infeksi CMV menjadi subkelompok yang berbeda.¹⁴³

REOVIRUS DAN ATRESIA BILIER

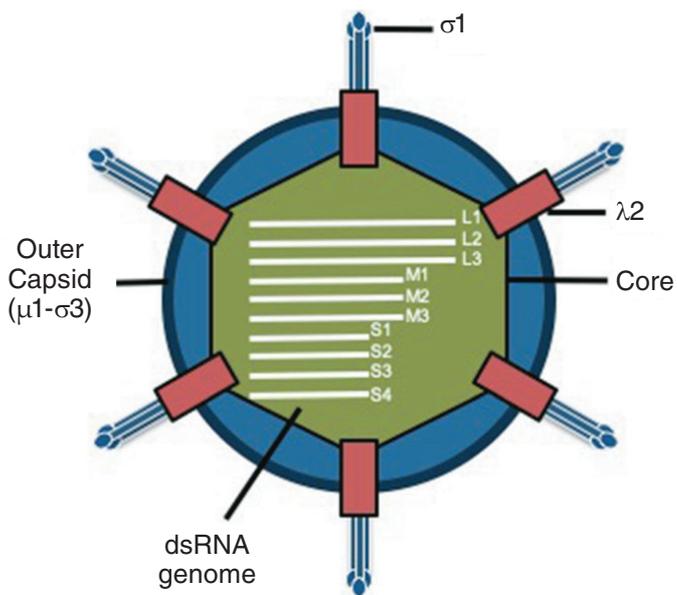
Morfologi Reovirus

Reovirus adalah virus RNA rantai ganda dari keluarga Reoviridae. Reovirus adalah virus *non-enveloped double-stranded RNA* (dsRNA) dengan diameter sekitar 60–80 nm, struktur simetris kubikal. Genom virus, terdiri atas 10 segmen dsRNA, terkandung di dalam kapsid luar dalam dan mengkodekan protein struktural yang terdiri atas kapsid luar termasuk sigma 1 ($\sigma 1$), sigma 3 ($\sigma 3$), lambda 2 ($\lambda 2$), dan mu 1 ($\mu 1$), protein struktural yang terdiri atas kapsid bagian dalam termasuk sigma 2 ($\sigma 2$), lambda 1 ($\lambda 1$), lambda 3 ($\lambda 3$), dan mu 2 ($\mu 2$), dan protein non-struktural termasuk sigma 1s ($\sigma 1s$), sigma NS (σNS), mu NS (μNS), dan mu NSC (μNSC). $\sigma 1$ telah diidentifikasi sebagai protein perlekatan virus, $\mu 1$, $\mu 2$, dan $\lambda 3$ berperan dalam replikasi virus, $\sigma 1s$

dan σ_3 tampaknya memiliki peran dalam virulensi, dan σ_{NS} , μ_{NS} , dan μ_{NSC} tampaknya terlibat dalam pembentukan inklusi virus.¹⁴⁴

Transmisi Penularan

Reovirus merupakan virus yang menyebabkan penyakit zoonosis yang ditularkan melalui kutu. Virus ditularkan melalui tinja yang terkontaminasi, secara *fecal-oral*, kontak langsung, atau dari debu udara. Virus ini dipertimbangkan dari berbagai macam derajat penularan sampai dengan penularan yang rendah. Belum ada laporan tentang transmisi vertikal. Virus ini biasa terdapat pada hewan tikus, hamster, dan babi. Klinis dari tikus muda yang terinfeksi reovirus adalah *jaundice*, diare, dan stunting. Pada penelitian di Cekoslowakia ditemukan 30% penduduknya seropositif antibodinya terhadap virus ini.^{145,146} Belum ada laporan mengenai transmisi dari ibu terhadap janin.



GAMBAR 2.12 Skema struktur Reovirus.¹⁴⁶

Patofisiologi Infeksi *Reovirus* pada Atresia Bilier

Ketertarikan pada *reovirus* muncul dari pengamatan bahwa tikus laboratorium muda yang terinfeksi reovirus mengembangkan fitur patologis di saluran empedu intrahepatik dan ekstrahepatik, serta parenkim hati yang serupa dengan terlihat pada bayi dengan atresia bilier, bahkan setelah antigen virus dibersihkan.¹⁴⁷ Tikus yang terinfeksi berkembang dan terjadinya peradangan empedu dengan gejala kuning. Tidak seperti virus lain, virus ini tidak memiliki patologi yang terkait dengan infeksi. Namun, partikel virusnya telah diidentifikasi di hati neonatus dengan atresia bilier.

Selama 30 tahun, berbagai upaya dilakukan dengan menggunakan hewan coba untuk ekstrahepatik atresia bilier, tetapi semuanya gagal untuk membentuk pola atresia bilier di manusia, sampai pada akhirnya Patersen dkk., membuat model menggunakan RRV di Balb/c-mice.¹⁴⁸ Reovirus tipe 3 virus yang banyak diteliti untuk mencari penyebab kejadian atresia bilier secara klinis pada hewan model. Evidence klinis yang kuat bahwa reovirus memainkan peran sebagai penyebab dari atresia bilier.¹⁴⁹ Tetapi kebalikan dari infeksi RRV di model Balb/c-mice, di mana atresia bilier tidak bisa terinduksi, infeksi Reovirus tipe 3 pada model di penelitian Svzavay tidak terbukti menyebabkan atresia bilier. Infeksi virus memulai terjadinya inflamasi, dimediasi oleh proses imunologi, terjadinya lokal iskemik di duktus bilier.¹⁵⁰

Reovirus, terutama serotipe 3, telah dipelajari secara khusus pada model murine karena perannya dalam menyebabkan penyakit dengan gambaran patologis yang mirip dengan atresia bilier manusia, seperti nekrosis epitel saluran empedu dan infiltrat inflamasi.⁶⁸ Menariknya, model murine telah menunjukkan perubahan lama pada duktus setelah antigen virus tidak lagi terdeteksi. Sementara penelitian pada kerabat dekat manusia, seperti bayi monyet, telah menunjukkan proses penyakit yang menyerupai AB manusia dengan infeksi reovirus, penelitian pada

manusia gagal untuk secara konsisten menunjukkan korelasi antara reovirus dan perkembangan BA.⁶⁸

Pada sebuah *review* menyebutkan dari lima penelitian, tingkat seroprevalensi reovirus pada pasien AB tercatat berkisar dari 0–55%. Meskipun sebagian besar penelitian tersebut memiliki kelompok kontrol, seperti vektor virus lainnya, namun ukuran sampel relatif rendah.⁶⁸

Menurut Saito, dari lima penelitian tentang reovirus hanya 1 penelitian yang menyebutkan keterlibatan virus dengan penyakit kolestatik termasuk atresia bilier. Namun tidak satupun dari penelitian tersebut merujuk pada hubungan reovirus pada awal kejadian atresia bilier.¹²⁸ Penggunaan gen target yang berbeda memperkenalkan variasi keragaman genetik, membuat negatif palsu sulit dieksklusi, mungkin ini menjadi alasan deteksi yang beragam/rendah pada reovirus.⁶⁸ Menurut Saito, gen L1 dan L3 tampaknya sangat terkonversi di seluruh *strain* reoviral dan S3 tampaknya memiliki konversi tinggi pada ujung 5' dan 3' menjadikannya target yang baik untuk pengembangan primer PCR, sedangkan gen M3 menjadi gen divergen ketiga di antara *strain* (setelah S1 dan M1) membuat desain primer PCR lebih rumit dan cenderung memiliki hasil lebih rendah.^{68,78}

Deteksi Reovirus pada Atresia Biliar

Sebagai kemungkinan virus penyebab, secara khusus, reovirus telah berada di bawah pengawasan ketat untuk waktu yang lama. Dilaporkan bahwa tikus laboratorium muda yang terinfeksi reovirus serotipe 3 mengalami kerusakan parenkim hati dan nekrosis saluran empedu. Namun, uji serologis, imunohistokimia, dan RT-PCR membuktikan hasil yang bertentangan. Menggunakan tes *nested* RT-PCR yang sensitif untuk mendeteksi RNA reoviral di jaringan hepatobilier dari pasien dengan AB, dua kelompok melaporkan hasil yang tidak

konsisten.⁷⁸ Steele dkk., merancang primer bersarang yang spesifik untuk segmen gen M3 dari *strain* reovirus serotipe 3 Dearing (T3D) dan tidak menemukan bukti pasti untuk hubungan antara BA dan reovirus T3D.¹⁴⁷ Di sisi lain, Tyler dkk., menemukan produk amplifikasi gen reovirus L1 di jaringan lebih dari setengah pasien dengan AB dan kista duktus bilier.¹⁴⁹

TABEL 2.7 Beberapa penelitian pada atresia bilier berkaitan dengan infeksi Reovirus.

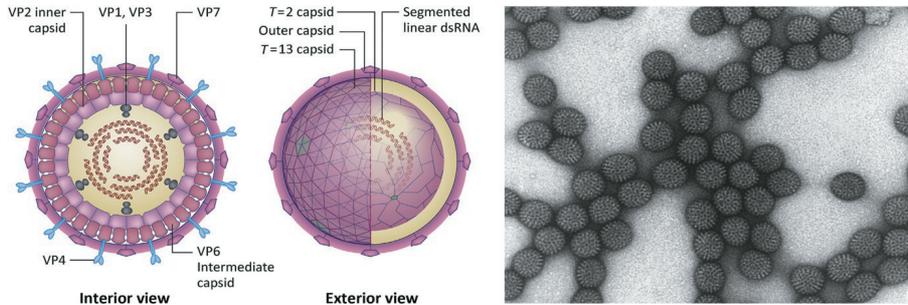
Peneliti	Sampel	Metode Pemeriksaan	Hasil
Saito (2004)	26 AB 0,7-46,6 bulan, rata-rata 12,7 bulan	Nested PCR	Reovirus 0/26 (0%) kontrol 0/13 (0%)
Rauschenfels (2009)	64 AB dari total sampel 74	Nested RT-PCR	Reovirus 21/64 (32,8%)
Tyler (1998)	20 AB 1,5-6 bulan, rata-rata 2 bulan	Nested PCR	Reovirus 11/20 (55%) kontrol 7/33 (21%)
Riepenhoff-Talty (1996)	9 AB dari total sampel 18	Seminested PCR	Reovirus 0/9 (0%) kontrol 0/2 (0%)
Steele (1995)	14 AB 3 minggu-3 bulan	Nested PCR	Reovirus 0/14 (0%) kontrol 0/17 (0%)

Rotavirus pada Atresia Bilier

Morfologi Rotavirus

Rotavirus adalah sebuah virus RNA untai ganda dalam famili Reoviridae. Terdapat 9 spesies dari genus Rotavirus, yaitu A, B, C, D, E, F, G, H, dan I. Rotavirus A adalah spesies yang paling umum menyebabkan lebih dari 90% infeksi Rotavirus pada manusia, sedangkan spesies lain biasanya pada hewan. Genom Rotavirus terdiri atas 11 molekul RNA heliks ganda yang unik mencakup 18.555 nukleotida secara keseluruhan. RNA dikelilingi oleh protein kapsid

berbentuk icosahedral tiga lapis, partikel virus tidak terbungkus. Ada 6 protein virus (VPs) yang membentuk partikel virus (virion). Peran protein ini saat replikasi Rotavirus tidak sepenuhnya dipahami, fungsi tersebut dianggap terkait dengan sintesis RNA dalam virion.



GAMBAR 2.13 Skema Struktur Rotavirus (kiri) dan Mikrograf Elektron (kanan).²⁶⁴

Transmisi Penularan

Rotavirus ditularkan oleh jalur *fecal-oral*, melalui kontak tangan yang terkontaminasi, seperti permukaan dan benda-benda, atau mungkin oleh pernapasan. Rotavirus stabil di lingkungan dan bertahan hidup di antara 9–19 hari. Setelah anak terinfeksi Rotavirus, maka masa inkubasinya 2 hari kemudian muncul gejala pada periode akut.¹⁵³

Patofisiologi Infeksi Rotavirus pada Atresia Bilier

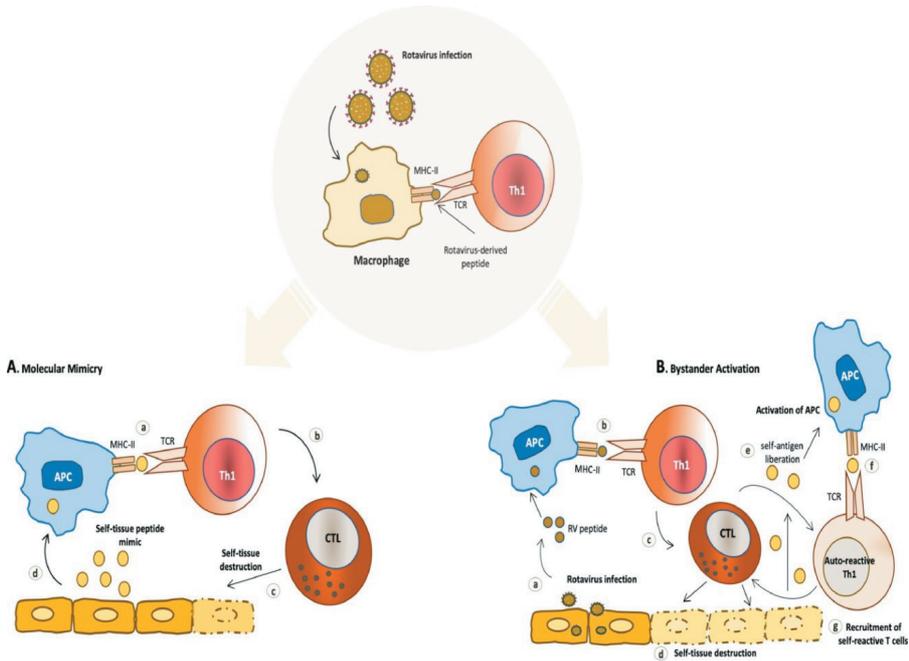
Infeksi Rotavirus pada atresia bilier, di mana RRV menginduksi terjadinya kerusakan mikrosirkulasi daerah peribiliari ekstrahepatik. Mikrosirkulasi yang terganggu karena rusaknya jaringan mikrovaskuler bilier ekstrahepatik merupakan suatu faktor yang berpengaruh pada kejadian atresia bilier.¹⁵⁴ Menurut Saito dkk., dari 3 artikel Rotavirus yang di-review menyatakan bahwa 1 penelitian mengisyaratkan keterlibatan Rotavirus sebagai pemicu atresia bilier dan penyakit

lain.¹²⁸ Selaras dengan Hertel, menyebutkan bahwa atresia dapat dipicu oleh infeksi virus yang didahului oleh penyebaran virus secara sistemik.¹⁵³ Satu teori yang diusulkan oleh Feldman dkk., infeksi virus hepatobilier yang melibatkan proses autoimun dan kemudian terjadi cedera pada bilier.¹⁵⁵ Pada penelitian Feng dkk., juga mengusulkan infeksi Rotavirus sebagai pemicu pada patogenesis atresia bilier melalui induksi peningkatan factor nuklir-kappa B dan aktivasi abnormal jalur inflamasi osteopontin.¹⁵⁶ Lebih lanjut, antibodi α -enolase ditemukan dalam hewan coba yang mengalami atresia bilier yang terinfeksi rhesus Rotavirus dan juga dalam sampel serum pasien atresia bilier.¹²⁷ Sel T regulator (Treg) pada hewan coba yang terinfeksi rhesus Rotavirus, menunjukkan bahwa infeksi Rotavirus dapat menyebabkan disregulasi Treg dan memicu autoimun pada hewan coba yang mengalami atresia bilier.^{155,153} Pada studi *in vitro* menunjukkan bahwa VP4 mengatur perlekatan virus dan infeksi kolangiosit,¹⁵³ serta pentingnya molekul proinflamasi sel B pada temuan di hewan coba menyiratkan mekanisme antigen sel B dan menemukan bahwa sel B pada hewan coba yang mengalami atresia bilier adalah penghasil sitokin yang kuat yang memengaruhi respons adaptif dan bawaan.¹⁵⁷

Pada penelitian Bobo dkk., tidak menemukan hubungan patogenesis atresia bilier dengan infeksi Rotavirus.¹⁵⁸ Selaras dengan hal tersebut oleh Rienpenhoff-Talty dkk., bahwa infeksi Rotavirus A tidak ditemukan pada sampel atresia bilier.¹⁵² Akan tetapi bahwa penyebab kejadian atresia bilier disebabkan oleh faktor lingkungan seperti virus yang beragam akan bekerja pada *host* yang secara genetik rentan untuk merangsang terjadinya respons imun oleh epitel bilier.¹⁵⁸

Setelah infeksi Rotavirus, sel imun yang diaktifkan (Th1) bermigrasi ke organ yang terinfeksi dan dapat memicu autoimunitas melalui mekanisme yang diusulkan oleh Gomez dkk. Molekuler Mimikri menjelaskan aktivasi reaksi silang sel Th1 yang mengenali peptide Rotavirus dengan melepaskan sitokin dan kemokin, mengambil dan

mengaktifkan sel T sitotoksik (CTL), kemudian memediasi kerusakan jaringan. Pelepasan antigen jaringan yang kemudian mengaktifkan APC dan melanggengkan proses autoimun. Aktivasi sel Th1 nonspesifik dan aktivasi sel Th1 spesifik Rotavirus menyebabkan peradangan dan menghasilkan peningkatan infiltrasi sel Tsitotoksik (CTL), yang memediasi perusakan jaringan dan pembebasan antigen dan reaksi aktivasi sel Th1 dengan mekanisme yang bergantung pada TCR (*T-cell reactive*) yang diaktifkan dengan cara memediasi kerusakan jaringan dan terjadi respons autoimun.¹⁵⁹



GAMBAR 2.14 Mekanisme yang diusulkan untuk autoimunitas yang dipicu oleh Rotavirus.¹⁵⁹

Menurut hipotesis Riepenhoff-Tatty bahwa penyebaran Rotavirus secara efisien hanya dilakukan melalui kontak intim yang dekat, seperti

persalinan pervaginam oleh ibu yang terinfeksi atau kontak dekat dengan saudara kandung yang terinfeksi.¹⁵² Infeksi virus pada epitel saluran empedu menghasilkan inflamasi dan mediator inflamasi yang merupakan gangguan awal dan dengan cepat menyebabkan edema dan penyempitan saluran empedu ekstrahepatik yang tidak dapat diubah (dalam banyak kasus, sistem intrahepatik juga). Ketidakmatangan sistem kekebalan neonatus dikombinasikan dengan stadium akut infeksi, lengkap dengan pelepasan sejumlah besar virus, memungkinkan terjadinya infeksi dengan patologi yang dihasilkan. Tingkat prevalensi Rotavirus di atresia bilier tercatat berkisar dari 0% menjadi 15% untuk Rotavirus A dan 40% untuk Rotavirus C.⁶⁸ Berbeda dengan virus lain yang diulas, pada Rotavirus memiliki vaksin RotaShield®, namun beberapa penelitian yang dilakukan sebelum vaksin itu tersedia.^{152,159,160}

Deteksi Rotavirus pada Atresia Bilier

Spesifik diagnosis dari infeksi Rotavirus A dibuat dengan menemukan virus di tinja oleh enzim *immunoassay* (ELISA), metode lain seperti mikroskop elektron dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang digunakan dalam penelitian laboratorium. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dapat mendeteksi dan mengidentifikasi semua spesies dan serotipe Rotavirus manusia. Pemeriksaan IgA spesifik Rotavirus dari sampel serum pada anak dengan atresia bilier yang berusia kurang dari 2 bulan (sebelum vaksin pertama Rotavirus), tes tersebut dapat mendeteksi infeksi primer pada anak-anak dan dapat bertahan selama berbulan-bulan, tidak terpengaruh oleh antibodi ibu. Sehingga pemeriksaan IgA spesifik Rotavirus berguna dalam skrining untuk bukti infeksi neonatal.¹⁵³

Deteksi virus pada jaringan hepar harus lebih hati-hati untuk menyimpulkan karena adanya replikasi virus yang terjadi bisa karena tidak ada hubungannya dengan kerusakan atresia bilier.¹⁵³ Pada

pemeriksaan menggunakan antibodi Rotavirus IgM Rota A dan C, tingkat prevalensi Rotavirus tercatat berkisar 0–15% untuk Rotavirus C dan 40% untuk Rotavirus A,¹⁶⁰ namun hasil tersebut bisa kemungkinan positif palsu karena belum dilakukan gen sekuensing.⁶⁸

TABEL 2.8 Beberapa penelitian pada atresia bilier berkaitan dengan infeksi Rotavirus.

Peneliti	Sampel	Metode Pemeriksaan	Hasil
Clemente (2015)	<ul style="list-style-type: none"> – 40AB (62 ± 29 hari, rata-rata 4,7-13 minggu) – 38 cholestasis tanpa BA (62 ± 44 hari rata-rata 3-15,8 minggu) 	Antibodi Rotavirus A dan C	BA: IgM+ Rota A 4-16/40 (10–40%) IgM+ Rota C 0-6/38 (0-15%) Kontrol: IgM+ Rota A 7-14/38 (18-37%) IgM+ Rota C 1-9/38 (3-24%)
Rauschenfels (2009)	64AB (19-149 hari)	RT-PCR	Rotavirus 0/64 (0%)
Bobo dkk. (1997)	10 AB 14 kontrol	RT PCR-EIA	Rotavirus A, B, C 0/10 (0%) Kontrol 0/14 (0%)
Riepenhoff-Talty dkk. (1996)	<ul style="list-style-type: none"> – 19 AB (24 hari-103 hari) – 10 kontrol (21 hari-230 hari) 	Nested RT-PCR Nested RT-PCR	Rotavirus C 9/18 (50%) Rotavirus A 0/10 (0%) Kontrol 0/10 (0%)

Virus Lain pada Atresia Biliar

Beberapa kemungkinan virus lain yang terlibat dalam etiologi dan patogenesis pada atresia bilier meliputi human herpes virus, human papilloma virus, adenovirus, Epstein-Barr virus, Hepatitis B virus, Parvovirus B19.^{161,68}

Virus EBV (*Epstein-Barr virus*) adalah famili herpesviridae yang dikenal sebagai penyebab infeksi mononukleosis. Infeksi diperoleh selama masa kanak-kanak, dengan gejala yang asimtomatik

dibandingkan saat terinfeksi saat dewasa. Infeksi intrauteri jarang terjadi karena lebih sedikit dari 5% wanita hamil terpapar (seronegatif). Penelitian yang menghubungkan kejadian atresia bilier dengan infeksi EBV memiliki bukti yang lemah.¹⁸ Penelitian menunjukkan infeksi EBV pada pasien dengan atresia bilier mulai dari 0% hingga yang tertinggi 40%.¹⁶² Dua penelitian yang menggunakan kelompok kontrol, keduanya menunjukkan seroprevalensi 0%.^{163,106} Sedangkan menurut Fjaer RB dkk., infeksi EBV pada pasien atresia bilier sebesar 12,5%, di mana EBV terdeteksi pada epitel bilier yang menunjukkan bahwa virus mampu menembus dan mereproduksi. Akan tetapi hal ini belum bisa membuktikan keterlibatan EBV pada atresia bilier.¹¹⁴

Pada penelitian domiati ditemukan Human herpes virus 6 terdeteksi pada 5 sampel pasien kolestasis dengan metode pemeriksaan analisis PCR, dan 2 sampel pada sediaan biopsi hati yang diperiksa secara histologis ditemukan sebagai atresia bilier.¹⁶³

Penularan prenatal virus hepatotropik termasuk HCV dan HBV jarang terdeteksi pada bayi dengan gejala subklinis. Mikroskopis elektron pada evaluasi jaringan dari pasien dengan atresia bilier menunjukkan adanya inklusi intranuklir dari HCV.¹⁶⁴ Akan tetapi menurut Kader dkk., tidak ditemukannya infeksi HBV dan HCV pada pasien atresia bilier, dengan menggunakan pemeriksaan ELISA, RIBA, dan PCR.¹⁶⁵ Tidak ada hubungan yang meyakinkan antara atresia bilier dan infeksi virus hepatotropik (hepatitis A, B, dan C) pada beberapa literatur.¹⁶¹

Dan berbagai jenis adenovirus memiliki potensi untuk menginfeksi hepar pada neonatus, akan tetapi hubungan pathogenesis atresia bilier belum bisa dikonfirmasi. Menurut penelitian Yaghoobi dkk., dengan menggunakan sampel biopsi atau otopsi jaringan hati yang telah diawetkan "*formalin fixed paraffin embedded (FFPE)*" dan menggunakan metode pemeriksaan PCR, RT-PCR, dan IHC didapatkan infeksi HCV, HBV dan Adenovirus pada sediaan FFPE¹⁶⁴. Dan pada penelitian

Rauschenfels, dari 74 sampel biopsi hepar ditemukan hanya 1 sampel terdeteksi infeksi adenovirus, dan beberapa virus lain (tabel 7)¹⁵¹.

Pada penelitian di Argentina menemukan bukti bahwa DNA human papillomavirus (HPV) dalam jaringan hepar yang diawetkan dari 16 dari 18 pasien atresia bilier dibandingkan 30 pasien kontrol (spesimen otopsi yang disesuaikan dengan usia dari pasien dan tanpa penyakit hepar). Sedangkan pada penelitian domiati-saad, dari 9 sampel biopsi hepar pada atresia bilier tidak terdeteksi human papilloma virus.¹⁶³

Pada Parvovirus-19 merupakan virus yang bisa ditransmisikan oleh plasenta, sehingga bisa menyebabkan infeksi pada janin, dan bisa juga ditransmisikan dari darah donor yang terinfeksi virus tersebut. Pada penelitian Yoto Yuko, menghubungkan kemungkinan mekanisme keterkaitan dari infeksi virus Parvovirus-19 pada penyakit hati, 14 sampel dari 110 sampel pasien hepatitis akut postif terhadap infeksi Parvovirus B-19.¹⁶⁶ Akan tetapi pada beberapa penelitian keterlibatan Parvovirus B-19 tidak menunjukkan keterkaitannya dengan kejadian atresia bilier. Studi sebelumnya menyebutkan bahwa tidak ada satupun sampel biopsi hepar pasien atresia bilier yang menunjukkan infeksi Parvovirus B-19,¹⁶³ begitu pula pada penelitian Rauschenfels menunjukkan tidak ada infeksi Parvovirus B-19 pada 74 sampel biopsi hepar pada pemeriksaan menggunakan RT-PCR.¹⁵¹

TABEL 2.9 Beberapa penelitian atresia bilier berkaitan dengan infeksi virus lain.

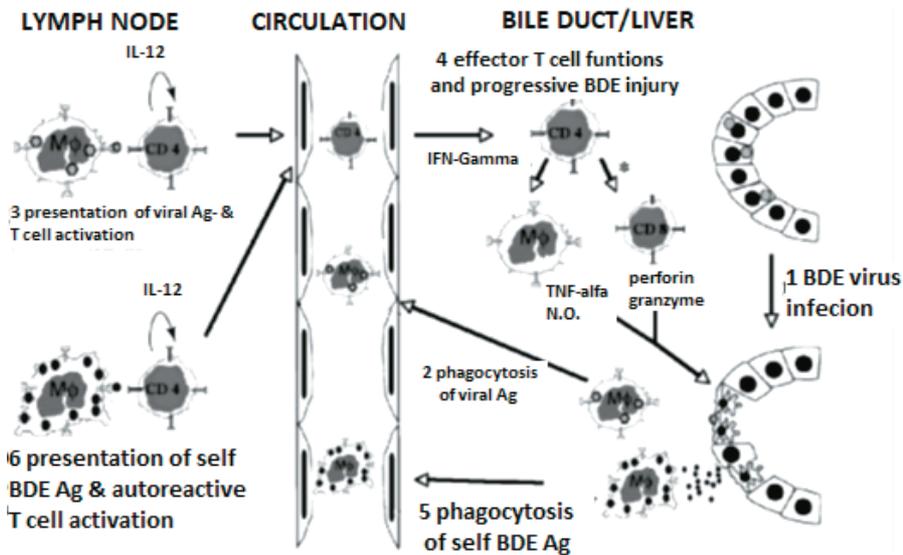
Peneliti	Sampel	Metode pemeriksaan	Hasil
Domiat Saad (2000)	9 sampel (1 bulan–4 tahun, rata-rata 12 bulan)	PCR (biopsi hati) Pemeriksaan histologi (biopsi hati)	Atresia Biliar: 0/9 (0%) HPV 0/9 (0%) EBV 1/9 (%)CMV 2/9 (%) HHV6 0/9 (0%) Parvovirus B-19

Peneliti	Sampel	Metode pemeriksaan	Hasil
Fjaer (2005)	10 sampel, (48-102 hari, rata-rata 74 hari)	RT-PCR (biopsi hati -serum), pemeriksaan antibodi serum	Atresia bilier: 4/10 (40%) EBV
Mahjoub (2008)	16 sampel, (36-152 hari, rata-rata 72 hari)	<i>Chromogenic in situ hybridization</i> (CISH) (biopsi hati dan epitel bilier)	Atresia bilier: 2/16 (12.5%) EBV
Rauschenfels (2009)	74 sampel, (19-149 hari, rata-rata 56 hari)	RT-PCR for BNRF-1 gene (biopsi hati)	Atresia bilier: 0/74 (0%) EBV 0/74 (0%) Parvovirus B-19 1/74 (1%) Adenovirus 0/74 (0%) HPV
Yaghobi R (2011)	34 sampel formalin <i>fixed paraffin embedded</i> (biopsi dan autopsi jaringan hepar neonatus dengan atresia bilier)	PCR dan RT-PCR, Immunohistochemistry (IHC)	HBV: 3/34 (9%) HCV: 2/34 (6%) Adenovirus: 2/34 (6%)
Xu (2012)	85 sampel (12-180 hari, rata-rata 56 hari)	RT-PCR (biopsi hati)	Atresia Biliar: 3/85 (3.5%) EBV

2.11 MEKANISME IMUNOLOGI ATRESIA BILIER

Saat ini semakin banyak ahli berpendapat bahwa BA bukanlah suatu penyakit tunggal melainkan dihasilkan dari sejumlah fenotipe klinis yang berbeda, meskipun dengan etiologi belum diketahui dengan pasti.^{58,167} Pandangan saat ini tentang patogenesis BA, diduga melibatkan baik infeksi virus hepatobilier perinatal primer dan kerusakan sekunder dari saluran empedu yang dimediasi oleh proses autoimun. Dalam skenario ini, infeksi perinatal oleh virus pada epitel saluran empedu akan menyebabkan apoptosis atau nekrosis dini

kolangiosit. Meskipun sudah terjadi pembersihan virus, peradangan menetap dan kerusakan epitel saluran empedu tetap berlangsung.⁷⁰ Sel-sel epitel saluran empedu yang rusak dapat mengekspresikan antigen yang sebelumnya diasingkan "self" dan dikenali sebagai benda asing, sehingga menimbulkan peradangan autoreaktif yang dimediasi sel-T pada epitel duktus. Mekanisme autoimunitas yang diinduksi virus tersebut dikenal sebagai *bystander activation pathway*.¹⁶⁸ Kemungkinan lain, protein virus mungkin secara struktural mirip dengan protein epitel saluran empedu sehingga dapat menyebabkan autoimunitas berdasarkan *molecular mimicry*. Proses ini memerlukan aktivasi sel T sebagai respons terhadap antigen mikroba disertai reaktivitas silang terhadap antigen "self". Respons imun di atas menyebabkan terjadinya kolangitis, obstruksi saluran empedu, dan sirosis bilier pada akhirnya.⁷²



GAMBAR 2.15 Usulan model BA yang diinduksi virus, autoreaktifitas dimediasi sel T menyebabkan kerusakan epitel saluran empedu.⁷²

Infeksi virus pada epitel saluran empedu (*bile duct epithel/BDE*) (1) menyebabkan kerusakan awal pada sel epitel. Partikel virus difagosit oleh makrofag atau sel dendritik; (2) disajikan pada sel T naive dalam kelenjar getah bening lokal dimana aktivasi dan proliferasi yang dirangsang IL-2 dari sel T CD4+ spesifik virus selanjutnya terjadi; (3) Sel T CD4+ yang diaktifkan kembali ke tempat asal terjadinya paparan dan mengaktifkan fungsi sel -T efektor; (4) selain itu juga terjadi stimulasi dan aktivasi sel T CD8+ sitotoksik oleh IFN- γ yang diinduksi makrofag. Makrofag melepaskan TNF- α , oksida nitrat (NO), dan spesies oksigen reaktif (ROS). Sementara sel T CD8+ melepaskan granzime dan perforin, yang bersama-sama mengakibatkan kerusakan lebih lanjut BDE melalui jalur apoptosis atau nekrotik. Antigen BDE yang sebelumnya diasingkan atau diubah, dilepaskan dari tempat kerusakan awal difagosit oleh makrofag atau sel dendritik dan disajikan ke sel T autoreaktif (5); menyebabkan aktivasi lebih lanjut kaskade kekebalan tubuh diperantarai sel T tersebut; (6) dan kerusakan BDE secara progresif.⁷²

Adanya infiltrasi sel mononuklear pada saluran porta bayi dengan BA, menggambarkan suatu proses inflamasi primer yang dapat berujung pada penyumbatan saluran empedu. Studi awal menunjukkan infiltrasi limfosit pada jaringan ikat dari porta hepatis pada anak dengan BA dan hubungan antara sel-sel inflamasi mononuklear intramural dan nekrosis sel epitel pada sisa-sisa saluran empedu. Kemudian diketahui bahwa degenerasi saluran empedu intrahepatik berhubungan dengan infiltrasi limfosit pada epitel saluran empedu.⁷⁰

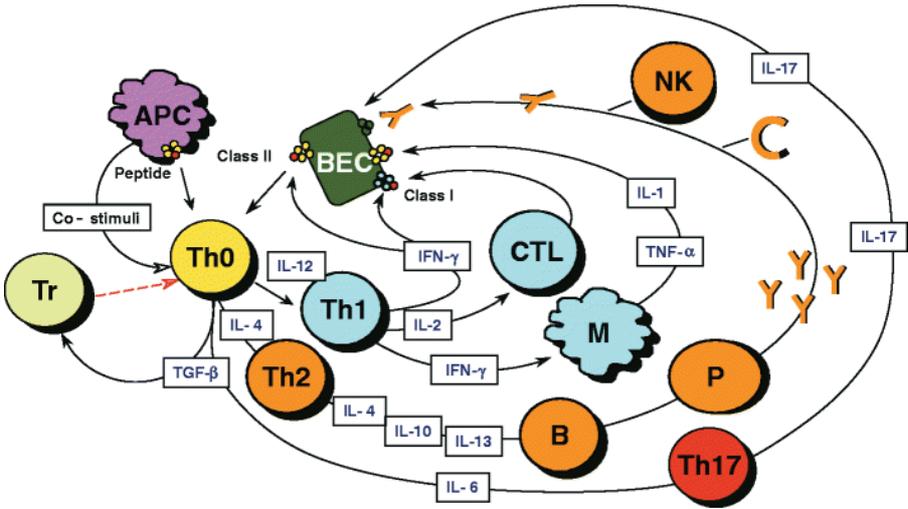
Sejumlah studi yang menggunakan model atresia bilier mencit yang diinduksi Rotavirus telah membuktikan kerusakan saluran empedu dimulai oleh infeksi virus, diikuti oleh respons autoimun saluran empedu.^{4,69,169,170} Salah satu bukti mekanisme autoimunitas adalah berkurangnya jumlah atau fungsi sel T regulator (Treg). Defisiensi Treg pada atresia bilier menggambarkan berkurangnya hambatan

pada peradangan dan autoreaktivitas, yang berpotensi terjadinya kerusakan saluran empedu yang sangat serius.¹⁷⁰ Kekurangan jumlah Treg dan atau tidak berfungsinya Treg bisa mengakibatkan respons inflamasi berlebihan di lokasi infeksi virus saat ini, yang menyebabkan cedera saluran empedu “*bystander*”. Selanjutnya, defisit Treg dapat meningkatkan kecenderungan untuk autoimunitas saluran empedu selanjutnya. Dengan demikian, defisit Treg beredar dalam atresia bilier mungkin bisa mengarah ke cedera saluran empedu radang dan atau dimediasi autoimun secara berlebihan.¹⁷⁰

Mekanisme kerusakan saluran empedu yang diinduksi sel-sel kekebalan tubuh hingga saat ini masih belum jelas.⁷¹ Mekanisme interaksi sistem kekebalan dan patogen yang dipercayai hingga saat ini bahwa paparan virus atau racun pada epitel empedu berakibat pada perubahan atau ekspresi antigen baru. Pada individu yang rentan, peptida dari neoantigen tersebut akan disajikan ke limfosit T naif oleh *antigen-presenting cell* (APC) atau langsung oleh sel epitel empedu yang mengekspresikan diri menjadi *antigen-presenting* molekul HLA kelas I dan II. Sebagai catatan, penderita dengan BA memiliki peningkatan jumlah populasi makrofag hati/sel Kupfer yang dapat bertindak sebagai APC.^{171,172} Limfosit Th 1 primer kemudian mengatur respons imun yang merusak, secara langsung melalui pelepasan sitokin pro-inflamasi dan perekrutan sel T sitotoksik, menyebabkan cedera epitel empedu, fibrosis saluran progresif dan akhirnya oklusi dari saluran-saluran empedu ekstrahepatik. Meskipun jalur Th 1 saat ini diyakini sebagai mekanisme patogen yang mendasari, namun terdapat juga bukti keterlibatan jalur Th 2. Belum ada informasi peran sel proinflamasi Th 17 yang akhir-akhir ini banyak diteliti.¹⁷³

Peptida antigen baru atau yang diubah disajikan pada limfosit T helper naif (Th 0) dalam molekul HLA kelas II oleh *antigen-presenting cell* (APC). Sel Th 0 menjadi aktif, dan sesuai dengan keberadaannya di lingkungan mikro IL-12 atau IL-4 dan sifat antigen, berdiferensiasi

menjadi Th 1 atau Th 2 dan memulai serangkaian reaksi kekebalan ditentukan oleh sitokin yang dihasilkan: Th 2 terutama mengeluarkan IL-4, IL-10 dan IL-13 dan produksi langsung autoantibodi oleh limfosit B; Th 1 mensekresi IL-2 dan interferon-gamma (IFN- γ), yang merangsang sel T sitotoksik (CTL), meningkatkan ekspresi HLA kelas I dan menginduksi ekspresi molekul kelas II pada BEC dan mengaktifkan makrofag; makrofag aktif melepaskan IL-1 dan tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α). Jika sel T reg (Tr) tidak melawan, berbagai mekanisme efektor akan dipicu, yaitu: penghancuran BEC bisa berasal dari aktifitas CTL; sitokin-sitokin yang dirilis oleh Th 1 dan perekrutan makrofag; aktivasi komplemen atau keterlibatan dari sel Fc reseptor-bearing seperti sebagai limfosit pembunuh alami (NK) melalui ikatan autoantibodi pada permukaan BEC. Peran sel Th17 yang belakangan diketahui muncul dengan adanya TGF- β dan IL-6 masih dalam penyelidikan.¹⁷³



GAMBAR 2.16 Serangan sistem imun pada sel epitel bilier (BEC).¹⁷³

Penyakit yang dimediasi kekebalan sering berhubungan dengan molekul HLA spesifik, yang membawa peptida antigen kepada limfosit T. Beberapa peneliti menyelidiki kecenderungan HLA yang mungkin pada penderita BA. Laporan awal pada penderita BA dengan jumlah yang relatif kecil mendapatkan bahwa kepemilikan *allotype* HLA-B12 (49% penderita BA; 23% kontrol) dan *haplotype* A9-B5 dan A28-B35 dapat menyebabkan rentan terhadap BA non-BASM pada populasi Eropa, namun peneliti lain tidak bisa mengulangi temuan tersebut dan sebuah studi menggunakan teknik molekuler yang lebih sensitif pada penderita anak-anak Eropa dalam jumlah yang lebih besar, tidak mendeteksi adanya keterlibatan HLA.¹⁷⁴ Sebuah studi di Mesir menunjukkan peningkatan frekuensi HLA-B8 dan DR3 pada 18 anak-anak dengan BA, dan 10 penderita yang memiliki *haplotype* B8/DR3 berhubungan dengan hepatitis autoimun, *primary sclerosing cholangitis* dan *inflammatory bowel disease*. Data yang tersedia tidak cukup kuat mendukung hubungan antara HLA dan BA, sehingga diperlukan penelitian yang lebih besar pada penderita dari etnik yang berbeda.¹⁷⁵

Berkaitan dengan proses imunologis yang dirancang oleh sel Th, limfosit T CD4 banyak ditemukan dalam hati dan saluran empedu ekstrahepatik penderita BA. Sel-sel tersebut mungkin terakumulasi dalam hati melalui ekspresi suatu molekul adhesi, yang juga dapat menjelaskan tingginya jumlah sel NK (CD56+) dalam infiltrat inflamasi.¹⁷⁶ Menggunakan teknik *microarray* DNA, Bezerra dkk., 2002 menemukan *up-regulation* gen pengkode sitokin Th 1, seperti IFN-gamma, dan *down-regulation* gen pengkode sitokin Th 2.¹⁷⁷ Dalam patogenesis BA dugaan keterlibatan Th 2 didasarkan pada ditemukan autoantibodi sirkulasi, termasuk antibodi anti sitoplasma neutrofil (ANCA) dan antibodi terhadap *alpha-enolase* dan vimentin pada penderita.^{4,178} Didapatkan juga bukti bahwa sel epitel empedu pada BA mengalami peningkatan apoptosis yang dipicu oleh ekspresi Fas ligan.^{172,179}

Studi longitudinal tentang mediator peradangan terlarut yang dilaporkan atau diasumsikan terlibat dalam patogenesis BA, meliputi molekul adhesi dan sitokin pro dan antiinflamasi, dilakukan pada 21 bayi dengan BA saat portoenterostomi Kasai dan 6 bulan setelah itu.¹⁸⁰ Sebagai kontrol, penyakit kolestasis neonatal dan bayi lain tanpa penyakit hati. Didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan pada kadar sitokin awal antara BA dan kontrol, namun IL-2 dan IL-10 secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol penyakit kolestasislain. Molekul adhesi interseluler terlarut 1 (sICAM-1) kelompok BA secara substansial lebih tinggi dibandingkan dengan dua kelompok kontrol. Dalam 6 bulan pertama setelah portoenterostomi, semua sitokin plasma dan kadar molekul adhesi meningkat secara signifikan, kecuali IL-10. Disimpulkan bahwa proses peradangan pada BA bersifat progresif dan melibatkan baik Th nonpolarisasi dan respons imun makrofag yang tidak dapat diperbaiki meskipun dengan portoenterostomi.¹⁸⁰ Di antara modulator imun sirkulasi yang diselidiki, sICAM-1 plasma merupakan biomarker terbaik untuk keparahan BA, kadar total bilirubin berkorelasi secara signifikan positif dengan kadar sICAM-1 pada 1, 3, dan 6 bulan setelah operasi. Selain itu, tingkat *cut-off* serum sICAM-1 1779 ng/mL pada 1 bulan setelah portoenterostomi Kasai diperkirakan membutuhkan transplantasi pada tahun pertama kehidupan dengan sensitivitas 87% dan spesifisitas 92%, menunjukkan bahwa kadar sICAM plasma dapat digunakan sebagai penanda perkembangan penyakit dan hasil pada BA. Penelitian sebelumnya juga menjelaskan adanya peningkatan ekspresi ICAM-1 dalam jaringan hati bayi dengan BA, suatu molekul adhesi yang berasosiasi dengan integrin, sehingga memediasi interaksi sel-sel dan memulai transduksi sinyal,¹⁸¹ sedangkan penelitian lebih lanjut melaporkan korelasi yang signifikan umur saat dilakukan operasi dengan kadar sICAM serum.¹⁸²



BAB 3

Inflamasi pada Atresia Bilier

Semakin banyak bukti baik studi pada penderita maupun hewan coba bahwa inflamasi memainkan peran penting dalam patogenesis kerusakan hati dan saluran empedu pada atresia bilier. Namun hingga saat ini masih belum jelas apa yang memicu inflamasi tersebut, dan bagaimana kaitannya dengan faktor-faktor lain yang diduga berperan dalam patogenesis. Meskipun inflamasi merupakan mekanisme yang paling dipercayai terlibat dalam patogenesis berdasarkan studi pada manusia dan hewan coba, namun pengobatan antiinflamasi tidak secara seragam dapat memperbaiki perjalanan klinis penderita. Di antara alasan potensial hasil tersebut adalah kurangnya keseragaman tahapan penyakit pada saat diagnosis.⁶¹

Beberapa studi telah membuktikan bahwa terdapat peran proses imunologi pada patofisiologi BA. Mack dkk., mempelajari

jaringan hati pasien dengan BA dibandingkan dengan subjek kontrol normal. Pemeriksaan imunohistokimia dengan sel T CD8, CD4, dan histiosit (CD68) menunjukkan peningkatan infiltrat sel inflamasi portal di BA. Analisis jaringan BA menunjukkan profil sitokin tipe Th1 dengan ekspresi *interleukin* (IL)-2, *interferon- γ* (IFN- γ), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), dan IL-12 adalah berbeda dengan kontrol hati normal, kista koledochal atau hepatitis sel raksasa neonatal. Hal ini menunjukkan bahwa peradangan pada BA bukan merupakan respons sekunder terhadap kolestasis, melainkan menunjukkan adanya respons imun spesifik yang terlibat.¹⁸³ Zhang dkk., mempelajari infiltrasi subset sel T CD4+ dan signifikansi klinisnya pada tingkat infiltrasi subset sel T CD4+ T di area portal. Studi tersebut mendemonstrasikan adanya infiltrasi Th1, Th2, Th17, dan sel *inducible costimulator* (ICOS)+ *T regulator* (Treg) meningkat secara signifikan pada jaringan hati pasien BA dibandingkan dengan kontrol dan dikaitkan dengan prognosis yang buruk. Shinkai dkk., melakukan pemeriksaan kuantitatif *reverse transcription polymerase chain reaction* (rt-PCR) untuk mengidentifikasi peradangan dengan mengukur kepadatan limfosit dan ekspresi sitokin Th1 seperti IL-2 dan TNF- α dalam biopsi hati pasien BA. Hasil studi tersebut menunjukkan peningkatan limfosit CD8+ dan ekspresi IL2 *messenger ribonucleic acid* (mRNA) yang signifikan dalam spesimen biopsi hati bayi dengan BA dibandingkan dengan gangguan kolestatik lainnya.¹⁸⁴

Studi di RSUD Dr Soetomo, Surabaya pada sampel biopsi hati bayi kolestasis usia 1–12 selama periode 6 bulan diambil untuk dilakukan pengecatan HE untuk penentuan diagnosis atresia bilier dan bukan atresia bilier, serta pemeriksaan imunohistokimia (IHK) untuk penghitungan jumlah sel CD4+/FoxP3+ dan CD4+/IL-17+. Dari 34 sampel didapatkan 20 bayi atresia bilier dan 14 bayi bukan atresia bilier. Hasil pemeriksaan IHK menunjukkan jumlah sel CD4+/FoxP3+ pada kelompok atresia bilier lebih rendah dibanding bukan atresia

bilier (median: 6 vs. 14 sel per lapangan pandang (sel/lp); $p < 0,001$); sedangkan jumlah sel CD4+/IL-17+ pada kelompok atresia bilier lebih tinggi dibanding pada kelompok bukan atresia bilier (median: 7 vs. 5 sel/lp; $p = 0,04$). Jumlah sel CD4+/FoxP3+ lebih rendah sedangkan jumlah sel CD4+/IL-17+ lebih tinggi pada bayi kolestasis dengan atresia bilier dibanding bayi yang bukan menderita atresia bilier.¹⁸⁵

3.1 STUDI PADA MANUSIA

Beberapa studi berbasis penderita menunjukkan peran sistem kekebalan tubuh dalam patogenesis kerusakan epitel dan penyumbatan saluran. Sebagai contoh, *pyknosis*, dan nekrosis kolangiosit berkaitan dengan infiltrasi sel mononuklear pada saluran empedu interlobular, saluran lebih besar di portal hepatis, dan sisa-sisa saluran empedu ekstrahepatik, beberapa di antaranya adalah sel limfosit T CD8+.^{74,186} Sel CD4 + juga banyak ditemukan di hati dan berkaitan dengan penanda aktivasi proinflamasi, seperti *interferon-gamma* (IFN γ), interleukin-2, reseptor CD25 interleukin-2, *tumor necrosis factor-alpha* (TNF α), dan reseptor transferin CD71.^{58,176,187} Bukti peran efektor limfosit T berasal dari laporan bahwa sisa-sisa hati dan saluran empedu penderita dengan atresia bilier memiliki ekspansi oligoklonal sel T CD4 + dan CD8 +.⁷²

Bukti lebih lanjut dari status proinflamasi berasal dari analisis ekspresi gen skala besar dari biopsi hati bayi dengan atresia bilier. Pendekatan ini mengidentifikasi jejak genetik gen yang terlibat dalam respons Th1 yang diaktifkan pada tahap awal atresia bilier, dengan penekanan secara simultan tetapi bersifat sementara pada penanda imunitas humoral.¹⁷⁷ Penelitian lain melaporkan peningkatan jumlah dan aktivasi sel Kupfer, serta ekspresi antigen HLA-DR dari MHC kelas II dalam hati bayi dengan atresia bilier.^{171,176}

Studi berbasis penderita sering menimbulkan hipotesis yang memerlukan pengujian langsung menggunakan model sistem *in vitro*

atau hewan coba untuk memperkuat argumen kausalitas. Sebagai contoh, ekspresi menyimpang HLA-DR oleh kolangiosit mungkin menyebabkan adanya suatu *antigen-presenting*, tapi pengujian laboratorium hipotesis ini tidak menemukan bukti bahwa kolangiosit yang terinfeksi virus menginduksi proliferasi limfosit.¹⁸⁸ Oleh karena itu, pengamatan pada jaringan manusia harus divalidasi oleh penelitian mekanistik di laboratorium.

3.2 STUDI PADA HEWAN COBA

Terjadinya obstruksi saluran empedu pada mencit baru lahir yang terinfeksi Rotavirus Rhesus tipe A (RRV) menjadikan penggunaan model ini dalam berbagai studi mekanistik atresia bilier.^{189,190,191,192} Model ini memberikan kesempatan melakukan pemeriksaan langsung saluran empedu ekstrahepatik untuk menyelidiki berbagai tahapan kerusakan dan perkembangannya menjadi obstruksi luminal, hal tersebut tidak dapat dilakukan pada manusia karena telah terjadi fibrosis saluran empedu saat didiagnosis. Isolasi sel mononuklear dari hati dan saluran empedu ekstrahepatik mencit baru lahir yang terinfeksi Rotavirus rhesus diaktifkan untuk pertama kalinya kuantifikasi sel-sel mononuklear dan peningkatannya setelah infeksi Rotavirus rhesus.^{69,193}

Pola ekspresi gen pada model mencit yang diinduksi RRV menunjukkan banyak gambaran klinis-patologis yang mirip penyakit pada manusia.

Pola ekspresi pada model mencit yang diinduksi RRV menunjukkan banyak kemiripan baik dalam gambaran klinis dan histopatologis, maupun reaksi imunologis dengan yang terjadi pada penderita atresia bilier.⁹⁷

Pada mencit, model atresia bilier yang diinduksi Rotavirus rhesus, lesi saluran bilier yang terjadi berhubungan dengan Th1 yang memediasi

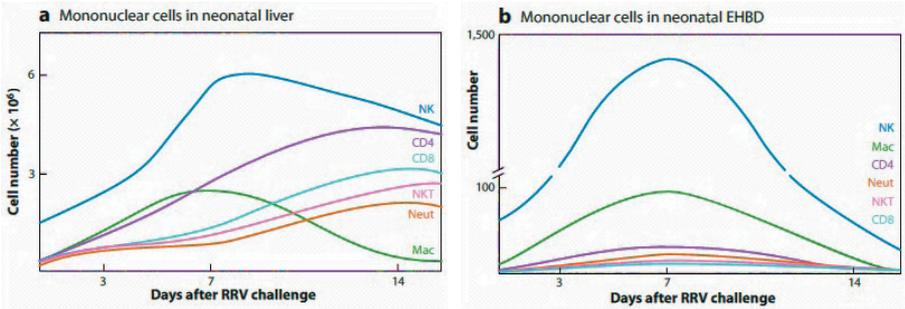
inflamasi dan spesifiknya dengan sel-sel T autoreaktif epitel saluran bilier,¹⁶⁹ juga disebutkan bahwa infeksi virus pertama menginduksi sel T autoreaktif yang memediasi kerusakan epitel saluran bilier yang tetap berlanjut meskipun virus sudah tidak ada.⁷²

TABEL 3.1 Perbandingan fenotipe klinis, histologis, dan imunologis atresia bilier antara manusia dan model eksperimental mencit Rotavirus.⁹⁷

Presentasi	Manusia	Model mencit
Awitan gejala	Terestriksi pada masa neonatal	Terestriksi pada masa neonatal
Ikterus	Ya	Ya
Tinja pucat	Ya	Ya
Virus penyebab	Rotavirus, Reovirus, HPV, CMV, dan lainnya.	Rotavirus
Proliferasi duktus biliaris	Ya	Ya
Inflamasi portal	Ya (intensitas bervariasi)	Ya
Fibrosis	Umumnya sudah terbentuk saat presentasi	Belum terbentuk sampai tahap lanjut penyakit
Epitel cedera pada EHBD	Ya	Ya
Obstruksi pada EHBD	Ya	Ya
Kelainan non hepatic	Ya (tipe embrionik)	Ya
Sel CD4 ⁺ hepatic	Meningkatkan jalur Th 1	Meningkatkan jalur Th1
Sel T CD8 ⁺ hepatic	Meningkat, teraktivasi	Meningkat, teraktivasi
Makrofag hepatic	Meningkat, teraktivasi	Meningkat, teraktivasi
Apoptosis	Epitel bilier	Epitel bilier
Penanda Molekuler	Hati: jalur Th1 EHBD: belum ada studi	Hati: jalur Th1 EHBD: jalur Th1

Model ini memberikan kesempatan melakukan pemeriksaan langsung saluran empedu ekstrahepatik untuk menyelidiki berbagai tahapan kerusakan dan perkembangannya menjadi obstruksi luminal, yang

hal tersebut tidak dapat dilakukan pada manusia karena telah terjadi fibrosis saluran empedu saat di diagnosis. Isolasi sel mononuklear dari hati dan saluran empedu ekstrahepatik mencit baru lahir yang terinfeksi RRV maupun tidak memungkinkan untuk pertama kalinya kuantifikasi sel mononuklear dan peningkatannya setelah infeksi RRV.^{194,195} Analisis sel mononuklear hati dan saluran empedu menunjukkan gambaran pola infiltrasi yang mirip dengan penyakit pada manusia (Gambar 17).

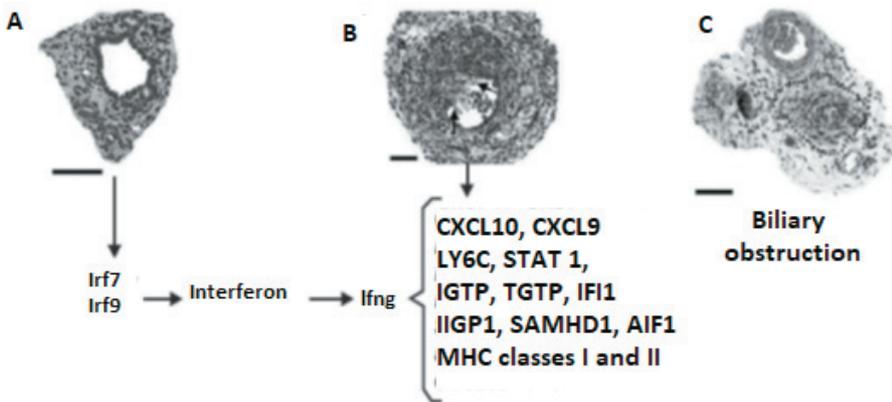


GAMBAR 3.1 Infiltrasi jaringan oleh sel mononuklear setelah paparan Rotavirus jenis Rhesus (RRV).⁶¹

Grafik menggambarkan perubahan dalam jumlah sel-sel mononuklear dari mencit Balb/c pada fase awal (3 hari) setelah paparan RRV pada hari pertama kehidupan, pada saat inflamasi obstruktif saluran empedu ekstrahepatik (7 hari), dan atresia (14 hari).⁶¹

Secara histopatologis, Carvalho (2005) menggambarkan tahapan proses terjadinya atresia bilier pada mencit yang diinduksi RRV. Dimulai dengan gambaran kolangitis awal yang ditandai dengan adanya infiltrasi inflamasi dalam saluran empedu ekstrahepatik binatang coba yang diterminasi pada hari ke-3 setelah induksi. Infiltrasi inflamasi menjadi lebih hebat hingga menghalangi sebagian lumen saluran empedu, dan terjadi kerusakan pada sel-sel epitel empedu pada hewan

coba yang diterminasi 7 hari. Selanjutnya terjadi obstruksi saluran empedu oleh sel-sel inflamasi dan deposisi matriks ekstraseluler pada hewan coba yang diterminasi 14 hari. Serupa dengan temuan histologis, terdapat pola waktu dalam aktivasi gen, dengan elevasi faktor pengatur interferon (IRF7 dan IRF9) pada hari ke-3, diikuti peningkatan ekspresi IFN-gamma dan gen penginduksi IFN pada hari ke 7.¹⁹³



GAMBAR 3.2 Histologi irisan dari saluran empedu ekstrahepatik dari mencit yang terinfeksi Rotavirus (model hewan atresia bilier).¹⁹³

Gambar di atas menunjukkan tahapan proses terjadinya atresia bilier pada mencit yang diinduksi RRV. (A) Hari ke 3 setelah induksi, gambaran kolangitis awal yang ditandai dengan adanya infiltrasi inflamasi dalam saluran empedu ekstrahepatik. (B) Hari ke 7 setelah induksi, infiltrasi sel-sel inflamasi lebih hebat hingga menghalangi sebagian lumen saluran empedu, dan terjadi kerusakan pada sel-sel epitel empedu (panah hitam). (C) Hari ke 14 setelah induksi, obstruksi saluran empedu (lingkaran putus-putus) oleh sel-sel inflamasi dan deposisi matriks ekstraseluler.¹⁹³

Induksi Rotavirus rhesus pada bayi mencit akan menyebabkan insiden terjadinya atresia bilier yang bervariasi tergantung dosis

pemberian. Insiden terjadinya kolestasis dan atresia bilier oleh karena induksi virus tergantung pada tiga parameter variable, yaitu: strain tikus, waktu induksi, dan dosis aplikasi Rotavirus rhesus. Hasil penelitian mereka menunjukkan bahwa *strain* yang terbaik untuk penelitian adalah balb/c dengan waktu induksi yang memberi insiden kolestasis dan AB tertinggi adalah saat usia 12–24 jam (Tabel 10).¹⁹⁶

TABEL 3.2 Insiden terjadinya kolestasis dan atresia bilier oleh karena induksi virus (*virally induced*).¹⁹⁶

Parameter variabel	Kolestasis	Atresia Biliar
Strain tikus		
Balb/c 55,71	67–85%	67–91%
CD 59	33%	46%
NMRI 59	19%	50%
C57B16 67	13%	100%
Balb/c-IFN gamma-/- 65	90/100%	20%
Balb/c-TNF alpha-/- 68	Tidak ada data	86%
Balb/c-Mx+-A2G 71	65%	65%
WT 129 70	30%	50%
A 129 IFN alpha/beta receptor -/- 70	79%	96%
G 129 IFN gamma receptor -/- 70	39%	86%
AG 129 IFN alpha/beta/gamma receptor -/- 70	70%	96%
Usia saat infeksi		
12-24 jam 65,83	80–86%	90–100%
24-48 jam 55	61–85%	69–91%
48-72 jam 52,53	13–42%	0–17%
Dosis infeksi		
10 ⁷ * pfu ⁶²	100%	100%
10 ⁶ pfu ⁶²	86%	100%
10 ⁵ pfu ⁶²	38%	100%
10 ⁴ pfu ⁶²	0	0

Keterangan: pfu-plaque forming unit

*>10⁶ pfu tidak direkomendasikan karena kemungkinan letal yang lebih tinggi

Tabel di atas merupakan rangkuman berbagai penelitian atresia bilier yang menggunakan model hewan coba mencit yang diinduksi Rotavirus. Dari tabel tersebut didapatkan bahwa perbedaan *strain* tikus, waktu induksi, dan dosis aplikasi Rotavirus rhesus menentukan insiden terjadinya kolestasis dan atresia bilier. Hasil terbaik didapatkan pada *strain* balb/c dengan induksi Rotavirus rhesus sebanyak 10^6 pada 12–24 jam setelah lahir.¹⁹⁶

Sehubungan dengan banyaknya studi laboratorium yang menggunakan mencit sebagai hewan coba, maka penting untuk mengetahui korelasi antara umur mencit dengan manusia. Andreollo (2012) melakukan tinjauan pustaka dan mendapatkan bahwa umur rata-rata mencit 16,7 hari sebanding dengan usia 1 tahun pada manusia (Tabel 11).¹⁹⁷

TABEL 3.3 Korelasi umur hari/tahun mencit dibandingkan manusia.¹⁹⁷

Periode Usia	Umur Mencit (Hari)	= 1 Tahun Manusia
Total lifespan	13,8 hari mencit	= 1 tahun manusia
Nursing period	42,4 hari mencit	= 1 tahun manusia
Prepubescent period	4,3 hari mencit	= 1 tahun manusia
Adolescent period	10,5 hari mencit	= 1 tahun manusia
Adult phase	11,8 hari mencit	= 1 tahun manusia
Aged phase	17,1 hari mencit	= 1 tahun manusia
Average	16,7 hari mencit	= 1 tahun manusia

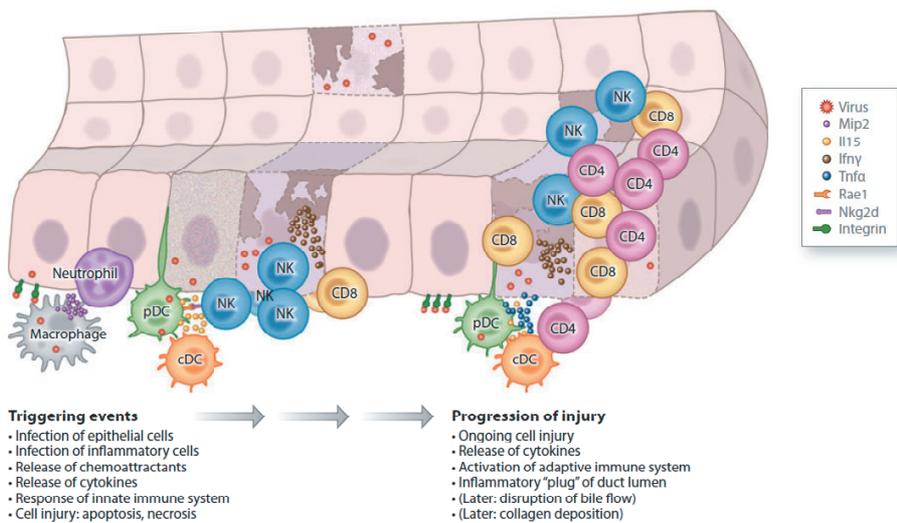
Tabel di atas menunjukkan perbandingan umur mencit dengan manusia pada berbagai tahapan perkembangan, yang dapat digunakan sebagai perhitungan kasar perkiraan umur pada manusia dari hasil studi pada mencit.¹⁹⁷

3.3 MEKANISME KERUSAKAN EPITEL DAN OBSTRUKSI SALURAN

Sebuah efek yang lebih dramatis pada fenotip atresia dihasilkan dari pengurangan sel-sel NK. Dalam eksperimen ini, peneliti pertama menemukan bahwa inkubasi sel NK hati yang diisolasi dari mencit terinfeksi RRV kolangiosit, tidak terjadi lisis ketika reseptor pengaktifan Nkg2d pada sel NK diblokir. Konsisten dengan hal tersebut secara *in vitro*, pengurangan sel NK atau blokade antibodi Nkg2d segera setelah lahir dapat mencegah perkembangan ikterus pada mencit baru lahir yang terinfeksi RRV.¹⁹⁴ Analisis histologis secara detail dari saluran empedu ekstrahepatik mendapatkan hasil epitel yang masih utuh, tanpa kerusakan duktus atau obstruksi. Hal yang menarik bahwa tidak terjadinya kerusakan duktus atau obstruksi walaupun keberadaan virus di hati, menunjukkan RRV saja tidak cukup untuk menghasilkan obstruksi empedu tetapi membutuhkan sel NK dalam merusak kontinuitas epitel duktus dan memulai kaskade kejadian yang menghasilkan fenotip atresia.⁹⁷

Hipotesis yang berlaku bahwa sitokin proinflamasi penting bagi patogenesis atresia bilier telah diuji pada model mencit RRV. Berdasarkan ekspresi berlebih IFN γ dalam hati bayi pada saat diagnosis, mencit baru lahir yang diinokulasi RRV dilakukan mutasi inaktivasi pada gen IFN γ . Pada mencit tersebut, kolestasis yang terjadi bersifat transien, tidak terjadi obstruksi saluran empedu ekstrahepatik, dan kelangsungan hidup meningkat secara substansial. Peningkatan kolestasis setelah induksi RRV juga diamati setelah pemberian antibodi terhadap $\alpha 2$ -*integrin*.¹⁹⁸ Dalam studi lain, baik penghapusan secara konstitutif interleukin-12 atau pengurangan antibodi TNF α setelah terjadinya kolestasis dapat mencegah penyumbatan saluran atau fenotip atresia. Studi ini menunjukkan bahwa pengaruh semua sitokin proinflamasi pada patogenesis tidak dapat diduga, meskipun memiliki tingkat ekspresi mRNA dalam hati yang tinggi.^{189,192}

Dalam studi menggunakan kultur jaringan, kolangiosit yang terinfeksi RRV mengekspresikan berbagai sitokin dan kemokin,^{188,199} tetapi masih pada kadar di bawah ambang batas untuk menginduksi kemotaksis. Sinyal awal berasal dari dua jenis sel lain yang menjadi target RRV, yaitu makrofag dan sel dendritik. RRV terdeteksi di makrofag hati dan diketahui bahwa Mip2/CxCl2 yang disekresikan oleh makrofag menginduksi kemotaksis neutrofil.¹⁹¹ Dalam satu studi, ditemukan juga bahwa sel-sel dendritik berinteraksi virus dan menginduksi proliferasi limfosit T, serta aktivasi sel NK setelah paparan RRV. Secara kolektif, data ini menunjukkan bahwa kehadiran RRV dalam makrofag dan sel dendritik memicu respons inflamasi dengan limfosit efektor dalam proses pembersihan virus, yang menyebabkan kerusakan duktus empedu melalui rangsangan kolangiosit yang terinfeksi. Selain itu, kemampuan sel NK dan limfosit T CD8+ melisis kolangiosit tidak terinfeksi secara molekuler mirip dengan patogenesis otoimun.²⁰⁰



GAMBAR 3.3 Mekanisme cedera epitel pada atresia bilier eksperimental.⁹⁷

Infeksi Rotavirus Rhesus tipe A (RRV) pada kolangiosit dan makrofag sebagai pemicu, dan terjadi pelepasan kemokin Mip2 dan lainnya untuk menarik neutrofil. Segera setelah infeksi, sel dendritik *plasmacytoid* dan konvensional (pDC dan cDC, masing-masing) mengaktifkan limfosit NK, yang merusak kolangiosit melalui keterlibatan langsung dan pelepasan IFN γ dan sitokin lainnya. Perkembangan lebih lanjut terjadi melalui aktivasi pDC dan cDC, ekspansi sel T CD4 + dan CD8 +, serta pembentukan sumbatan inflamasi yang mengganggu aliran empedu dan menyebabkan deposisi kolagen, obstruksi duktus, dan akhirnya atresia. Sel-sel bergranula dan kotak dengan garis putus-putus merupakan gambaran kolangiosit yang rusak (sel-sel epitel duktusempedu).⁹⁷

Dalam upaya mencari landasan seluler hubungan produksi sitokin dan obstruksi empedu, masing-masing sel mononuklear pada mencit baru lahir dihilangkan untuk melihat kontribusinya terhadap fenotipe atresia. Pada studi pertama, hilangnya CD4+ sel menurunkan ekspresi gen Th1 tetapi tidak berpengaruh pada kerusakan duktus dan perkembangan menjadi obstruksi. Sebaliknya, hilangnya sel CD8 + dapat mencegah penyumbatan saluran setelah infeksi Rotavirus, namun memungkinkan terjadinya kolangitis.⁶⁹ Kesamaan antara fenotip yang dihasilkan oleh hilangnya sel CD8 + atau dengan mutasi gen IFN γ menunjukkan bahwa kedua faktor bekerja secara paralel dalam proses penyumbatan saluran.^{69,101}



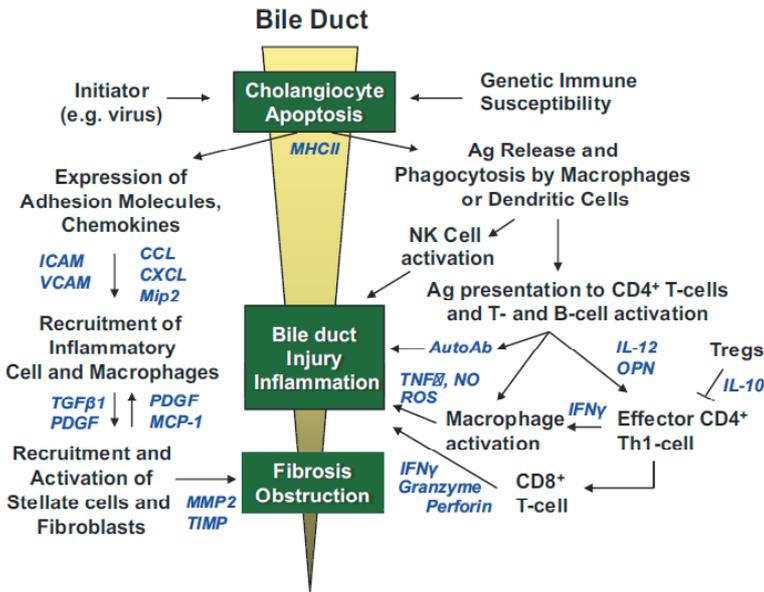
BAB 4

Peran Sistem Imun pada Patogenesis Atresia Bilier

Peran disfungsi sistem imun pada patogenesis atresia bilier didasarkan pada asumsi bahwa setelah kerusakan akibat virus atau toksin, epitel saluran empedu dapat bertindak sebagai penyaji antigen (APC) dan mengekspresikan antigen yang tidak sesuai pada permukaannya dan dapat dikenali oleh limfosit. Dalam patogenesis atresia bilier diduga melibatkan suatu kaskade sistem imun yang akan menghasilkan peradangan dan fibrosis saluran empedu.²⁰¹ Sifat progresif kerusakan hati pada pasien dengan atresia bilier, kehadiran limfosit dalam hati, dan hubungan dengan beberapa jenis HLA menunjukkan kemungkinan terjadinya serangan autoimun persisten terhadap saluran empedu.²⁶

4.1 DASAR TEORI IMUNOLOGI PADA ATRESIA BILIER

Ditemukannya sel-sel inflamasi limfomononuklear yang menyusup di sekitar cedera interlobular saluran empedu dan di dalam epitel duktus pada pemeriksaan histologis BA, menjadi dasar bukti bahwa proses imun memainkan peran penting dalam patogenesis kerusakan saluran empedu pada BA.²⁰²



GAMBAR 4.1 Etiopatogenesis atresia bilier.²⁰²

Etiopatogenesis BA diinisiasi oleh peristiwa yang terjadi sebelum atau saat perinatal, seperti infeksi virus yang menginduksi apoptosis epitel saluran empedu dan ekspresi menyimpang MHC kelas II pada saluran empedu ekstrahepatik dan intrahepatik pada *host* yang rentan secara genetik. Penyebab virus, sel *host*, atau antigen pada saluran empedu yang telah berubah menginduksi proses fagositosis oleh makrofag atau sel dendritik dan dipresentasikan ke sel T naif di kelenjar getah bening lokal di mana sel T CD4⁺ diaktivasi dan berproliferasi. Sel-sel T CD4⁺

yang diaktifkan ini (yang mungkin autoreaktif) kembali ke tempat asal paparan antigen dan memunculkan IFN- γ akibat terinduksi oleh makrofag yang terstimulasi dan teraktivasi sel T CD8⁺ sitotoksik dan sel B. Pelepasan TNF- α , *nitric oxide* (NO) dan *reactive oxygen species* (ROS) oleh makrofag, autoantibodi oleh sel plasma, granzim, perforin, dan IFN- γ oleh sel T CD8⁺ menghasilkan kerusakan kolangiosit lebih lanjut melalui jalur apoptosis atau jalur nekrosis. Bersamaan dengan itu, kolangiosit dan sel endotel vaskuler meningkatkan regulasi ekspresi molekul adhesi dan mengeluarkan kemokin untuk merekrut neutrofil dan makrofag ke lokasi kerusakan saluran empedu. Sel-sel ini kemudian merekrut dan mengaktifkan myofibroblas (sel-sel *stellate* hati) dan fibroblas, yang mensekresi matriks ekstraseluler sehingga menyebabkan fibrosis pada saluran-saluran empedu yang rusak. Hasil akhir dari kerusakan kolangiosit, inflamasi, dan fibrosis adalah obstruksi saluran empedu komplisit dan fenotipe atresia bilier.^{202,203}

4.2 IMUNOBIOLOGI KOLANGIOSIT

Sel epitel bilier (kolangiosit) tidak hanya berfungsi sebagai *physical barrier* yang mengalirkan empedu ke dalam duodenum tetapi juga merupakan sel imunokompeten yang terlibat dalam homeostasis jaringan dan mampu mengenali mikroba yang berkonservasi dikenal sebagai PAMPs melalui PRRs untuk memulai respons inflamasi.^{77,204} Empat reseptor yang termasuk golongan PRRs yaitu *Toll-Like receptors* (TLRs), *Retinoid acid inducible gene-1*(RIG-1)-*like receptor* (RLRs), *nucleotide binding oligomerization domain*(NOD)-*like receptors* (NLRs), dan *C-type lectin receptors* (CLRs).¹¹

Kolangiosit adalah sel epitel yang melapisi saluran empedu intrahepatik dan ekstrahepatik, merupakan sel yang sangat terspesialisasi dalam relung anatomi kompleks dan berpartisipasi dalam produksi empedu serta homeostasis. Kolangiosit dapat rusak

dalam berbagai penyakit manusia yang disebut kolangiopati dan seringkali menyebabkan gagal hati lanjut. Pengaturan sifat transpor kolangiosit semakin dipahami, seperti juga heterogenitas anatomis dan fungsionalnya di sepanjang saluran empedu. Kolangiosit sangat berperan penting dalam proses regenerasi hati. Peran kolangiosit cukup penting dalam respons baik *innate* maupun *adaptive immunity* terhadap kejadian kolangiopati. Pada kondisi penyakit kronis, respons perbaikan kolangiopati yang terlalu reaktif berkontribusi pada peradangan hati, fibrosis, karsinogenesis, dan saat ini merupakan subjek penyelidikan yang intens. Sebuah penelitian menyebutkan bahwa kolangiosit berperan dalam perkembangan dan regenerasi hati, heterogenitas fungsional dan biokimia, keterlibatan dalam peradangan dan fibrosis, serta keterlibatan dengan sistem kekebalan.²⁰⁵

Toll-Like receptors (TLRs) pada tikus coba dan kolangiosit manusia ada 5 jenis yaitu TLRs 4 bertanggung jawab pada respons LPS dan TLR-3,7,8, dan 9 terlibat dalam pengenalan virus dan RNA/DNA bakteri.^{77,204} Aktivasi reseptor ini memicu respons peradangan melalui *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *interferon regulatory factor3* (IRF3), dan atau *nuclear factor-kB* (NF-kB) oleh produksi IFN-1, dan atau *pro-inflammatory cytokines*. Sinyal MAPK adalah jalur multifungsi yang sangat penting dalam respons *innate immunity* dan infeksi virus. Di antara 3 jalur MAPK, aktivasi sinyal *extracellular regulated kinase* (ERK) 1/2 dan p38 paling berperan penting dalam infeksi RRV pada kolangiosit seperti yang terlihat dalam replikasi virus dan kerusakan epitel. TLRs tergantung pada molekul *adaptor-myeloid differentiation primary* respons 88 (MyD88) atau *toll/interleukin-1* reseptor *domain-containing adaptor protein* (TRIF) secara efektif memulai dan menransduksi sinyal hilir ke inti, membedakannya menjadi 2 jalur pensinyalan TLR utama. Jalur yang tergantung pada MyD88 (terkait untuk TLR 1-5, kecuali untuk TLR-3), *interleukin-1* reseptor *associated kinase* (IRAK) 1, 2, dan 4 mengatur produksi IFN-1 dan sitokin *pro-inflamasi* (IL-1 β , IL-6 dan TNF- α) melalui

jalur MAPK, IRF3, dan NF-Kb. Patogenesis BA ini telah dibuktikan pada hewan coba dengan BA yaitu jalur yang bergantung pada MyD88.^{11,206}

Retinoid acid inducible gene-1(RIG-1)-like receptor (RLR) terdiri atas sensor sitosol, termasuk RIG-1 dan *melanoma differentiation-associated protein-5* (MDA-5) yang mampu mengikat dsDNA. Interaksi ini memicu perubahan konfirmasi yang mengekspos dua *Caspase Activation and Recruitment domain* (CARDs) pada N-terminus, yang bertanggung jawab untuk merekrut protein komplementer *Mitochondrial Antiviral Signaling protein* (MAVS), dan mentransduksi sinyal ke inti untuk menghasilkan interferon tipe 1 dan *pro-inflammatory cytokines*.¹¹

Nucleotide binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs), misalnya NLRP3 juga merupakan reseptor bawaan sitosol yang diaktifkan setelah pengenalan dsRNA virus. Reseptor ini berkontribusi pada awal kejadian respons peradangan akut, menguatkan respons imun, melepaskan mediator yang bersifat lambat (IL-1 β , IL-18 dan HMGB-1), dan mengatur piroptosis (kematian sel terprogram oleh mediator pro-inflamasi) melalui proses peradangan.¹¹

C-type lectin receptors (CLR) merupakan reseptor transmembran dengan *immunoreceptor tyrosine-based activation motif* (ITAM) atau *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif* (ITIM) yang mampu menginduksi respons pro-inflamasi atau memodulasi melalui *crossstalk* dengan PRR lain seperti TLR. *C-type lectin receptors* memainkan peran penting dalam mempertahankan homeostasis kekebalan terhadap patogen dan meningkatkan respons pro-inflamasi terhadap virus.²⁰²

4.3 IMUNITAS BAWAAN (INNATE) PADA PATOGENESIS ATRESIA BILIER

Sistem imun alami atau *innate immunity* merupakan lini pertama dari pertahanan melawan patogen. Sistem imun alami terdiri atas komponen seluler makrofag, neutrofil, sel *natural killer* (NK), epitel sel mukosa,

dan sel endotel, serta komponen biokimia/*humoral* yang bertugas mengenali dan menghancurkan mikroorganisme yang menginvasi pada serangan pertama tanpa adaptasi antigen spesifik. Respons *innate immunity* awalnya dianggap terbatas pada sel imunokompeten seperti sel dendritik dan makrofag, tetapi ternyata sel epitel juga memiliki *Toll-like receptors* (TLR) dan masuk sistem kekebalan bawaan yang tepat. Hati dan saluran empedu ekstrahepatik terdiri atas hepatosit dan sel epitel bilier juga berisiko terkena mikroorganisme dan komponen pemicu lain yang berasal dari usus melalui darah di saluran porta dan duodenum.²⁰⁷

Sistem *innate immunity* merespons infeksi atau bahaya sinyal dengan menghasilkan respons inflamasi nonspesifik yang cepat dengan pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6. Sel-sel yang berperan dalam *innate immunity*, termasuk makrofag, neutrofil, sel dendritik, sel *natural killer* (NK), sel mast, dan lainnya memiliki dua sel kelas reseptor utama yaitu TLR terikat membran dan reseptor di sitosol seperti *nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD)-like receptors (NLR), secara kolektif dikenal sebagai *pattern recognition receptors* (PRR). Penting untuk diketahui bahwa sel epitel saluran empedu juga mengekspresikan PRR. *Pattern recognition receptors* mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) pada permukaan atau dilepaskan oleh sel yang terinfeksi, merupakan pola molekuler yang tidak berubah di antara seluruh kelas patogen. Contoh PAMP di antaranya adalah *lipopolysaccharide* (LPS) bakteri dan lipoprotein, *double-stranded RNA* (dsRNA) dan *single-stranded RNA* (ssRNA). Setiap subtype TLR mengenali dan terikat ke suatu set PAMP tertentu. Sebagai contoh, LPS akan terdeteksi oleh TLR4, dsRNA oleh TLR3, dan ssRNA oleh TLR7/TLR8. Ligan endogen yang memberikan sinyal bahaya dari sel nekrotik, sebagai tambahan untuk patogen, dapat mengaktifkan pensinyalan TLR, yang memiliki peran penting sebagai penghubung antara aktivasi TLR dan perkembangan proses autoimun. Interaksi

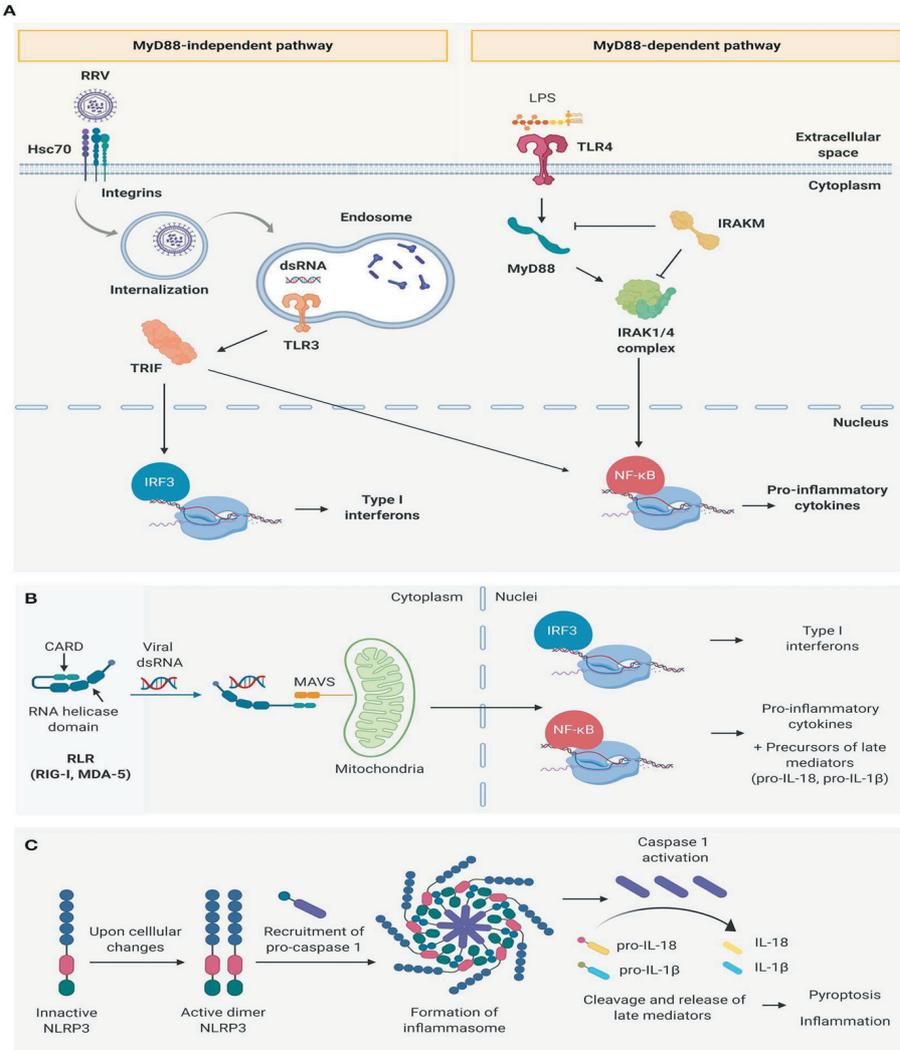
PRR-PAMP menghasilkan sintesis dan pelepasan berbagai mediator inflamasi (termasuk sitokin dan kemokin), yang dapat menyebabkan kematian pathogen dan bahkan sel *host* itu sendiri. Dalam beberapa model penyakit, kegagalan mengatur pensinyalan TLR dikaitkan dengan kejadian penyakit inflamasi kronis.²⁰³

Saito dkk., mempelajari aktivasi proses *innate immunity* pada BA dengan laporan adanya peningkatan regulasi TLR8 yang lebih tinggi dalam jaringan hati pasien BA saat diagnosis dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, juga terjadi peningkatan yang signifikan jumlah TLR3 dan TLR7 hati saat diagnosis BA pada pasien yang akhirnya membutuhkan transplantasi dibandingkan mereka yang tidak membutuhkan transplantasi. Menariknya, TLR tersebut adalah reseptor untuk dsRNA atau ssRNA yang ada pada virus.²⁰⁸

Keterlibatan sistem imun dalam kerusakan epitel duktus dan gangguan aliran bilier, di mana terdapat sebuah *immune cascade* yang menyebabkan inflamasi dan fibrosis bilier.²⁰⁹ Mayoritas dari penelitian mengenai patogenesis atresia bilier fokus pada hubungan sistem imun dengan kerusakan pada saluran bilier.⁷⁷ Sistem imun pada BA dikaitkan dengan proses infeksi virus yang mendasari imunopatogenesis atresia bilier. Beberapa penelitian telah membuktikan keterkaitan infeksi virus dengan kejadian atresia, akan tetapi penelitian tersebut masih terbatas pada hewan coba. Belum ada cukup bukti tentang peran etiologi virus pada BA karena tidak mungkin untuk membedakan antara infeksi primer yang berpotensi secara relevan sebagai etiologi dan infeksi sekunder yang didapat.⁶⁸

Gambar di atas menunjukkan (A) *Toll-like receptors* (TLRs) dan skema dari dua jalur pensinyalan utama: Jalur *dependent* MyD88 (karakteristik dari semua *toll-like receptors* kecuali TLR 3) dan jalur *independent* MYD88 (karakteristik dari TLR3). (B) *Cytosolic viral* mengenali *Retinoic-acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors*, bisa jadi pemicu respons inflamasi dan respons antivirus, dan (C) *nucleotide-binding oligomerization domain*

(NOD)-like receptors yang memiliki kemampuan mengikuti respons imun melalui pembentukan peradangan, induksi kematian sel dan pelepasan mediator lambat.¹¹



GAMBAR 4.2 Reseptor yang terlibat dalam respons *innate immunity* pada kolangiosit.¹¹

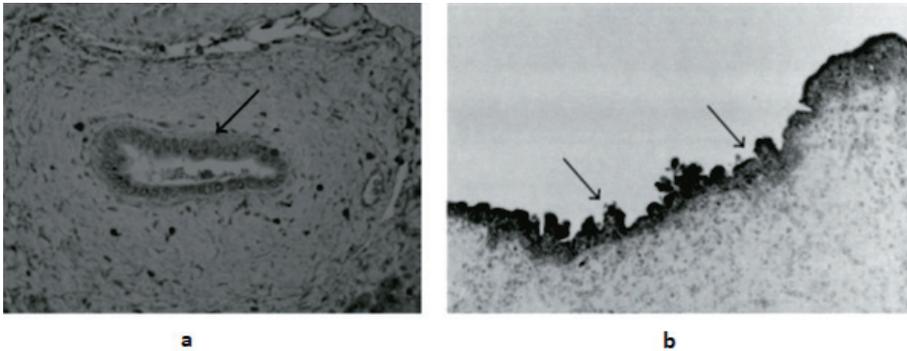
4.4 MEDIATOR KIMIA PADA INNATE IMMUNITY ATRESIA BILIER

Innate immunity memberikan pertahanan awal terhadap bakteri dan infeksi virus. Oleh karena itu, sebagai bagian dari respons imunitas bawaan, beberapa zat antimikroba diproduksi. Sitokin dan kemokin juga diproduksi dalam sel imunokompeten dan memainkan peran penting dalam imunitas yang didapat selanjutnya. Selain itu, kolangiosit telah terbukti mengeluarkan polimerik imunoglobulin A serta beberapa zat antimikroba untuk melawan bakteri (*lactoferrin*, *lysozyme*, dan *defensins*) dan virus (IFN- β 1 dan MxA), sitokin, dan kemokin pada terapi dengan PAMPs, dengan demikian berkontribusi terhadap mekanisme pertahanan mukosa bilier dan imunitas didapat selanjutnya.²⁰⁶

1. *Defensin*

Defensin adalah peptida antimikroba yang teridentifikasi sebagai elemen kunci dalam *innate immunity*. Secara struktural, mereka dibagi menjadi α - dan β -*defensins*. Kelompok β -*defensin* didistribusikan di epitel beberapa organ, membentuk *barier* penting pada permukaan mukosa. Sejauh ini, *human β -defensins* (hBD-1 hingga -6) telah diidentifikasi. *Human β -defensins* secara konstitutif diekspresikan dalam kultur kolangiosit dan didistribusikan secara merata di sitoplasma saluran empedu intrahepatik terlepas dari tingkat anatomi. Bahkan, karena hBD-1 selalu terdeteksi dalam sampel empedu, hBD-1 diyakini berperan dalam pertahanan antimikroba dari sistem hepatobilier. Mungkin itulah sebabnya infeksi saluran empedu jarang terjadi dan empedu menjadi steril dalam kondisi fisiologis, meskipun *biliary tree* berada berpotensi terkena bakteri enterik. Sebaliknya, hBD-2 tidak terdeteksi pada kolangiosit yang dibudidayakan tanpa stimulan, tapi ekspresi *de novo* ditemukan pada kolangiosit yang diintervensi dengan LPS atau *E. coli*. *In vivo*, ekspresi hBD-2 dibatasi pada saluran empedu besar

intrahepatik dan kelenjar peribiliaris, khususnya terlihat kolangitis pada obstruksi bilier ekstrahepatik dan hepatolitis. ²⁰⁶



GAMBAR 4.3 Pewarnaan imunohistokimia untuk *human beta defensin* (hBD)-1 pada hati normal (a) dan hBD-2 pada obstruksi bilier ekstrahepatik (b). ²⁰⁶

Oleh karena terdapat proses patologis di hati tersebut menyebabkan sebagian besar bakteri enterik berkembang biak di empedu, partisipasi kolangitis terkait bakteri sangat erat kaitannya dengan ekspresi hBD-2 di kolangiosit. Sehingga hBD-1 memainkan peran konstitutif dalam pertahanan antimikroba bilier, sedangkan ekspresi hBD-2 terinduksi oleh respons terhadap infeksi lokal dan mungkin memainkan peran dalam pertahanan antimikroba tambahan. ²⁰⁷

2. *Interleukin-8*

Interleukin-8 (IL-8) adalah sitokin utama neutrofil, dan berfungsi tidak hanya sebagai *chemoattractant* dari neutrofil, basofil, dan beberapa populasi sel T, tetapi juga sebagai penggerak neutrofil untuk melepaskan leukotrien, oksigen aktif, dan defensin neutrofil. Bakteri atau produknya telah dilaporkan menyebabkan sekresi IL-8 dari sel epitel usus atau gingiva, dan semacamnya sitokin dan kemokin berspekulasi untuk terlibat di dalamnya kerusakan sel epitel selama infeksi bakteri atau

jamur. Sel kolangiosit manusia yang dikultur mengekspresikan dan melepaskan IL-8 sebagai respons untuk PAMP bakteri termasuk LPS. Ekspresi IL-8 ditemukan di duktus empedu yang meningkat di berbagai penyakit hati dan terkait erat dengan infiltrasi neutrofil.

3. *Fractalkine*

Fraktalkin (CX3CL1) adalah kemokin yang berfungsi sebagai *chemoattractant* dan berperan penting sebagai sel adhesi dalam migrasi leukosit ke titik target dalam kondisi fisiologis serta patologis. Fraktalkin diekspresikan dalam beberapa sel epitel di bawah kondisi normal dan terlibat dalam *chemoattraction* ke lapisan epitel dan ekspresi adhesi sel mononuklear reseptornya, CX3CR1. Tingkat fraktalkin meningkat dalam serum bersamaan dengan peningkatan ekspresi CX3CR1 pada infiltrasi hati sel mononuklear pada pasien dengan, menyarankan fraktalkin menjadi penting untuk generasi dan persistensi infiltrasi limfositik portal di PBC.²¹⁰

Berbagai penelitian akhir-akhir ini banyak menjelaskan bagaimana sistem imunitas tubuh bawaan bayi memberikan kontribusi terhadap kerusakan epitel saluran empedu pada BA. Pertama, dengan menganalisis hati bayi pada saat diagnosis, peneliti menemukan bahwa sel pembunuh alami (NK) mengisi sekitar saluran empedu intrahepatik dan mengekspresikan secara berlebihan gen-gen yang terlibat dalam sitotoksitas. Sel NK yang diaktifkan juga didapatkan dalam hati mencit neonatus pada model mencit yang diinduksi RRV dan merupakan sel yang paling melimpah dalam saluran empedu ekstrahepatik pada saat obstruksi. Untuk menyelidiki bagaimana keterlibatan sel NK dalam model eksperimental tersebut, penulis menggunakan kultur sel dan teknik manipulasi *in vivo*. Dalam kultur sel, ditemukan bahwa sel NK hati yang diinduksi RRV melisis kolangiosit melalui kontak dan reseptor NKG2D. Secara *in vivo*, para peneliti menggunakan antibodi untuk menguras sel NK atau memblokir NKG2D. Kedua jenis antibodi

tersebut dapat mencegah kerusakan pada epitel saluran empedu dan obstruksi lumen saluran setelah infeksi RRV. Sehingga saluran empedu tetap paten dan hubungan antara hati dan usus dua belas jari tetap terjaga meskipun terdapat virus pada jaringan. Temuan ini menunjukkan integritas epitel sebagai faktor kunci dalam patogenesis BA eksperimental, peran penting dari sel NK, dan kolangiosit belum tentu sebagai target organ utama dari RRV.¹⁹⁴

Kolangiosit aktif berpartisipasi dalam imunitas bawaan dengan mengekspresikan molekul antimikroba seperti defensin dan lisozim, serta *Toll-like receptors* (TLR), khususnya TLR3 yang mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs), seperti RNA untai ganda (dsRNA) RRV. *Signaling* berulang melalui TLR dalam menanggapi PAMPs biasanya menginduksi toleransi TLR. Untuk menguji kontribusi sirkuit molekuler tersebut pada BA, peneliti memberi paparan *poly* (I:C), suatu analog sintesis dari dsRNA virus pada kultur sel epitel empedu, dan menemukan bahwa tidak terjadi induksi toleransi TLR.²¹¹ Namun, regulasi yang signifikan dari molekul yang terlibat dalam kerusakan saluran empedu dan apoptosis tetap bertahan, bahkan setelah stimulasi *poly* (I:C) berakhir. Respons imunobilier bawaan terhadap dsRNA yang unik tersebut mungkin berhubungan dengan kolangiopati obstruktif progresif yang terjadi pada penderita BA.

4.5 IMUNITAS ADAPTIF: IMUNITAS SELULER PADA PATOGENESIS ATRESIA BILIER

Imunitas adaptif memerlukan respons imun yang distimulasi oleh paparan berulang antigen patogen atau nonmikrobia. Karakteristik imunitas adaptif adalah kekhususan pada molekul yang berbeda dan memori yang membangkitkan kemampuan untuk merespons eksposur berulang. Ada dua jenis respons imun adaptif: imunitas seluler dimediasi oleh sel T, yang menghasilkan sitokin, dan imunitas

humoral dimediasi oleh sel B yang memproduksi antibodi. Dalam dekade terakhir, telah banyak perhatian difokuskan pada peran imunitas seluler dalam kerusakan saluran empedu pada BA. Banyak peneliti telah menunjukkan bahwa infiltrat saluran portal di sekitar saluran empedu terdiri atas sel T CD4 dan CD8.^{176,186,187} Limfosit-limfosit tersebut ditemukan menginvasi di antara epitel saluran empedu, menyebabkan degenerasi saluran empedu intrahepatik. Sel T yang diaktifkan, mengekspresikan proliferasi penanda permukaan sel CD71 dan marker aktivasi CD25, dan LFA-1.¹⁷⁶

Analisis pada reseptor sel T variabel dari rantai β (TCR V β) dalam sisa-sisa hati dan saluran empedu ekstrahepatik BA mengungkapkan bahwa sel T adalah oligoclonal secara alami dengan repertoar TCR V β terbatas, menunjukkan bahwa sel T dalam BA berproliferasi dalam menanggapi antigen tertentu.²¹² Sel T efektor yang diaktifkan menghasilkan sitokin yang secara langsung dapat merusak sel epitel atau tidak langsung menyebabkan kerusakan melalui stimulasi sel imunitas lainnya. Sel T dalam hati penderita BA telah terbukti menyekresikan sitokin-sitokin seluler Th1 meliputi IFN-gamma, IL-2, dan TNF- α , yang hanya ada pada BA dan tidak ditemukan dalam penyakit kolestasis neonatal lainnya.¹⁸⁷ Penelitian-penelitian sampai saat ini masih bersifat deskriptif dan tidak mampu mendefinisikan secara jelas peran sel T dan sitokin dalam kerusakan saluran empedu penderita BA. Oleh karena itu, studi mekanistik pada model mencit yang diinduksi RRV digunakan untuk menjelaskan peran imunitas seluler pada kerusakan saluran empedu.

Model BA mencit yang diinduksi RRV merekapitulasi respons imun yang ditemukan dalam penyakit manusia. Sel T CD4 saluran portal mengeluarkan IFN-g dan TNF- α 1 minggu setelah infeksi RRV, diikuti infiltrasi sel T CD8 dan makrofag pada usia 2 minggu.²⁶ Bertepatan dengan identifikasi sitokin seluler Th1, Leonhardt dkk., 2006 menemukan bahwa berbagai kemokin (sitokin yang merangsang

pergerakan leukosit dari darah ke jaringan sakit) yang berhubungan dengan respons Th1 dilakukan *up*-regulasi pada mencit model, di antaranya CCL2, CCL5, dan CXCL10.²¹³ Demikian pula, Carvalho dkk., 2005 melaporkan peningkatan ekspresi gen kemokin yang diinduksi IFN- γ , CXCL9 dan CXCL10 pada 1 minggu setelah infeksi RRV.¹⁹³

Berkenaan dengan pentingnya peran IFN- γ pada kerusakan saluran empedu, Shivakumar dkk., 2004 menunjukkan bahwa mencit tanpa IFN- γ yang terinfeksi RRV mengalami ikterus dengan cara yang sama seperti kontrol, namun kolestasis membaik dalam usia 3 minggu pada 77% dari mencit dibandingkan pada 75% kontrol.¹⁰¹ Penelitian ini memperkuat anggapan bahwa respons imun (IFN- γ), dan bukan infeksi virus awal, yang bertanggung jawab atas progresivitas kerusakan saluran empedu. Peran IL-12 dan TNF- α dalam progresivitas BA pada mencit juga telah dianalisis dengan menggunakan mencit tanpa sitokin. Berbeda dengan studi IFN- γ , kurangnya salah satu dari sitokin tidak berpengaruh pada perkembangan kerusakan saluran empedu dan obstruksi.^{189,192}

Sistem imun adaptif memerlukan respons imun yang distimulasi oleh paparan berulang pada patogen atau antigen nonmikrobia. Respons *adaptive immunity* pada BA diperantarai oleh imunitas seluler yang dimediasi sel T yang berinteraksi dengan APC dan memproduksi sitokin sedangkan imunitas humoral yang dimediasi oleh sel B yang memproduksi antibodi.²¹⁴

Adaptive immunity memiliki ciri khas spesifisitas yang tinggi terhadap molekul yang khas dan memiliki memori yang membangkitkan kemampuan untuk merespons paparan berulang. Sel T efektor pada *adaptive immunity* memproduksi sitokin yang secara langsung dapat merusak sel atau secara tidak langsung menyebabkan kerusakan melalui aktivasi sel kekebalan lainnya (seperti IFN- γ yang memproduksi sel T CD4⁺ yang mengaktifkan makrofag dengan generasi selanjutnya dari molekul sitotoksik seperti NO dan TNF- α). Respons sel

T telah dikategorikan berdasarkan jenis sitokin yang dihasilkan: Th1 melibatkan tanggapan IL-2, IFN- γ , dan TNF- α , dan Th2 termasuk IL-4, IL-5 dan IL-10. Dalam dekade terakhir, banyak perhatian berfokus pada peran imunitas seluler Th1 pada cedera saluran empedu BA.²⁰³

Makrofag berperan dalam respons *innate immunity* maupun respons *adaptive immunity*. Meningkatnya jumlah makrofag atau sel Kupffer telah diidentifikasi di saluran portal di BA pada saat diagnosis. Urushihara dkk., mengidentifikasi peningkatan jumlah dan ukuran sel Kupffer secara signifikan di hati dan peningkatan serum IL-18. IL-18 adalah sitokin turunan makrofag yang bekerja sama dengan IL-12 untuk mempromosikan diferensiasi sel Th1 di pengaturan inflamasi.²⁰³

4.6 PERAN ADAPTIVE CELLULAR IMMUNITY: T-CELL SUBSETS

Sel T efektor dalam imunitas adaptif menghasilkan sitokin yang secara langsung dapat merusak sel atau secara tidak langsung menyebabkan kerusakan, respons sel T telah dikategorikan berdasarkan jenis sitokin yang dihasilkan yaitu respons Th1 yang melibatkan IL-2, IFN- δ dan TNF- α dan respons Th17 yang melibatkan IL-7. Dalam dekade terakhir banyak perhatian difokuskan pada peran Th1 dengan imunitas seluler Th17 terkait pada kerusakan pada saluran empedu pada BA. Respons imun seluler yang dominan pada patogenesis BA pada saat diagnosis meliputi sel T CD4+ dan CD8+ yang diaktivasi dalam saluran portal dan selanjutnya menghasilkan sitokin Th1(IL-2, IFN- δ) dan makrofag yang menghasilkan TNF- α .^{77,43} Sebuah studi menyebutkan bahwa Th17 sama pentingnya dengan inflamasi yang dimediasi Th1 pada BA. IL-17 adalah sitokin inflamasi kuat yang terlibat dalam patogenesis banyak penyakit dengan kondisi autoimun.⁷⁷

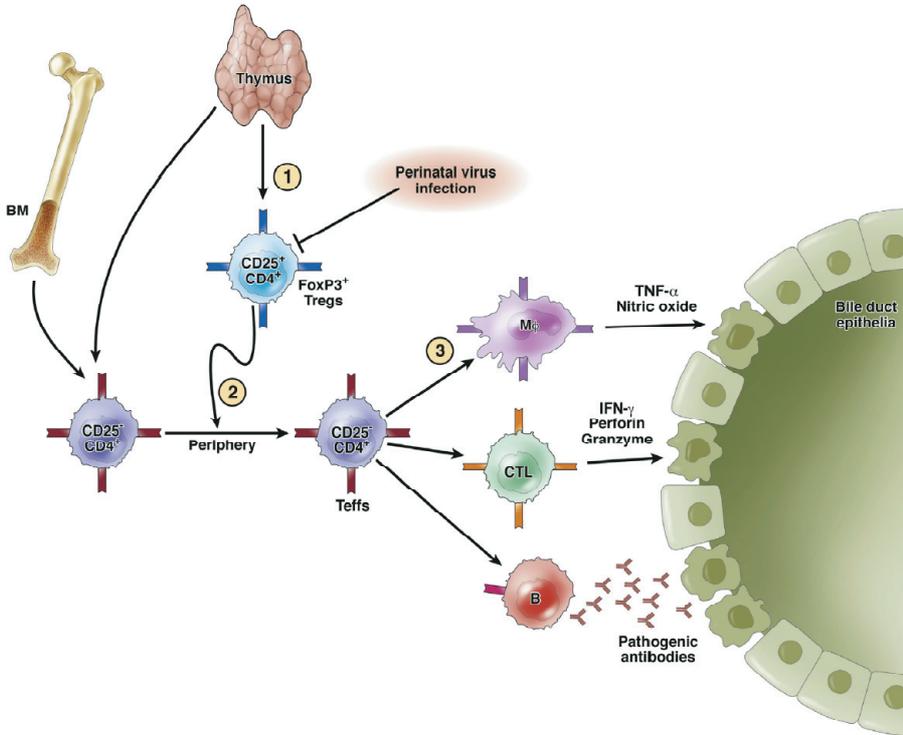
Adaptive cellular immunity melibatkan interaksi *antigen-presenting cells* (APCs) dengan sel T yang mengaktivasi sel T dengan produksi sitokin. Respons *adaptive immunity* dipicu oleh paparan berulang baik

oleh patogen maupun antigen nonmikroba, menghasilkan aktivasi sel-T memori spesifik yang tinggi. Aspek *adaptive cellular immunity* memiliki ciri terjadi pada neonatus dan mengalami penurunan frekuensi dan fungsi sel yaitu APCs dibandingkan dengan orang dewasa dan terjadi respons *T-cell* yang condong ke profil sel Th2, dengan produksi *interleukin-4* (IL-4), IL-5, dan IL-13. Hal tersebut menjadi jelas bahwa neonatus juga mampu menghasilkan respons Th1 seperti orang dewasa (IL-2, interferon- [IFN- γ]) ketika kondisi untuk priming antigenik dioptimalkan. Sel T Th-17 tampaknya memainkan peran penting dalam pertahanan inang mukosa dan setidaknya pada orang dewasa telah terlihat dalam beberapa proses kolangiopati autoimun seperti sirosis bilier.¹²³ Sel Th17 dapat terakumulasi di antara epitel saluran empedu dan infiltrasi di saluran portal yang merupakan karakteristik BA.²⁰⁴ Pada penelitian dengan hewan coba yang baru lahir memiliki sel NK yang belum matang sehingga tidak mampu membunuh kolangiosit yang terinfeksi virus.²¹⁵ Sebuah hipotesis menyebutkan bahwa tidak adanya sel T regulator (T-regs) yang diyakini penting untuk menekan dan menghambat ekspansi sel NK merupakan faktor yang memainkan peran dalam patogenesis BA.²¹³

Gambar 4.4 menjelaskan teori hipotesis tidak adanya T-reg yang memainkan peran dalam patogenesis BA. Infeksi virus masa neonatal yang memiliki predisposisi secara genetik dapat (1) mengubah pelepasan T-reg dari timus atau (2) menurunkan kapasitas regulasi mereka di perifer, memungkinkan *CD4+ T-effector cells* (Teffs) berkembang dan (3) mengaktifkan makrofag, sitotoksik *CD8+ T cells* (CTLs), dan sel B penghasil autoantibodi, menyebabkan cedera epitel saluran empedu yang progresif.²¹³

Pada hewan coba, Treg memodifikasi ekspresi daerah kostimulatori CD86 pada sel dendritik untuk mengurangi ekspansi sel CD8, tetapi ketika terinfeksi rhesus Rotavirus, daerah tersebut diregulasi menyebabkan atresia bilier.¹⁸³ Defisiensi T-reg tampaknya lebih parah

pada CMV dibandingkan dengan infeksi virus lainnya. Pada hewan coba yang diberikan infeksi CMV dosis rendah dengan tidak adanya Treg menghasilkan peradangan bilier intra dan ekstrahepatik.¹²⁷



GAMBAR 4.4 Skema hipotesis *T-reg deficits* pada patogenesis atresia bilier.²¹³

4.7 IMUNITAS ADAPTIF: IMUNITAS HUMORAL PADA PATOGENESIS ATRESIA BILIER

Respons imun humoral diprakarsai oleh pengenalan antigen oleh sel B, yang dalam fase efektor mensekresi antibodi spesifik untuk suatu antigen. Imunitas seluler dan humoral secara sinergis dalam respons antibodi terhadap antigen protein memerlukan sel T CD4 untuk

mengenali antigen dan mengaktifkan sel B. Sedikit informasi mengenai peran potensial imunitas humoral dalam patogenesis BA.

Lebih dari 3 dekade yang lalu, Hadchouel dkk., 1981 mendapatkan deposit imunoglobulin dalam sisa-sisa saluran empedu penderita BA. Deposit imunoglobulin (Ig) M ditemukan pada 25 spesimen dan IgM bersama IgG dalam 19 dari 128 spesimen yang dianalisis. Deposit imunoglobulin terlokalisasi di sepanjang membran basal epitel saluran empedu, menunjukkan bahwa reaktivitas antigen berasal dari epitel. Berdasarkan pengetahuan tentang infeksi virus pada epitel saluran empedu, interpretasi alternatif adalah deposit imunoglobulin bereaksi dengan protein virus pada epitel. Studi adanya autoantibodi pada BA hingga saat ini masih terbatas.

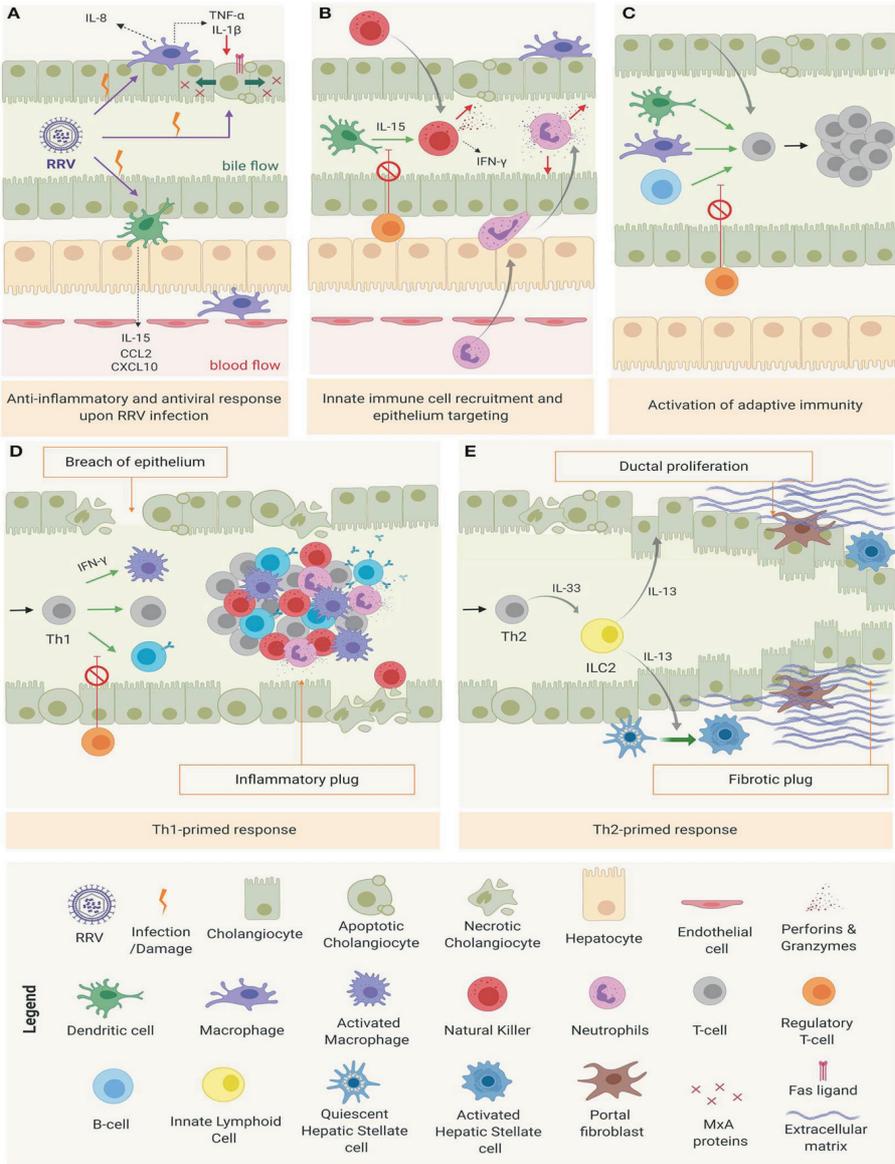
Sebuah laporan awal oleh dkk., 1995 menunjukkan bahwa 10 dari 11 penderita dengan BA memiliki kadar antibodi IgM antinetrofil sitoplasma (ANCA) lebih tinggi dibandingkan dengan penyakit hati lainnya. Burch dkk., 2003 melakukan pemeriksaan autoantibodi pada ibu dari anak-anak dengan BA untuk menguji hipotesis bahwa transfer autoantibodi ibu mungkin terlibat dalam kerusakan saluran empedu. Titer antibodi anti-Rho yang rendah lebih umum didapatkan pada ibu dari bayi dengan BA dan hepatitis neonatal idiopatik daripada kelompok kontrol, namun titer antibodi antinuklear rendah lebih sering terjadi pada ibu bayi dengan penyakit hati pada umumnya.²¹⁶

Peran imunitas humoral mencit dalam model BA yang diinduksi RRV dibuktikan oleh adanya deposit imunoglobulin (IgG) yang mengelilingi saluran empedu intrahepatik.^{101,169} Selanjutnya, analisis Western blot dari sera mencit BA diinduksi RRV mengidentifikasi antibodi reaktif untuk berbagai protein dalam homogenat epitel saluran empedu, menunjukkan adanya autoantibodi spesifik terhadap epitel saluran empedu.¹⁶⁹ Analisis lebih lanjut target dari imunoglobulin tersebut dapat menjelaskan antigen yang memicu respons imun tubuh.

Dugaan awal adanya peran imunitas humoral yang diperantarai *B-cells* pada patofisiologi BA adalah ditemukan endapan imunoglobulin periduktal di sepanjang membran basal epitel saluran empedu dalam sisa-sisa saluran empedu ekstrahepatik pasien BA manusia.²¹⁷ Mack dkk., kemudian mendemonstrasikan adanya deposit imunoglobulin periduktal dan serum autoantibodi yang reaktif terhadap protein epitel saluran empedu pada tikus yang menderita RRV.²¹⁸ *B-cells* berfungsi sebagai antigen yang menyajikan sel dan sebagai penghasil imunoglobulin dalam kondisi peradangan kronis. Lu dkk., mengidentifikasi *α -enolase antibody* sebagai autoantibodi yang reaktif terhadap protein sitosol dalam epitel saluran empedu pada model tikus dan serum manusia dengan atresia bilier. Enzim 48-kD ini terbagi kesamaan urutan asam amino dengan protein yang dikode virus, menunjukkan peran molekul mimikri.¹²⁷

Respons imun humoral di inisiasi oleh interaksi antigen dengan *B-cell receptor* (BCR) dan kontak langsung dengan CD4+ T-cells dan/atau ligan *Toll-like receptor*. *B-cell receptor* terdiri atas sebuah membran yang terdiri atas ikatan IgM (terikat antigen [Ag]) dan sinyal transduksi bagian Ig-a/Ig-b yang dibutuhkan untuk aktivasi. Ikatan BCR oleh Ag menyebabkan aktivasi dan proliferasi *Ag-specific B-cell* dan berdiferensiasi menjadi *plasmablasts* atau *germinal center B cells*, yang selanjutnya meningkatkan jumlah sel plasma atau sel B memori.²¹⁹

Mekanisme kerusakan epitel dan terjadinya obstruksi saluran bilier setelah infeksi virus, di mana kolangiosit, makrofag, dan sel dendritik memicu respons melalui interferon tipe 1 secara autokrin dan parakrin pada sel yang terinfeksi untuk mencegah penyebaran virus. Kolangiosit berperan penting dalam memulai suatu respons imun setelah terpapar zat eksogen, tapi tidak menimbulkan peradangan yang cukup untuk menginduksi obstruksi saluran bilier tanpa keterlibatan makrofag dan sel dendritik.



GAMBAR 4.5 Mekanisme obstruksi pada atresia bilier. (A) Infeksi RRV dan aktivasi respons antiinflamasi dan antivirus. (B) Sel Imun bawaan perekrutan dan serangan spesifik jaringan ke epitel. (C) Aktivitas imunitas adaptif. (D) Polarisasi Th1 utama dan alternatif. (E) Polarisasi Th2. ¹¹

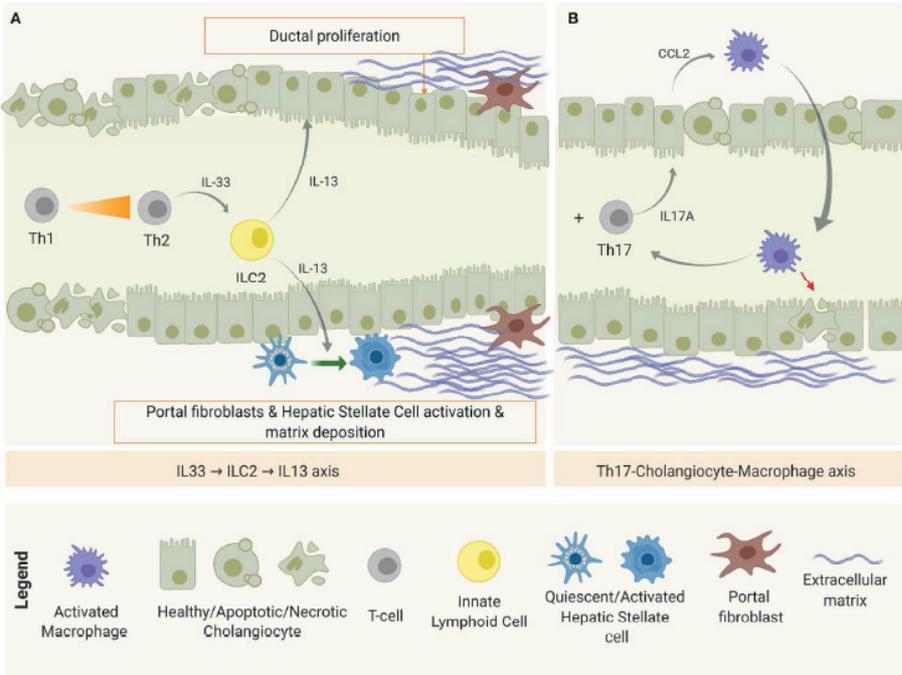
Pada sel yang terinfeksi, Interferon (IFN) tipe 1 akan merangsang apoptosis bilier dengan meningkatkan regulasi faktor nekrosis terkait apoptosis ligan,¹¹ kemudian jaringan sekitar apoptosis bilier memberikan sinyal terhadap IFN untuk memicu produksi protein antivirus (Mx) yang memberikan perlindungan terhadap infeksi virus. Proses selanjutnya tampak pada Gambar 4.5.

Produksi sitokin dan kemokin proinflamasi oleh kolangiosit, makrofag, dan *dendritic cell* (DC) menciptakan lingkungan mikro yang menguntungkan untuk mengaktifkan sel-sel inflamasi dan mendorong efektor imun *tissue-specific attack*. Kemudian saat peradangan berlangsung tanpa dipisahkan, DC dan makrofag berinteraksi dengan T cell CD4+ (Th0) untuk meningkatkan aktivasi, ekspansi oligoclonal, dan diferensiasi menjadi fenotipe khusus tergantung pada lingkungan mikro dominan sitokin. Pada sebagian besar pasien BA, lingkungan mikro ini bersifat pro-inflamasi (Th1), yang ditandai dengan produksi IFN- δ dan aktivasi sel *vector* (makrofag, sel T CD8+, dan sel B) untuk mempertahankan kerusakan jaringan. Dalam beberapa kasus bayi tidak mampu meningkatkan respons Th1, sehingga polarisasi yang utama adalah Th2 dengan IL-13 sebagai sitokin dominan, yang bertanggung jawab pada kerusakan jaringan yang dimediasi oleh proliferasi duktus dan aktivitas sel stelat hati (HSC) dan fibroblast portal.¹¹

4.8 MEKANISME INFLAMASI POST OBSTRUKSI

Setelah terjadi obstruksi pada saluran bilier meskipun telah terjadi pemulihan aliran empedu, kerusakan empedu yang dimediasi imun masih tetap berlanjut. Kondisi lingkungan yang awalnya dominan Th1 bergeser ke arah Th2 dengan kemunculan simultan dari subset Th17.¹¹ Meskipun terjadi kemunculan simultan dari Th17, di satu sisi sel apoptosis dan nekrotik melepaskan molekul endogen yang dikenal sebagai *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang dapat dikenali

oleh PRRs sebagai kerusakan berlebihan atau “sinyal bahaya”. Proses inflamasi yang masih bergulir dijelaskan dalam Gambar 25.



GAMBAR 4.6 Mekanisme inflamasi post obstruksi saluran empedu. (A) aksis IL-33-ILC2-IL-13, terlibat dalam fibrosis dan proliferasi duktus dan (B)Th17-Sumbu makrofag, sebagai mekanisme inflamasi kronis dan kerusakan berkelanjutan.¹¹

Gambar di atas menjelaskan molekul endogen yang dikenal sebagai *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang dianggap sebagai sinyal bahaya memicu mediator inflamasi lain untuk mendekat. Salah satu DAMP tersebut adalah interleukin IL-33 yang ketika dilepaskan oleh kolangiosit dan hepatosit akan terakumulasi dalam *extracellular matrix* (ECM) sehingga menyebabkan peradangan dan fibrosis. Tingkat IL-33 yang tinggi telah terdeteksi dalam serum dan biopsi jaringan pada pasien BA. Dalam konteks ini, IL-33 di hati adalah

diyakini terlibat dengan sel pembantu bawaan yang menetap di hati (ILC2) yang mengekspresikan reseptor IL-33 (ST2 atau IL-1R4) untuk menghasilkan profibrotik sitokin terkait Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, dan IL-13). Di antaranya, IL-13 meningkatkan regulasi ekspresi TGF- β dan *matrix metalloproteinase 9* (MMP9), mengaktifkan HSC melalui IL-4Ra dan STAT6, mempromosikan fibrosis pada TGF- β 1/SMAD melalui mekanisme independen; dan merangsang sintesis kolagen oleh myofibroblas (HSC teraktivasi dan fibroblas portal). Secara bersamaan, IL-33 terbukti mendorong proliferasi duktus baik intra maupun ekstrahepatik. Di sisi lain, kolangiosit yang rusak menghasilkan IL-1b, IL-6, dan IL-23. IL-1b, IL-6 diperlukan untuk menarik Th17 sedangkan IL-23 bertanggung jawab terhadap kemunculan fenotipe ini. IL-17A adalah sitokin yang menginduksi produksi beberapa pro-inflamasi sitokin dan kemokin. Lages dkk., mengidentifikasi sel Th17 sebagai sumber utama IL-17A setelah terjadinya obstruksi pada *biliary tree* pada studi eksperimental BA. Kehadiran Th17 pada *biliary tree* dan darah tepi pasien BA telah dikonfirmasi, serta ditemukan marker terkait Th17 di jaringan hati [IL-17A dan *retinoic acid-related orphan receptor* (ROR)- γ t] dan serum IL-23. Selain itu, rasio tinggi antara Th17 dan Tregs pada darah tepi dapat menjadi marker yang telah diamati pada penyakit hati kronis seperti sirosis bilier primer.¹¹

Autoimunitas pada Patogenesis Atresia Bilier

Rose dan Witebsky tahun 1957, memformat daftar kriteria yang digunakan untuk mendefinisikan suatu penyakit autoimun, dan telah diperbaharui pada tahun 1993 berdasarkan pengetahuan yang didapat dari biologi molekuler dan teknologi hibridoma.²²⁰ Terdapat tiga bukti yang digunakan untuk menetapkan bahwa suatu penyakit pada manusia sebenarnya penyakit autoimun. Berikut adalah garis besar kriteria untuk autoimunitas dengan mengacu pada bukti autoimunitas pada BA.

1. Bukti langsung

Reproduksi penyakit manusia kepada penerima normal melalui transfer langsung autoantibodi. Hal demikian jarang terjadi, namun penularan transplasenta autoantibodi IgG patogenik dari ibu ke janin

telah diidentifikasi pada myasthenia gravis neonatal dan penyakit Graves' neonatal.²²⁰ Sampai saat ini, tidak ada bukti langsung dari autoimunitas pada BA.

2. Bukti tidak langsung

Reproduksi penyakit autoimun pada model hewan eksperimental diketahui melalui transfer adoptif sel T spesifik autoantibodi atau autoantigen dari mencit imunodefisiensi yang sakit serta identifikasi autoantigen. Bukti yang mendukung peran autoimunitas pada BA adalah adanya sel T autoreaktif spesifik epitel saluran empedu pada mencit BA yang diinduksi RRV dan menyebabkan peradangan saluran empedu. Dalam analisis *in vitro* (ELISPOT) menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan sel T hati dari mencit BA yang diinduksi RRV berusia 2 minggu yang dihasilkan oleh IFN- γ dalam menanggapi baik antigen Rotavirus maupun antigen "self" epitel saluran empedu. Selanjutnya, transfer adoptif sel T hati dari mencit BA yang diinduksi RRV pada resipien *naive syngeneic severe combined immunodeficiency* (SCID) berakibat peradangan dan kerusakan spesifik saluran empedu. Induksi patologi saluran empedu tersebut terjadi tanpa adanya transfer virus yang terdeteksi, menunjukkan bahwa antigen saluran empedu menjadi target dari sel T. Penyelidikan lebih lanjut diperlukan untuk mempelajari mekanisme (*molecular mimicry* atau *bystander activation*) dari autoimunitas yang diinduksi virus.¹⁶⁹

3. Bukti sirkumstansial

Berdasarkan petunjuk klinis yang khas meliputi:

A. Asosiasi dengan penyakit autoimun lainnya dalam individu atau keluarga yang sama.

Studi yang menyelidiki hubungan potensial BA dan penyakit autoimun lainnya pada penderita atau keluarga penderita belum banyak

dilakukan. Terjadinya hepatitis autoimun *de novo* setelah transplantasi hati pada anak banyak terjadi pada penderita BA, namun sebagian besar penerima transplantasi pada anak merupakan penderita BA.²²¹

B. Infiltrasi limfosit pada organ target

Telah banyak peneliti yang mengidentifikasi adanya infiltrasi limfosit baik di sekitar saluran empedu intrahepatik maupun ekstrahepatik.^{176,186,187} Imunitas sel T antigen spesifik melibatkan ekspansi oligoklonal sel T yang mengekspresikan daerah reseptor sel-T variabel rantai β (TCR $V\beta$) yang sama. Ditunjukkan pula bahwa sel T CD4 dan CD8 penderita BA bersifat oligoklonal alami.⁷² Analisis *Fluorescent-Activated Cell Sorter* (FACS) mengungkapkan ekspansi bagian $V\beta$ dari sel T CD4 dan CD8 pada semua sisa hati atau saluran empedu 6 penderita dengan BA dan hanya 1 dari 6 kontrol. Ekspansi TCR CD4 terbatas pada bagian sel T $V\beta$ 3, 5, 9, dan 12, sedangkan ekspansi TCR CD8 $V\beta$ didominasi $V\beta$ 20. Urutan nukleotida dari ekspansi tersebut menegaskan bahwa setiap bagian $V\beta$ yang teridentifikasi terdiri atas populasi sel T oligoklonal, menunjukkan proliferasi yang terjadi merupakan respons terhadap stimulasi antigen tertentu. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi antigen tertentu yang bertanggung jawab pada aktivasi sel T dan kerusakan saluran empedu.

C. Asosiasi statistik haplotipe *major histocompatibility complex* (MHC) tertentu atau ekspresi menyimpang dari antigen MHC kelas II pada organ yang terkena.

Molekul MHC manusia disebut juga *human leukocyte antigen* (HLA), dan hubungan genetik autoimun yang terkuat adalah dengan gen-gen HLA tersebut. Pada beberapa penelitian telah dijelaskan adanya ekspresi menyimpang dari molekul HLA-DR pada epitel saluran empedu hati penderita BA.²²² Namun asosiasi HLA dengan terjadinya

BA juga dilaporkan dengan hasil yang berlawanan. Sebuah studi di Eropa menganalisis genotipe HLA serta polimorfisme famili gen IL-1, promotor IL-10, dan gen promotor TNF- α pada 101 anak dengan BA dan tidak menemukan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol.¹⁷⁴ Sebaliknya, studi di Jepang dari 392 penderita BA ditemukan hubungan yang signifikan antara BA dan HLA-DR2.²²³ Sebuah studi yang lebih kecil dari Mesir juga menemukan peningkatan yang signifikan HLA B8 dan DR3 pada BA dibanding kontrol.¹⁷⁵

D. Respons positif terhadap imunosupresi

Terapi imunosupresif banyak digunakan sebagai terapi ajuvan operasi Kasai portoenterostomi, dengan tujuan mempertahankan aliran empedu jangka panjang. Pada tahun 2001, Dillon dkk., secara retrospektif menganalisis 25 penderita yang diobati dengan kortikosteroid dan menemukan bahwa 76% bebas ikterus pada pengamatan rata-rata 50 bulan.¹⁸¹ Meyers dkk., 2003 melakukan studi retrospektif 28 bayi dengan BA dan menemukan bahwa penderita yang menerima steroid memiliki kelangsungan hidup keseluruhan 92% dengan hati mereka dibandingkan 38% yang tidak menerima steroid.²²⁴ Pada tahun 2004, di Jepang dilakukan survei mengenai penggunaan kortikosteroid setelah operasi Kasai.⁵⁵ Dua ratus delapan dari 222 penderita yang menerima terapi steroid kelangsungan hidup bebas ikterus secara keseluruhan dengan hati asli 58% pada kelompok steroid dan 35,7% pada kelompok nonsteroid ($p < 0,05$). Studi lain di Jepang melakukan analisis perbedaan dalam kelangsungan hidup bebas ikterus dengan hati asli pada penderita yang tidak menerima steroid, menerima steroid pada berbagai dosis, dan menerima steroid pada saat operasi Kasai serta steroid dosis tinggi pada pertama 2 minggu setelah operasi jika tinja menjadi akholis.²²⁵ Didapatkan peningkatan signifikan kelangsungan hidup pada yang menerima semburan steroid dosis tinggi (90,9%) dibandingkan dengan kelompok tanpa steroid (58,3%). Sementara untuk bebas icterus terjadi

33.3±6.4 hari pada kelompok steroid dosis tinggi dan 82.6 ± 29.1 hari pada kelompok nonsteroid ($p < 0,05$). Para penulis menyimpulkan bahwa terapi prednisolon dosis besar memiliki dampak positif pada hasil setelah operasi Kasai berdasarkan pemantauan warna tinja dan aliran empedu. Escobar dkk., 2006 melakukan studi retrospektif pada 21 penderita BA yang menerima steroid setelah operasi Kasai dibandingkan 22 penderita BA yang tidak. Kadar bilirubin normal 6 bulan paska operasi didapatkan pada 76% dari kelompok steroid dibandingkan dengan 37% yang tidak diobati ($p < 0,01$). Namun, tidak ada perbedaan yang signifikan pada kebutuhan terhadap transplantasi hati di kemudian hari. Keterbatasan studi-studi tersebut adalah bersifat retrospektif, riwayat penggunaan steroid, dan kurangnya kontrol terhadap faktor perancu seperti keahlian dokter bedah atau penggunaan antibiotik atau obat lain yang dapat meningkatkan aliran empedu.

5.1 EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION (EMT) PADA PATOGENESIS ATRESIA BILIER

Proliferasi saluran empedu intrahepatik merupakan salah satu fitur konsisten pada hati penderita BA saat diagnosis ditegakkan. Meskipun telah lama dikaitkan dengan hiperplasia reaktif sekunder adanya obstruksi aliran empedu, studi terbaru menemukan adanya hubungan potensial dengan hasil klinis dan perubahan plastisitas seluler menjadi fenotipe mesenkimal yang mungkin terkait dengan fibrosis berlebih yang biasanya terjadi pada BA. Pada studi pertama, proliferasi saluran empedu diukur melalui analisis morfometri persentase CK7-positif (PCK7) dalam hati penderita dengan BA pada saat portoenterostomi. PCK7 berkorelasi dengan prognosis yang buruk paska operasi, sehingga dapat berfungsi sebagai prediktor histologis perjalanan klinis.³

Semakin banyak bukti yang menunjukkan bahwa kolangiosit mungkin merupakan sumber penting fibrogenesis baik secara tidak langsung dengan mengaktifkan sel fibrogenik melalui pelepasan sitokin, atau langsung dengan mengubah keseimbangan menuju akumulasi matriks. Dalam studi menggunakan jaringan manusia, peneliti melaporkan bahwa biakan sel-sel saluran-saluran empedu kecil dan menengah, serta proliferasi saluran empedu dari penderita BA maupun penyakit hati lainnya mengalami *epithel-mesenchymal transition* (EMT) dan membentuk miofibroblast invasif.²²⁶

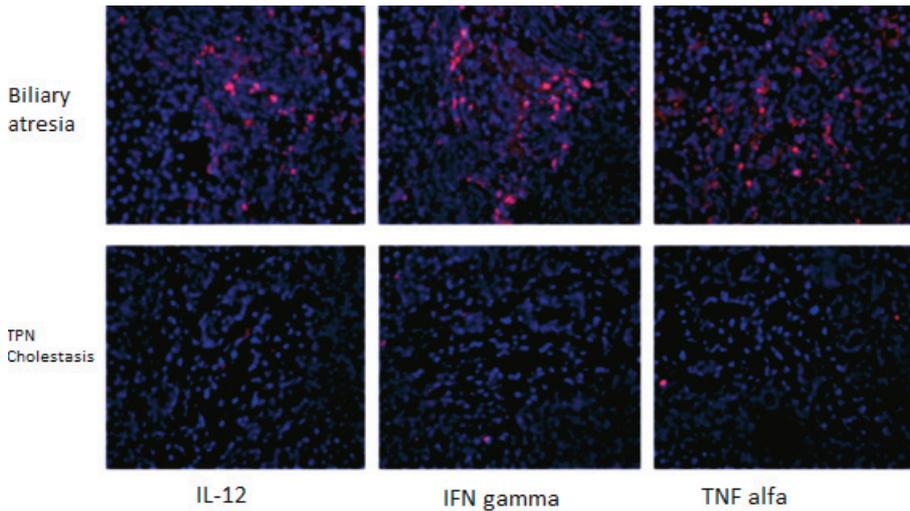
Dalam studi lain, percobaan menggunakan biakan kolangiosit manusia mengungkapkan bahwa stimulasi dengan poli (I:C) yang merupakan analog dsRNA virus meningkatkan ekspresi pemicu EMT, marker mesenkimal dan faktor transkripsi yang terkait dengan EMT, sedangkan ekspresi penanda epitel menurun.²²⁷ Dalam kultur jaringan kolangiosit, pemberian pemicu EMT *basic fibroblast growth factor* (β FGF) dan TGF- β 1 membangkitkan respons EMT yang khas, dengan fitur transformasi menjadi miofibroblas. Data lain menunjukkan peran potensial EMT dalam kolangiopati sklerosis pada BA meliputi kurangnya penanda epitel dan ekspresi menyimpang dari penanda mesenkimal vimentin oleh sel epitel saluran empedu ekstrahepatik dan kelenjar peribiliar, serta ekspresi β FGF oleh epitel saluran empedu dipengaruhi adanya sklerosis.

5.2 TEMUAN KLINIS PERAN PROSES IMUNOLOGI PADA ATRESIA BILIER

Beberapa studi yang mempelajari aspek imunologi dalam patogenesis BA menunjukkan bahwa ternyata proses imun mendasari proses pathogenesis pada BA bahkan proses inflamasi terkait proses imun tersebut masih berlangsung meskipun telah terjadi obstruksi bilier. Saito dkk., melakukan penelitian terhadap jaringan hati yang diperoleh

dari 49 pasien dengan penyakit hepatobilier, yaitu 19 sampel dengan BA, 21 sampel dengan kista koledochal, dan 9 sampel dengan penyakit hepatobilier lainnya. Korelasi antara tingkat ekspresi TLR mRNA dan usia saat pengambilan sampel diperiksa untuk masing-masing TLR pada pasien dengan BA. Hasil dari penelitian tersebut adalah TLR8 mRNA yang mengode reseptor untuk RNA untai tunggal adalah secara signifikan lebih tinggi pada kelompok BA awal dibandingkan dengan kelompok non-BA ($P = 0,008$). Tingkat mRNA TLRs 2 dan 8 pada kelompok BA adalah secara signifikan lebih tinggi pada kelompok awal dibandingkan pada kelompok akhir ($P = 0,02$ dan $0,006$), meskipun tidak ada korelasi yang signifikan antara ekspresi mRNA TLR dan usia saat pengambilan sampel, kecuali untuk TLR7 ($r = 0,77$, $P = 0,001$). Dibandingkan dengan kelompok yang tidak melakukan transplantasi hati atau *non-liver transplantation* (non-LT), kelompok *liver transplantation* (LT) menunjukkan ekspresi mRNA TLR 3 dan 7 secara signifikan lebih tinggi ($P = 0,02$ dan $0,01$, masing-masing). Hasil penelitian tersebut juga dapat menjelaskan bahwa respons *innate immunity* dapat berkontribusi pada inisiasi dan perkembangan BA.²⁰⁸

Mack dkk., melakukan studi terhadap jaringan liver dari neonatus yang dikelompokkan menjadi neonatus dengan BA ($n=10$), dengan kolestasis selain BA ($n=11$), liver normal ($n=4$). Studi tersebut dilakukan untuk mengetahui peran system imun yang mendasari proses inflamasi yang ada di dalam hati bayi dengan BA untuk mengetahui peran proses imun primer versus proses imun sekunder nonspesifik dalam patogenesis obstruksi bilier. Hasilnya adalah terdapat profil sitokin tipe Th1 dengan ekspresi IL-2, IFN- γ , TNF- α , dan IL-12 pada jaringan liver BA namun tidak pada kelompok neonatus dengan kolestasis selain BA dan kelompok bayi dengan liver normal.²²⁸



GAMBAR 5.1 Imunohistokimia potongan jaringan liver pada kelompok atresia bilier dibandingkan dengan kelompok koloestasis lainnya.¹⁸⁷

Pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan liver kelompok BA didapatkan sel-sel pada daerah saluran porta memproduksi sitokin Th1. Potongan beku dari jaringan liver dengan BA dan kolestasis terkait TPN dilakukan hibridisasi dengan spesifik sitokin dan pewarnaan sianin (merah). Potongan jaringan kemudian diberi pewarnaan *counterstain* dengan warna biru dan dilihat melalui mikroskop fluoresens pembesaran 200 kali. Tampak ekspresi IL-2, IFN- γ , dan TNF- α pada jaringan saluran porta pasien dengan atresia bilier namun tidak tampak pada saluran porta pasien dengan kolestasis terkait TPN.²²⁸

Zhang dkk., meneliti jaringan liver dari kelompok neonatus dengan BA prognosis baik ($n = 16$), BA prognosis buruk ($n = 14$), neonatus dengan kista *choledocal cyst* ($n = 8$) dengan PCR pemeriksaan histologi. Penelitian tersebut ditujukan untuk mengeksplorasi lebih jauh tentang bagaimana infiltrasi subset sel T CD4 + dan signifikansinya pada BA. Hasilnya adalah terdapat infiltrasi Th1, Th2, Th17, dan sel ICOS + Treg

meningkat secara signifikan pada liver pasien BA dibandingkan dengan kontrol dan dikaitkan dengan prognosis yang buruk.²²⁹

Shinkai dkk., melakukan studi terhadap spesimen biopsi liver kelompok BA non sindromik ($n = 10$), kelompok koledokal dilatasi ($n = 2$), kelompok kolestasis lain ($n = 3$) dengan melakukan pemeriksaan PCR, *antibody assay*. Tujuan studi tersebut untuk membuktikan proses peradangan yang dimediasi sel limfosit dalam hati dan saluran empedu sebagai mekanisme potensial dalam patogenesis BA yang dikaitkan dengan peningkatan regulasi sitokin inflamasi tipe TH1. Hasilnya adalah terdapat peningkatan limfosit CD8+ pada daerah porta yang signifikan pada dalam spesimen biopsi hati bayi dengan BA dan peningkatan ekspresi IL2 mRNA yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol.²³⁰ Pemeriksaan imunohistokimia yang menunjukkan hasil peningkatan yang signifikan pada sel limfosit CD8+ di saluran portal pada bayi dengan BA dibandingkan dengan gangguan kolestatik lainnya, sementara jumlah sel CD4 + di saluran portal pada semua bayi lebih sedikit.²³⁰

Narayanaswamy dkk., meneliti sampel darah dari pasien BA post Kasai dengan kolestasis ($n = 10$) dan kelompok kontrol non-kolestatik ($n = 10$) menggunakan RT-PCR. Hasil penelitian tersebut adalah terdapat sel pro inflamasi yang bersirkulasi pada kelompok BA yang bersifat progresif. Penurunan ekspresi marker CD68 di dalam hati dan penurunan ekspresi ICAM-1.²³¹



BAB 6

Kortikosteroid pada Atresia Bilier

6.1 MEKANISME ANTIINFLAMASI KORTIKOSTEROID

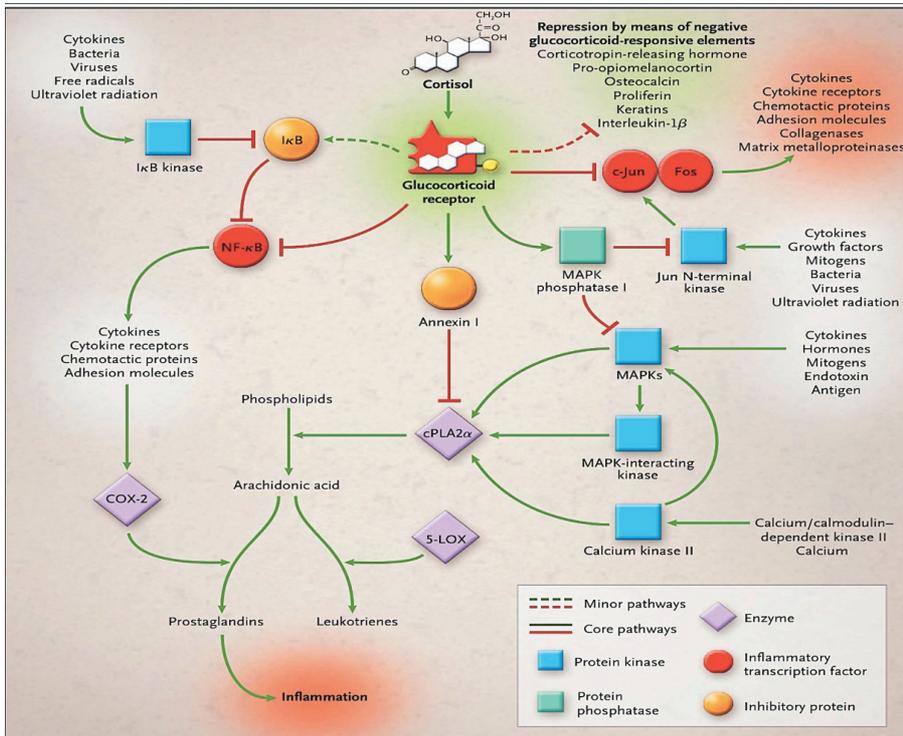
Kortikosteroid, juga dikenal sebagai glukokortikosteroid, glukokortikoid atau hanya steroid, merupakan salah satu obat yang paling banyak digunakan dan efektif pada berbagai penyakit inflamasi dan sistem kekebalan. Terdapat kemajuan penting pemahaman mekanisme molekuler kortikosteroid dalam menekan peradangan, berdasarkan perkembangan terakhir dalam memahami mekanisme dasar dari transkripsi gen dan sel sinyal pada peradangan.^{232,233} Pemahaman baru mekanisme molekuler tersebut juga membantu menjelaskan bagaimana kortikosteroid dapat menghambat berbagai jalur inflamasi, namun tetap merupakan pengobatan yang aman. Efek dominan kortikosteroid adalah menonaktifkan beberapa gen inflamasi (*encoding* sitokin, kemokin, molekul adhesi, enzim inflamasi, reseptor, dan protein)

yang telah diaktifkan saat proses inflamasi kronis. Dalam konsentrasi yang lebih tinggi kortikosteroid memiliki efek tambahan pada sintesis protein anti-inflamasi dan efek *postgenomic*.²³⁴

Glukokortikoid dan reseptor glukokortikoid berada pada puncak rangkaian regulasi yang menghambat beberapa jalur inflamasi.²³³ Glukokortikoid dapat menghambat produksi prostaglandin melalui tiga mekanisme independen: induksi dan aktivasi Annexin I, induksi MAPK fosfatase 1, dan represi transkripsi siklooksigenase 2. Annexin I (juga disebut lipocortin-1) adalah protein anti-inflamasi yang berinteraksi secara fisik dan menghambat fosfolipase sitosol A₂α (cPLA₂α).^{235,236} Untuk menjalankan aktivitas enzimatisnya, protein pengikat kalsium tersebut membutuhkan kadar kalsium yang tinggi dan fosforilasi oleh protein kinase MAPK, *calcium/calmodulin-dependent kinase II*, dan MAPK *interacting kinase*.²³⁷ Aktivasi cPLA₂α oleh rangsangan inflamasi dimulai dengan pergerakan fosfolipase dari sitosol ke membran perinuklear, dan menghidrolisis fosfolipid yang mengandung asam arakidonat. Glukokortikoid menginduksi Annexin I, yang menghambat cPLA₂α, sehingga pelepasan asam arakidonat dan konversinya menjadi *eicosanoids* (yaitu, prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, dan leukotrien) juga terhambat. Pada percobaan mencit yang kekurangan Annexin I mengalami peningkatan kadar cPLA₂α, respons inflamasi berlebihan, dan resistansi parsial terhadap efek antiinflamasi glukokortikoid.^{238,239} Terdapat korelasi kuat antara kadar kortisol basal dan *corticotropin-stimulated* dengan ekspresi Annexin I pada neutrofil manusia, tetapi manfaat klinis Annexin I sebagai protein antiinflamasi masih belum diketahui.²⁴⁰

Protein antiinflamasi lain yang juga diinduksi oleh glukokortikoid adalah MAPK fosfatase 1.^{241,242,243} Sitokin, infeksi bakteri dan virus, serta radiasi ultraviolet merupakan sebagian dari berbagai sinyal inflamasi yang mengaktifkan kaskade MAPK.²⁴⁴ Ultraviolet memicu kaskade kinase yang memfosforilasi dan mengaktifkan *Jun N-terminal kinase*,

yang pada gilirannya memfosforilasi faktor transkripsi c-Jun. C-Jun homodimer dan c-Jun-Fos heterodimer yang terfosforilasi mengikat urutan DNA yang disebut elemen aktivator respons protein 1 dan menginduksi transkripsi gen inflamasi dan kekebalan tubuh.²⁴⁴ MAPK



GAMBAR 6.1 Gambaran molekuler parsial mekanisme antagonisme terhadap peradangan yang diinduksi glukokortikoid.²³² Jalur inflamasi ditandai adanya hubungan umpan balik positif (yaitu, sitokin mengaktifkan NF-κB, yang pada gilirannya merangsang sintesis lebih banyak sitokin) dan redundansi (yaitu, sitokin juga mengaktifkan c-Jun-Fos). Reseptor glukokortikoid menghambat jalur tersebut pada beberapa titik, diantaranya langsung menghalangi transkripsi protein inflamasi oleh NF-κB dan aktifatrorprotein 1, menginduksi ekspresi protein anti-inflamasi seperti IκB, Annexin I, dan MAPK fosfatase I. 5-lox = 5 -lipoxygenase, dan COX-2 = siklooksigenase 2. Garis merah menunjukkan hambatan, dan panah hitam aktivasi.²³³

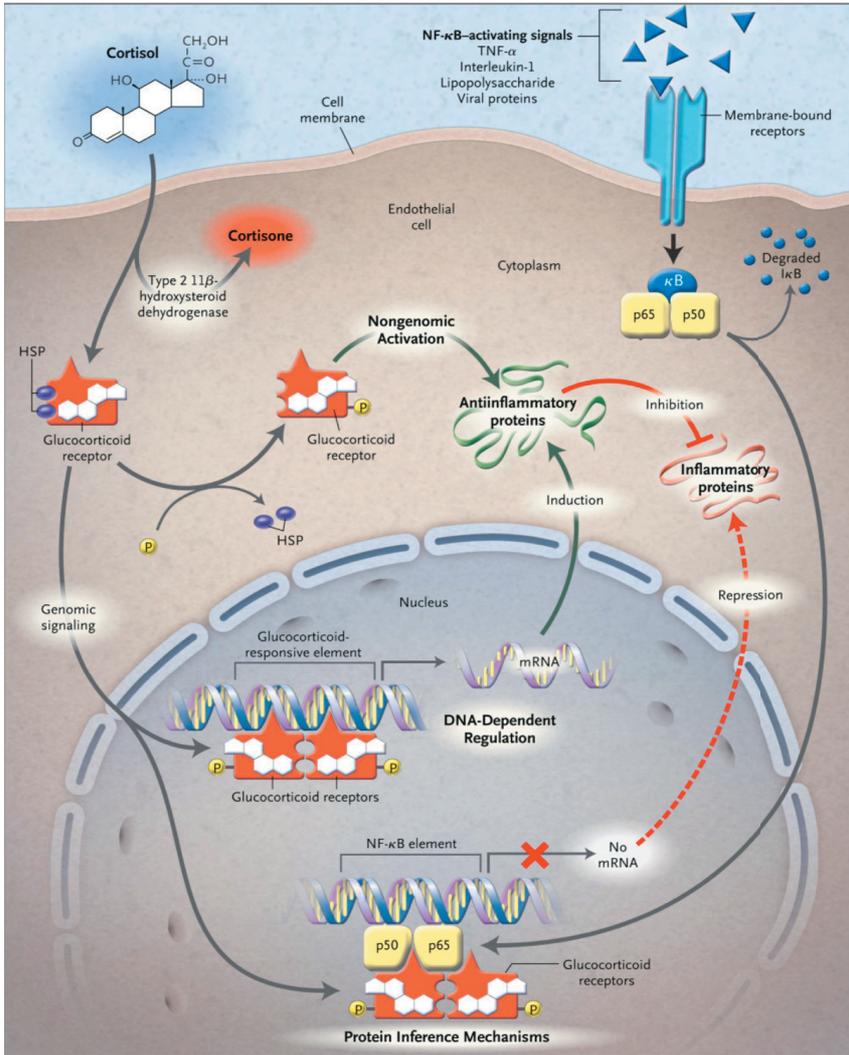
fosfatase 1 yang diinduksi glukokortikoid mendefosforilasi dan menginaktivasi Jun N-terminal kinase, sehingga menghambat transkripsi yang dimediasi c-Jun. MAPK fosfatase 1 juga mendefosforilasi dan menginaktivasi semua anggota keluarga MAPK protein, meliputi Jun N-terminal kinase, *extracellular-signal-related* kinase 1 dan 2, serta p38 kinase. Akibatnya, MAPK fosfatase 1 juga dapat menghambat aktifitas cPLA₂α dengan menghambat fosforilasinya oleh MAPK dan MAPK-*interacting* kinase. Selain memblokir komponen penting hulu dari jalur c-Jun, glukokortikoid dan reseptor glukokortikoid juga secara langsung mengganggu transkripsi c-Jun-mediated. Gangguan transkripsi antara reseptor glukokortikoid dan c-Jun homodimer (dan c-Jun-Fos heterodimer) merupakan hasil dari interaksi protein-protein dan telah terbukti sebagai mekanisme utama antiinflamasi.²⁴⁴

Kompleks kortisol-reseptor glukokortikoid juga berinteraksi dengan NF-κB untuk memblokir aktivitas transkripsinya.²⁴⁴ Dalam keadaan tidak aktif, NF-κB dalam sitoplasma terikat oleh suatu protein inhibitor yang disebut IκB. TNF-α, interleukin-1, mikroba patogen, infeksi virus, dan sinyal inflamasi lainnya memicu kaskade sinyal yang mengaktifkan kinase IκB.²³³ Fosforilasi IκB menyebabkan *ubiquitination* dan degradasi oleh proteasom, serta pengenalan sinyal NF-κB pada inti. Dalam inti, NF-κB berikatan pada urutan DNA yang disebut NF-κB elemen dan merangsang transkripsi sitokin, kemokin, molekul adesi sel, faktor komplemen, dan reseptor molekul-molekul tersebut. NF-κB juga menginduksi transkripsi siklooksigenase 2, enzim penting untuk produksi prostaglandin.²⁴⁵ Dengan demikian, antagonisme NF-κB yang diinduksi glukokortikoid dan represi siklooksigenase 2 merupakan mekanisme ketiga hambatan sintesis prostaglandin setelah induksi antagonis dari cPLA₂α, Annexin I, dan MAPK fosfatase 1. Interaksi secara langsung antara reseptor glukokortikoid dan NF-κB mungkin merupakan bagian terbesar efek hambatan glukokortikoid pada sinyal NF-κB.²⁴⁶ Selain sifat analog dari represi protein-1 aktifator dan NF-κB

yang dimediasi reseptor glukokortikoid, bagian lain dari permukaan reseptor glukokortikoid melakukan kontak dengan masing-masing faktor transkripsi.²⁴⁷ Glukokortikoid dan reseptor glukokortikoid juga memodulasi aktivitas faktor transkripsi lainnya.²³²

Kajian terbaru menunjukkan bahwa glukokortikoid dapat memiliki efek antiinflamasi yang cepat dan tidak dimediasi perubahan ekspresi gen. Mekanisme *nongenomic* tersebut diketahui melibatkan aktivasi *endothelial nitric oxide synthetase* (eNOS).²⁴⁸ Dalam sel endotel manusia, glukokortikoid merangsang aktivitas *phosphatidylinositol-3-hydroxykinase* (PI3K) melalui reseptor glukokortikoid yang dependen, tapi dengan transkripsi independen. Aktivasi PI3K menyebabkan fosforilasi Akt, yang selanjutnya memfosforilasi dan mengaktifkan eNOS, sehingga menghasilkan oksida nitrat. Pada mencit, jalur aktivasi Akt-PI3K-eNOS yang diinduksi glukokortikoid memberikan perlindungan terhadap kerusakan otot jantung dan cremaster yang diinduksi iskemia atau reperfusi. Temuan ini mengejutkan karena produksi oksida nitrat umumnya berhubungan dengan vasodilatasi dan inflamasi.²⁴⁹ Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperjelas peran mekanisme nontranskripsional dalam menghambat vasodilatasi, permeabilitas vaskuler, dan migrasi leukosit melintasi endothelium.²⁵⁰ Mekanisme lain hambatan inflamasi yang diinduksi glukokortikoid melibatkan penurunan stabilitas mRNA dari gen protein inflamasi, seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular dan siklooksigenase 2.^{242,251,252} Dalam mengontrol peradangan glukokortikoid bekerja pada target yang beragam melalui berbagai mekanisme.

Setelah kortikosteroid terikat GR, terjadi perubahan struktur reseptor yang berakibat pemisahan protein pendamping molekuler, sehingga menyingkapkan sinyal lokalisasi inti pada GR. Hal ini mengakibatkan transportasi cepat dari kompleks GR-kortikosteroid aktif ke dalam inti, dan mengikat DNA pada urutan tertentu di daerah promotor gen kortikosteroid-responsif yang dikenal sebagai



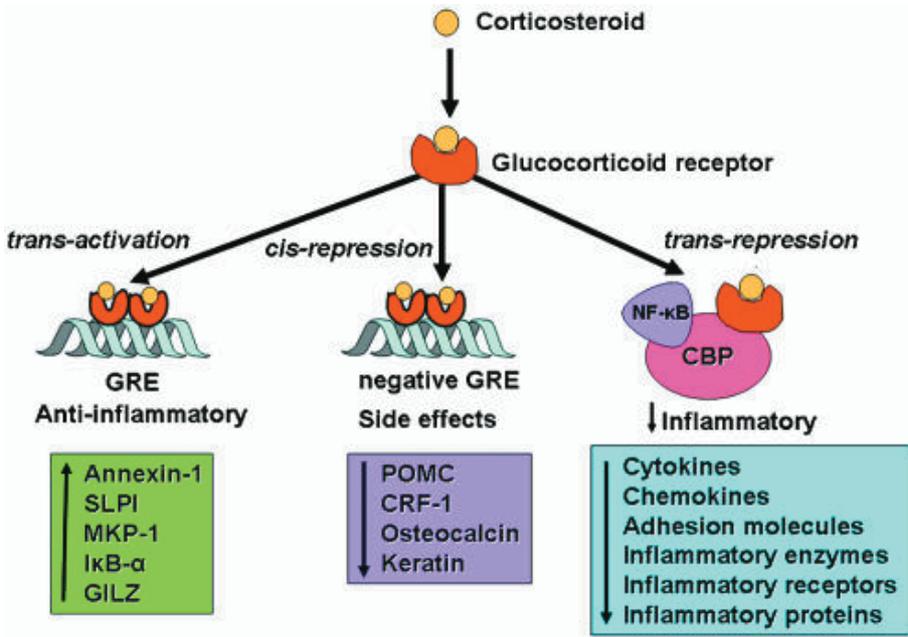
GAMBAR 6.2 Tiga mekanisme kerja utama glukokortikoid dan reseptor glukokortikoid dalam menghambat peradangan.²³² TNF- α menunjukkan tumor necrosis factor, HSP heat-shock protein, mRNA RNA, dan P fosfat. Tiga mekanisme meliputi aktivasi nongenomic, regulasi DNA-dependent, dan mekanisme gangguan protein (misalnya, NF- κ B elemen). Panah hitam menunjukkan aktivasi, garis merah = hambatan, panah merah putus-putus = represi, dan X merah = gangguan produksi (misalnya, tidak ada mRNA).²³²

glucocorticoid response element (GRE). Dua molekul GR datang bersama-sama sebagai homodimer dan terikat pada GRE, menyebabkan perubahan transkripsi gen. Interaksi GR dengan GRE menyebabkan peningkatan transkripsi gen (*trans-activation*), tetapi juga didapatkan sisi negatif GRE, yaitu pengikatan GR menyebabkan penekanan gen (*cis-repression*) (Gambar 2.10).

Potensi glukokortikoid sebagai inhibitor berbagai gangguan inflamasi menjamin kontinuitas penggunaannya sebagai agen terapeutik. Efek antiinflamasi dan immunosupresif glukokortikoid mengandalkan beberapa mekanisme molekuler, seperti yang telah dijelaskan dalam penelitian dasar.²³³ Tiga mekanisme utama meliputi efek langsung pada ekspresi gen melalui ikatan reseptor glukokortikoid pada unsur responsif glukokortikoid (yaitu, induksi Annexin I dan MAPK fosfatase 1), efek tidak langsung pada ekspresi gen melalui interaksi reseptor glukokortikoid dengan faktor-faktor transkripsi lainnya (yaitu, NF- κ B dan protein aktifator 1), dan efek pada kaskade *messenger* kedua yang dimediasi reseptor glukokortikoid (yaitu, jalur PI3K-Akt-eNOS).²³⁴ Perlu diperhatikan bahwa beberapa dari mekanisme glukokortikoid juga terlibat dalam sinyal fisiologis sehingga sering disertai dengan efek samping yang signifikan secara klinis. Belum jelas apakah isoform dari reseptor glukokortikoid yang berbeda-beda melalui akan tiap-tiap tahapan mekanisme tersebut. Belum diketahui pula apakah aktivasi mekanisme yang diinduksi glukokortikoid tertentu akan meredakan penyakit tertentu atau menyebabkan efek samping tertentu.²³³

Kortikosteroid masuk ke dalam sel mengikat reseptor glukokortikoid (GRS) dalam sitoplasma yang mentranslokasi ke inti. Homodimers GR mengikat elemen respons glukokortikoid (GREs) pada daerah promotor dari gen steroid-sensitif, yang mengkodekan protein antiinflamasi. Selain itu, homodimers GR berinteraksi dengan GREs negatif untuk menekan gen, terutama yang terkait dengan efek

samping kortikosteroid. GRS inti juga berinteraksi dengan molekul co-aktivator, seperti *cAMP-response-element-binding-protein-binding protein* (CBP), yang diaktifkan oleh pro-inflamasi faktor transkripsi, seperti *nuclear factor* (NF)- κ B, sehingga mematenkan gen inflamasi yang diaktifkan oleh faktor-faktor transkripsi (Gambar 29).²³³



GAMBAR 6.3 Beberapa cara kortikosteroid dalam mengatur ekspresi gen.²³³

Sel target glukokortikoid dalam penekanan fungsi kekebalan tubuh meliputi limfosit-T, monosit-makrofag, eosinofil, sel mast, sel dendritik, dan sel endotel. *Down-regulasi* sitokin bukan satu-satunya efek glukokortikoid terhadap respons imun normal dan inflamasi. Glukokortikoid diyakini merangsang produksi sitokin antiinflamasi TGF- β dalam sel target melalui mekanisme pra-dan pascatranskripsi. Glukokortikoid menghambat ekspresi molekul adhesi pada *antigen-presenting cells* (APC) melalui mekanisme yang membutuhkan aktivasi

GR, dan glukokortikoid menginduksi apoptosis dalam limfosit- T, monosit, dan eosinofil matur, tetapi secara paradoks mengganggu destruksi normal perkembangan timosit yang menggambarkan *self-affinity*. Glukokortikoid dapat memainkan peran dalam penyakit autoimun.²⁵² Tabel 12 memberikan gambaran proses seluler yang dipengaruhi pengobatan glukokortikoid dalam tata laksana gangguan kekebalan.

TABEL 6.1 Mekanisme immunosupresi yang diinduksi glukokortikoid.²⁵²

Proses seluler yang menjadi target	Hasil dari terapi glukokortikoid	Sel yang terpengaruh	Mekanisme
Produksi sitokin	Penurunan ekspresi IL1,	Limfosit sel T CD4, makrofag, fibroblas, sel epitel	Antagonis faktor transkripsi NF-kB, NF-AT, dan AP-1 De-stabilisasi mRNA (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, dan GM-CSF)
Produksi nitrit oksida	Menurun	Sel epitel bronkial	<i>Down-regulation</i> dari sitokin dan penurunan sintesis level nitrit oksida
Produksi prostaglandin, leukotrien	Menurun	Limfosit T	<i>Up-regulation</i> dari sintesis lipocortin-1 yang menghambat produksi prostaglandin dan leukotrien
Produksi TGF beta	Meningkat	Limfosit T	Peningkatan transkripsi dan stabilisasi mRNA
Viabilitas seluler	Menurun	Limfosit T, monosit, dan eosinofil	Stimulasi apoptosis dengan penurunan produksi sitokin; induksi <i>cleavage</i> DNA

Proses seluler yang menjadi target	Hasil dari terapi glukokortikoid	Sel yang terpengaruh	Mekanisme
Ekspresi molekul adesi	Penurunan ekspresi ELAM-1, E-selektin, ICAM-1, dan VCAM-1	Sel endotel, monosit, sel epitel bronkial, dan neutrophil	Berhubungan dengan kerja NF-kB, <i>Cytokine down-regulation</i> , <i>TGF beta upregulation</i> , Mekanisme “non-genomik”
Aktivasi seluler yang diinduksi oleh IL-2 dan IFN-gamma	Menurun	Limfosit T	Sintesis protein antagonis, represi sinyal enzim
<i>Mitogen-activated protein kinase activity</i>	Menurun	Sel endotel	Mekanisme “non-genomik”
Stimulasi APC primer	Menurun	Limfosit T	Mempengaruhi proses inflamasi
Diferensiasi Th1/Th2	Th1→Th2	Limfosit T	Perubahan keseimbangan sitokin pro- dan antiinflamasi dari sel Th naif

Tabel 6.1 menunjukkan berbagai proses seluler yang menjadi target pengobatan glukokortikoid beserta mekanisme, sel yang terlibat dan hasil pengobatannya. Dari hasil di atas dapat diketahui bahwa dalam menekan proses inflamasi, glukokortikoid bekerja secara simultan pada berbagai tahapan proses inflamasi.²⁵²

6.2 PENGOBATAN KORTIKOSTEROID PADA ATRESIA BILIER

Penggunaan klinis steroid pada BA meningkat tajam dalam beberapa tahun terakhir setelah publikasi dari serangkaian penelitian membuktikan hasil yang lebih baik pada terapi rutin steroid paska

HPE dibandingkan dengan berbagai kelompok kontrol.^{181,224,225} Penelitian-penelitian 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-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 BA tahun 2002-2003 melalui survei nasional 54 lembaga di Jepang,⁵⁸ hanya 2 yang tidak menggunakan steroid, 43 secara rutin dan secara selektif digunakan di 9 pusat. Dari tahun 1997 hingga 2000, 208 penderita dengan BA tipe III mendapat pengobatan steroid, dan hanya 14 yang tidak. Mayoritas ahli bedah anak cenderung untuk memberikan terapi steroid pada penderita BA setelah dilakukan prosedur Kasai.

Suatu peristiwa pada awal perinatal (misalnya, serangan virus atau lainnya) memicu apoptosis kolangiosit dan kelainan ekspresi kompleks histokompatibilitas utama (MHC) kelas II pada saluran empedu ekstrahepatik dan intrahepatik pada *host* dengan kerentanan imunologis. Antigen virus dan/atau saluran empedu yang asli atau berubah difagositosis oleh makrofag atau sel dendritik dan disajikan ke sel T *naive* pada kelenjar getah bening lokal di mana virus/Sel T CD4+ saluran empedu spesifik diaktivasi dan berkembang biak, oleh stimulasi IL-2. Sel T CD4+ aktif (yang mungkin autoreaktif) kembali ke tempat paparan antigen dan membangkitkan fungsi sel-T efektor, meliputi stimulasi makrofag yang diinduksi IFN- γ dan aktivasi sel T CD8+ sitotoksik. Pelepasan TNF α , NO, ROS oleh makrofag dan pelepasan granzim, perforin, IFN γ oleh Sel T CD8+ berakibat

kerusakan lebih lanjut kolangiosit melalui jalur apoptosis atau nekrotik. Secara bersamaan, kolangiosit dan sel endotel vaskular merangsang ekspresi molekul adhesi dan mensekresi kemokin untuk merekrut neutrofil dan makrofag ke tempat kerusakan saluran empedu. Melalui pelepasan mediator terlarut, sel-sel tersebut kemudian merekrut dan mengaktifkan sel stellata hati (miofibroblas) dan fibroblast yang memulai deposisi matriks ekstraseluler dan fibrosis dari saluran empedu yang mengalami kerusakan tersebut. Inflamasi, kerusakan kolangiosit, dan fibrosis menyebabkan obstruksi total saluran empedu dan menghasilkan fenotip atresia bilier.⁵⁶

Efek potensial terapi steroid diduga berhubungan dengan induksi Na^+K^+ -ATPase, yang meningkatkan transportasi kanalikuler elektrolit dan garam empedu, sehingga merangsang aliran empedu.²⁵⁴ Kortikosteroid juga terbukti meningkatkan *sodium hydrogen exchanger* (NHE) isoform dari penukar Na^+/H^+ dan penukar $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, sehingga memproduksi lebih banyak empedu yang diperkaya bikarbonat.²⁵⁵ Selain itu, telah banyak dijelaskan kortikosteroid memiliki berbagai sifat antiinflamasi dan imunomodulator yang berpotensi menghambat migrasi limfosit dan makrofag ke dalam saluran empedu yang mengalami kerusakan, meningkatkan transkripsi pengkodean gen untuk protein antiinflamasi, dan meningkatkan respons imun antiinflamasi Th2.²⁵⁶ Hsieh dkk., 2004 melaporkan bahwa steroid mengurangi ekspresi kemokin (interleukin-8 dan *monocyte chemotactic protein-1*) pada model mencit dengan kolangitis bakteri, dan dapat menjelaskan pengamatan Karrer dan Lilly pada manfaat steroid dalam pengobatan kolangitis. Oleh karena fibrosis dari sisa-sisa saluran empedu dan saluran intrahepatik pada BA dikaitkan dengan respons inflamasi yang kuat, diduga bahwa melalui penekanan respons imun, steroid akan mampu mengurangi fibrosis dan penyumbatan saluran empedu intrahepatik, sehingga dapat mempertahankan aliran empedu.²⁵⁷ Dengan demikian,

terdapat pembenaran secara ilmiah yang memadai tentang manfaat potensial terapi steroid pada BA.⁵⁶

Dalam upaya untuk meningkatkan aliran empedu dan mengurangi kolangitis pascaoperasi, dianjurkan pemberian kortikosteroid pascaoperasi di beberapa pusat.⁵⁶ Pada tahun 2001, Dillon dkk., menganalisis secara retrospektif 25 penderita yang mendapat terapi kortikosteroid dan menemukan bahwa 76% bebas ikterus pada pemantauan selama 50 bulan.¹⁸¹ Meyers dkk., 2003 melakukan studi retrospektif terhadap 28 bayi dengan BA dan menemukan bahwa penderita yang menerima steroid memiliki kelangsungan hidup dengan hati asli mereka 92% dibandingkan dengan kelangsungan hidup 38% pada penderita yang tidak menerima steroid.²²⁴ Survei perhimpunan atresia bilier Jepang pada tahun 2004 mengenai penggunaan kortikosteroid setelah operasi Kasai, 208 dari 222 penderita menerima terapi steroid dengan tingkat kelangsungan hidup bebas ikterus dengan hati asli 58% pada kelompok steroid dan 35,7% pada kelompok nonsteroid ($p = 0,05$).⁵⁸ Studi lain di Jepang menganalisis perbedaan dalam kelangsungan hidup bebas ikterus dengan hati asli antara penderita yang tidak menerima steroid, penderita yang menerima steroid pada dosis bervariasi, dan penderita yang menerima steroid pada saat operasi Kasai dilanjutkan 2 minggu setelah operasi jika feses tetap pucat. Didapatkan peningkatan signifikan dalam kelangsungan hidup pada kelompok steroid yang menerima steroid tambahan 2 minggu (90,9%) dibandingkan kelompok tanpa steroid (58,3%), dan rata-rata waktu bebas ikterus $33,3 \pm 6,4$ hari pada kelompok steroid dan $82,6 \pm 29,1$ hari pada kelompok non-steroid ($p < 0,05$).²²⁵ Para penulis menyimpulkan bahwa terapi prednisolon dosis besar setelah operasi Kasai dengan pemantauan warna tinja memiliki dampak positif pada hasil operasi. Escobar dkk., melakukan studi retrospektif pada hasil akhir dari 21 penderita BA yang menerima steroid setelah operasi Kasai dibandingkan 22 penderita BA yang tidak, kadar bilirubin normal

pascaoperasi dicapai pada 6 bulan pada 76% dari kelompok steroid dibandingkan dengan 37% yang tidak diobati ($p = 0,01$).²⁵⁸ Namun tidak ada perbedaan yang signifikan dalam kebutuhan transplantasi hati di kemudian hari.

Hingga saat ini belum ada bukti klinis yang solid bahwa steroid bermanfaat pada BA, sebagian besar penelitian yang dipublikasikan bersifat retrospektif dan tidak menggunakan kontrol.^{258,259,260} Hanya ada dua penelitian prospektif yang dipublikasikan, yaitu Petersen dkk., 2008 menggunakan rejimen steroid dosis tinggi untuk mengobati 20 penderita setelah portoenterostomi Kasai dan dibandingkan dengan kelompok kontrol secara historis, sedangkan Davenport dkk., 2007 melakukan studi prospektif, buta ganda, acak, kontrol plasebo pemberian dosis rendah prednisolon oral pada 71 anak-anak dengan BA.^{261,262} Kedua penelitian tidak menunjukkan adanya perbedaan kelangsungan hidup secara keseluruhan, frekuensi transplantasi hati, kelangsungan hidup dengan hati asli atau kelangsungan hidup bebas ikterus dengan hati asli. Keterbatasan lain dari studi-studi di atas adalah penggunaan kontrol dengan riwayat bebas steroid, dan kurangnya kontrol sebagai faktor perancu misalnya kemampuan ahli bedah dan penggunaan antibiotik atau agen lain yang bisa meningkatkan aliran empedu.⁷² Saat ini di Amerika Serikat sedang dilakukan sebuah studi terapi kortikosteroid pada saat portoenterostomi yang bersifat prospektif, acak, tersamar ganda, dan terkontrol plasebo.²²

Penentuan apakah terapi steroid digunakan dalam BA harus mempertimbangkan tidak hanya keberhasilan potensi, tetapi juga efek samping obat dalam rangka penentuan risiko-manfaat pengobatan. Sayangnya, keamanan pengobatan steroid pada bayi dengan BA belum pernah dikaji secara prospektif. Hanya beberapa kejadian efek samping yang pernah dilaporkan dan berasal dari pengumpulan data yang bersifat retrospektif.⁵⁶ 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.⁵⁸

Studi Pengaruh Kortikosteroid terhadap Inflamasi

Studi pada hewan coba dilakukan untuk menganalisis hubungan kortikosteroid dengan inflamasi pada tikus yang mengalami atresia bilier melalui prosedur pengamatan dan perlakuan selama 21 (dua puluh satu hari) pada 44 ekor bayi mencit Balb/c yang dibagi secara acak dengan menggunakan tabel randomisasi menjadi 11 kelompok, yaitu 4 kelompok kontrol (KK), 4 kelompok coba dengan induksi RRV (KC) dan 3 kelompok dengan induksi RRV yang diterapi *dexamethasone*. Studi tersebut menganalisis beberapa komponen, seperti gambaran respons imun *innate*, perubahan *innate* ke adaptif *nonsel*, adaptif *nonsel*, dan adaptif *self*. Oleh karena didapatkan beberapa bayi mencit dari kelompok coba yang mati, maka total sampel akhir yang dapat dianalisis adalah 37 ekor bayi mencit.²⁶²

TABEL 6.2 Berat badan subjek penelitian.²⁶²

Hari	Kelompok kontrol				Kelompok RRV				Kelompok RRV + Dexamethasone		
	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14
Jumlah perkelompok	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Rerata BB awal (g)	1,84	1,82	1,80	1,81	1,85	1,83	1,80	1,82	1,83	1,80	1,81
SD	(0,01)	(0,02)	(0,01)	(0,02)	(0,02)	(0,01)	(0,01)	(0,02)	(0,01)	(0,02)	(0,01)
Putus uji	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1
Sampel akhir	4	4	3	4	3	3	3	3	3	4	3

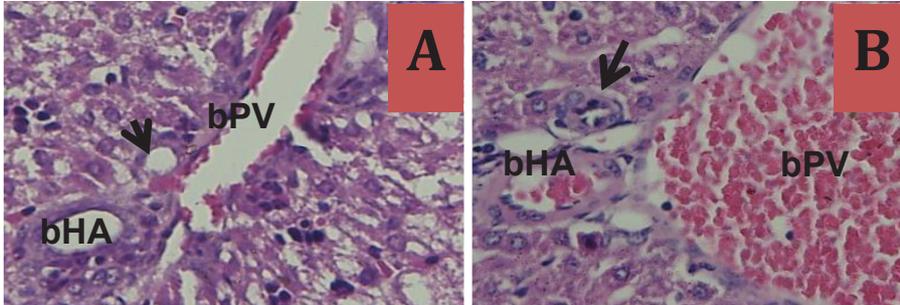
Homogenitas dengan uji Kolmogorov-smirnov $p = 0,2$

Tabel 6.2 menunjukkan bahwa karakteristik dasar berat badan sampel pada awalnya bersifat homogen. Pada studi ini, dilakukan pemeriksaan histopatologis sampel secara representatif. Berikut ini perbandingan gambaran histopatologis saluran bilier secara kualitatif antara kelompok perlakuan, kelompok coba dengan kontrol (Tabel 14).²⁶²

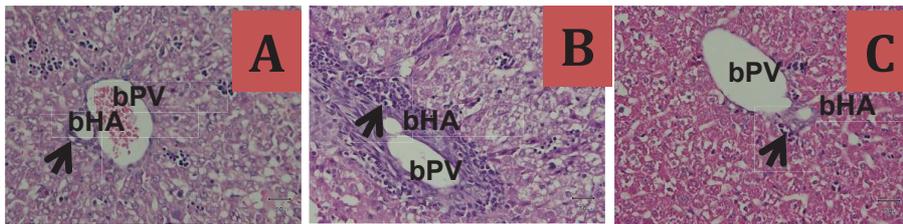
TABEL 6.3 Perbandingan gambaran histopatologis saluran bilier secara kualitatif antara kelompok kontrol, kelompok induksi RRV dengan kelompok perlakuan *dexamethasone*.²⁶²

Hari ke	Kelompok Kontrol	Kelompok Mencit Atresia Biliar yang Diinduksi RRV	Kelompok Mencit Atresia Biliar yang Diinduksi RRV + <i>Dexamethasone</i>
3	Tidak ada sel radang, lumen tidak menyempit = Grade 0	Terdapat sel-sel radang, lumen mulai menyempit = Grade 1	–
7	Tidak ada sel radang, lumen tidak menyempit = Grade 0	Infiltrasi sel-sel radang bertambah banyak, lumen lebih sempit dibanding hari ke-3 = Grade 2	Terdapat sel-sel radang yang lebih sedikit dibanding kelompok coba RRV, lumen agak menyempit dibanding kontrol = Grade 1
14	Tidak ada sel radang, lumen tidak menyempit = Grade 0 (Gambar 5.3 A)	Infiltrasi sel radang sangat banyak, lumen sudah buntu = Grade 3 (Gambar 5.3 B)	Tidak terlihat infiltrasi sel radang, lumen tidak menyempit = Grade 0 (Gambar 5.3 C)
21	Tidak ada sel radang, lumen tidak menyempit = Grade 0	Lumen tidak ada (atresia) = Grade 4	Terlihat sedikit infiltrasi sel-sel radang, lumen saluran empedu agak menyempit, tapi tidak mengalami pembuntuan atau atresia = Grade 1

Gambar 30-34 menunjukkan gambaran histopatologis (pengecatan Hematoxilin-Eosin dan pembesaran 400x) yang mewakili masing-masing kelompok hewan coba berdasarkan hari saat terminasi.



GAMBAR 6.4 Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-3.²⁶² A. Kelompok kontrol (KK): tidak terlihat adanya sel-sel radang pada saluran empedu dengan lumen yang tidak menyempit (panah hitam), B. Kelompok coba (KC): terlihat infiltrasi sel-sel radang disertai pembengkakan lumen pada saluran empedu yang menyebabkan lumen mulai menyempit (panah hitam).



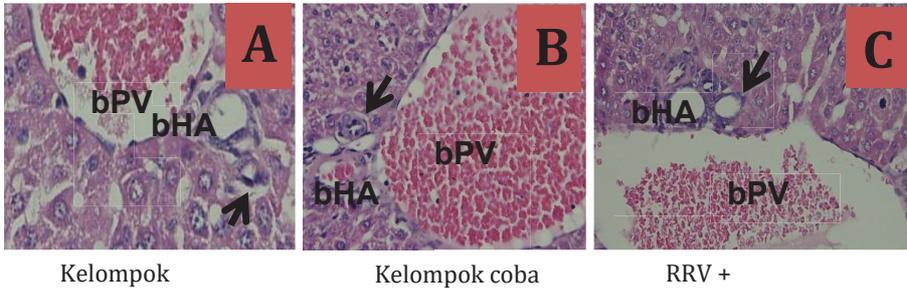
Kelompok kontrol

Kelompok coba RRV

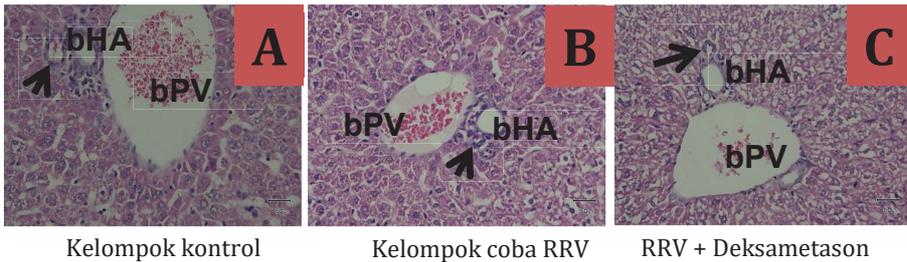
RRV +
Deksametason

GAMBAR 6.5 Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-7.²⁶² A) Kelompok kontrol (KK): tidak terlihat adanya sel-sel radang pada saluran empedu dengan lumen yang tidak menyempit (panah hitam); B) Kelompok coba (KC): terlihat infiltrasi sel-sel radang yang sangat banyak menyebabkan pembengkakan lumen saluran empedu yang berakibat lumen bertambah sempit dibanding hari ke-3; C) Kelompok perlakuan (KCP): terlihat adanya sedikit sel-sel radang pada saluran empedu dibanding kelompok

coba RRV tanpa dexamethasone dengan lumen yang agak menyempit dibanding kontrol.



GAMBAR 6.6 Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-14.²⁶² A) Kelompok kontrol (KK): tidak terlihat adanya sel-sel radang pada saluran empedu dengan lumen yang tidak menyempit; B) Kelompok coba (KC): terlihat infiltrasi sel-sel radang yang sangat banyak menyebabkan pembengkakan lumen saluran empedu sehingga lumen menjadi sangat sempit; C) Kelompok perlakuan (KCP): tidak terlihat adanya sel-sel radang pada saluran empedu dengan lumen yang tidak menyempit.



GAMBAR 6.7 Histologi irisan jaringan hati dan saluran bilier bayi mencit setelah terminasi hari ke-21.²⁶² A) Kelompok kontrol (KK): tidak terlihat adanya sel-sel radang pada saluran empedu dengan lumen yang tidak menyempit, B) Kelompok coba (KC): terlihat lumen saluran empedu telah mengalami atresia. C) Kelompok perlakuan (KCP): terlihat lumen saluran empedu agak menyempit, tapi tidak mengalami atresia

Keterangan:

- bVP : cabang vena porta (*branch vein porta*)
- bHA : cabang arteri hepatica (*branch hepatic artery*)
- (panah hitam) : saluran empedu

Gambaran histopatologis di atas (Gambar 28–31), menunjukkan bahwa proses perkembangan terjadinya atresia bilier dari waktu ke waktu yang dimulai dengan terjadinya infiltrasi sel-sel radang yang bertambah banyak sehingga menyebabkan terjadinya pembuntuan saluran empedu yang berakhir dengan atresia bilier. Hal ini didukung dengan adanya peningkatan N-cadherin dan E-cadherin dengan penurunan CK7 dan CK19 secara bertahap sebagai penanda fibrosis dimulai hari ke-7 hingga mencapai puncaknya hari ke-21. Sementara itu, pada kelompok coba RRV dengan terapi *dexamethasone* menunjukkan proses peradangan yang lebih lambat dan kurang dibanding tanpa terapi *dexamethasone*. Pada pemberian *dexamethasone* pada hari ke-7 yang selanjutnya diterminasi hari ke-14 bahkan tidak terlihat infiltrasi sel-sel radang sehingga tidak terjadi penyempitan ataupun pembuntuan saluran bilier.²⁶²

Pada studi tersebut, didapatkan kelompok coba dengan nilai median ekspresi CD68 hari ke-3 adalah 9,47 (SD: 0,08), lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 8,72 (SD: 0,05) demikian juga hari ke-7, 14 maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi CD68 yang jauh lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi CD68 pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi CD68 pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi sel NK (CD68) pada mencit model atresia bilier pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 15).²⁶²

TABEL 6.4 Perubahan ekspresi CD 68 pada kelompok kontrol, induksi RRV dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexa Median (Interkuartil)	<i>p</i> * Antar Kelompok Per Variable
CD 68	3	8,72 (0,05)	9,47 (0,08)	–	0,02***
	7	4,34 (0,10)	16,48 (0,0)	4,91 (0,09)	0,01****
	14	7,60 (1,1)	22,25 (0,0)	13,94 (0,0)	< 0,001**
	21	8,2 (0,54)	55,86 (0,0)	46,53 (0,0)	0,035****
	P	0,004****	0,01****	0,018****	< 0,001****

* perbedaan bermakna dengan uji T-test pada nilai $p < 0,05$

** perbedaan bermakna dengan uji Anova pada nilai $p < 0,05$

*** perbedaan bermakna dengan uji Mann-Whitney pada nilai $p < 0,05$

**** perbedaan bermakna dengan uji Kruskal-Wallis pada nilai $p < 0,05$

Pada variabel CD39 didapatkan ekspresinya hari ke-3 adalah 3,04 (SD: 0,05) pada kelompok coba yang hanya diinduksi RRV, lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 1,9 (SD: 0,02) demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi sel CD39 yang jauh lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi sel makrofag (CD68) pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi sel CD39 pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi CD39 pada mencit model atresia bilier pada hari ke- 7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 16).²⁶²

TABEL 6.5 Perubahan ekspresi CD39 pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan dexamethasone.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok Kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexa Median (Interkuartil)	<i>p</i> * Antar Kelompok Per Variable
CD 39	3	1,9 (0,02)	3,04 (0,05)	–	0,001*
	7	16,26 (0,07)	16,59 (0,0)	2,12 (0,15)	0,01****
	14	23,12 (0,18)	65,19 (0,0)	44,38 (0,0)	< 0,001**
	21	15,90 (1,12)	32,65 (0,0)	23,19 (0,0)	< 0,001**
	P	0,004**	< 0,001**	0,018****	< 0,001****

Pada studi ini didapatkan kelompok coba dengan nilai median ekspresi TLR hari ke-3 adalah 6,95 (SD: 0,07), lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 6,08 (SD: 0,29) demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi TLR yang lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi TLR pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi TLR pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi TLR pada mencit model atresia bilier pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 17).²⁶²

TABEL 6.6 Perubahan ekspresi TLR3 pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok Kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexamethasone Median (Interkuartil)	p* Antar Kelompok per Variable
TLR 3	3	6,08 (0,29)	6,95 (0,07)	–	0,02***
	7	37,06 (0,18)	16,55 (0,0)	10,07 (0,13)	0,01****
	14	9,63 (2,66)	64,2 (0,0)	45,90 (0,0)	0,018****
	21	6,09 (0,1)	54,08 (0,0)	15,94 (0,0)	0,018****
	P	0,005****	< 0,01***	0,018****	< 0,001****

Pada variabel NFκB didapatkan ekspresinya hari ke-3 adalah 8,07 (SD: 3,36) pada kelompok coba yang hanya diinduksi RRV, lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 2,18 (SD: 0,13) demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi NFκB yang lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi NFκB pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi NFκB pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi CD39 pada mencit model atresia bilier pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 18).²⁶²

TABEL 6.7 Perubahan ekspresi NF-kB pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok Kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexa Median (Interkuartil)	p* Antar Kelompok Per Variable
NF-kb	3	2,18 (0,13)	8,07 (3,36)	–	0,04*
	7	9,48 (1,90)	15,59 (0,0)	5,21 (1,09)	0,02****
	14	9,12 (0,34)	16,03 (0,0)	14,23 (0,0)	< 0,001**
	21	3,18 (0,04)	10,46 (0,0)	4,62 (0,0)	0,018****
	P	0,005****	0,006**	0,025****	0,001****

Pada penelitian ini didapatkan kelompok coba dengan nilai median ekspresi CD4 hari ke-3 adalah 2,40 (SD: 0,45), lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 2,32 (SD: 0,39), demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi CD4 yang lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi CD4 pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi CD4 pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi CD4 pada mencit model atresia bilier pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 19).²⁶²

TABEL 6.8 Perubahan ekspresi CD4⁺ pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexa Median (Interkuartil)	p* Antar Kelompok Per Variable
CD 4	3	2,32 (0,39)	2,40 (0,45)	–	0,49*
	7	1,94 (0,08)	3,82 (0,0)	3,24 (0,15)	< 0,001**
	14	1,22 (0,07)	8,18 (0,0)	7,34 (0,0)	0,018****
	21	0,88 (0,22)	6,06 (0,0)	5,61 (0,0)	0,018****
	P	0,004****	0,015****	< 0,001**	< 0,001****

Pada variabel CD8 didapatkan ekspresinya hari ke-3 adalah 1,36 (SD: 0,27) pada kelompok coba yang hanya diinduksi RRV, lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 0,99 (SD: 0,02) demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi CD8 yang lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi CD8 pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi CD8 pada hari ke-7, 14 dan 21 dibanding kelompok yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi CD8 pada mencit model atresia bilier pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 20).²⁶²

TABEL 6.9 Perubahan ekspresi CD8⁺ pada kelompok kontrol, induksi RRV, dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok Kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexa Median (Interkuartil)	p* antar kelompok per variable
CD 8	3	0,99 (0,02)	1,36 (0,27)	–	0,02***
	7	1,83 (0,08)	2,4 (0,0)	2,24 (0,09)	< 0,001**
	14	4,56 (0,05)	10,55 (0,00)	9,06 (0,0)	0,018****
	21	5,04 (0,25)	7,30 (0,0)	8,23 (0,0)	0,014**
	P	0,005****	0,01****	0,035****	< 0,001****

Pada penelitian ini didapatkan kelompok coba dengan nilai median ekspresi sel B hari ke-3 adalah 12,83 (SD: 0,09), lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 6,64 (SD: 0,29) demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi sel B yang lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi sel B pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi sel B pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi sel B pada mencit model atresia bilier pada hari ke- 7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 21).²⁶²

TABEL 6.10 Perubahan ekspresi sel B pada kelompok kontrol, induksi RRV dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok Kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexa Median (Interkuartil)	p* Antar Kelompok Per Variable
Sel B	3	6,64 (0,29)	12,83 (0,09)	–	0,02***
	7	5,06 (0,05)	6,13 (0,0)	3,20 (0,11)	< 0,001**
	14	7,25 (1,51)	16,36 (0,0)	13,11 (0,0)	0,002**
	21	10,64 (0,59)	41,75 (0,0)	17,85 (0,0)	0,018****
	P	0,003****	0,018****	0,018****	< 0,001****

Pada variabel ANCA didapatkan ekspresinya hari ke-3 adalah 6,25 (SD: 0,05) pada kelompok coba yang hanya diinduksi RRV, lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 6,16 (SD: 0,07) demikian juga hari ke-7, 14, maupun hari ke-21. Sedangkan pada mencit yang diterminasi hari ke-7, didapatkan bahwa pemberian *dexamethasone* pada hari ke-3 memberikan hasil ekspresi ANCA yang lebih rendah dibanding kelompok coba yang hanya diinduksi RRV. Hasil serupa didapatkan pada mencit yang diterminasi hari ke-14 dan ke-21 dengan $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya pengaruh induksi RRV terhadap perubahan ekspresi ANCA pada mencit model atresia bilier pada hari ke-3, 7, 14, dan 21 setelah induksi dibanding kontrol dan terdapat pengaruh pemberian *dexamethasone* terhadap perubahan ekspresi ANCA pada hari ke-7, 14, dan 21 dibanding kelompok yang hanya diinduksi RRV. Didapatkan juga hasil bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian *dexamethasone*, induksi RRV dan lama sakit setelah paparan RRV terhadap ekspresi ANCA pada mencit model atresia bilier pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan $p < 0,001$ (Tabel 22).

TABEL 6.11 Perubahan ekspresi ANCA pada kelompok kontrol, induksi RRV dan *dexamethasone*.²⁶²

Variabel	Hari	Kelompok Kontrol Median (Interkuartil)	Kelompok RRV Median (Interkuartil)	Kelompok Dexamethasone Median (Interkuartil)	p* Antar Kelompok Per Variable
ANCA	3	6,16 (0,07)	6,25 (0,05)	–	0,003*
	7	0,14 (0,04)	3,15 (0,0)	0,34 (0,07)	0,012****
	14	4,44 (0,61)	24,82 (0,0)	4,48 (0,0)	0,05****
	21	0,86 (0,08)	6 (0,0)	4,27 (0,0)	< 0,001**
	P	0,003****	0,018****	0,03****	0,001****



Ringkasan

Deteksi dini merupakan hal yang sangat penting dalam diagnosis dan tata laksana atresia bilier. Deteksi dini dilakukan bukan ditujukan untuk menjangkir penderita sebelum usia 2 bulan, tetapi dimulai dari usia yang lebih dini yaitu 2 minggu karena sebagian besar penderita atresia bilier telah mengalami peningkatan bilirubin direk atau terkonjugasi pada bayi usia kurang dari 2 minggu.

Penggunaan kortikosteroid dalam tata laksana atresia bilier hingga saat ini digunakan sebagai terapi ajuvan yang mengiringi terapi bedah portoenterostomi dengan dosis dan rejimen yang bervariasi. Namun, hingga saat ini belum ditemukan publikasi tentang penggunaan kortikosteroid sebagai terapi utama dalam menghambat atau menghentikan proses terjadinya atresia bilier meskipun telah banyak ahli meyakini proses imunologis (inflamasi dan autoreaktif) yang mendasari terjadinya atresia bilier.



Daftar Pustaka

1. Schreiber RA, Barker CC, Roberts EA, Martin SR, Alvarez F, Smith L, et al. Biliary Atresia: The Canadian Experience. *J Pediatr*. 2007 Dec;151(6):659-665.e1.
2. Santos JL, Choquette M, Bezerra JA. Cholestatic Liver Disease in Children. *Curr Gastroenterol Rep*. 2010 Feb;12(1):30-9.
3. Santos JL, Kieling CO, Meurer L, Vieira S, Ferreira CT, Lorentz A, et al. The extent of biliary proliferation in liver biopsies from patients with biliary atresia at portoenterostomy is associated with the postoperative prognosis. *J Pediatr Surg*. 2009 Apr;44(4):695-701.
4. Lu BR, Brindley SM, Tucker RM, Lambert CL, Mack CL. α -Enolase Autoantibodies Cross-Reactive to Viral Proteins in a Mouse Model of Biliary Atresia. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1753-61.
5. Feldman AG, Mack CL. Biliary atresia: cellular dynamics and immune dysregulation. *Semin Pediatr Surg*. 2012 Aug; 21(3):192-200.

6. 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.* 2007 Jan 2;*94*(5):526–7.
7. Asai, Akihiro; Alexander Miethke and JAB. Pathogenesis of biliary atresia: defining biology to understand clinical phenotypes. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;*12*(6):342–52.
8. Girard M, Jannot AS, Besnard M, Jacquemin E, Henrion-Caude A. Biliary atresia: Does ethnicity matter? *J Hepatol.* 2012;*57*(3):700–1.
9. Ohi R. BILIARY ATRESIA. *Clin Liver Dis.* 2000 Nov;*4*(4):779–804.
10. Khalil BA, Perera MTPR, Mirza DF. Clinical practice:: Management of biliary atresia. *Eur J Pediatr.* 2010 Apr;*169*(4):395–402.
11. Ortiz-Perez A, Donnelly B, Temple H, Tiao G, Bansal R, Mohanty SK. Innate Immunity and Pathogenesis of Biliary Atresia. *Front Immunol.* 2020;*11*(February):1–14.
12. Vij M, Rela M. Biliary atresia: Pathology, etiology and pathogenesis. *Future Sci OA.* 2020;*6*(5).
13. Antiga LD. *Pediatric hepatology and liver transplantation.* Switzerland: Springer; 2019:1-817.
14. Mahadevan V. Anatomy of the gallbladder and bile ducts. *Surg U K.* 2020;*38*(8):432–6.
15. Paidas C, Kirby, Russell S et al. Biliary Atresia: Epidemiology, Genetics, Clinical Update, and Public Health Perspective. *Adv Pediatr.* 2017;*64*(1):285–305.
16. Averbukh LD, Wu GY. Evidence for Viral Induction of Biliary Atresia: A Review. *J Clin Transl Hepatol.* 2018 Dec 28;*6*(4):1–10.
17. Moreira RK, Cabral R, Cowles RA, Lobritto SJ. Biliary Atresia, A Multidisciplinary Approach to Diagnosis and Management. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;*136*:746–60.
18. Lakshminarayanan B, Davenport M. Biliary atresia: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2016;*73*:1–9.

19. Bates MD, Ph D, Bucuvalas JC, Alonso MH, Ryckman FC. Biliary Atresia: Pathogenesis and Treatment. *Semin Liver Dis.* 1998;18(3).
20. Chitsaz E, Schreiber RA, Collet J-P, Kaczorowski J. Biliary Atresia: The Timing Needs a Changin'. *Can J Public Health.* 2009 Nov;100(6):475-7.
21. Neimark E, LeLeiko NS. Early Detection of Biliary Atresia Raises Questions About Etiology and Screening. *PEDIATRICS.* 2011 Dec 1;128(6):e1598-9.
22. Sokol RJ, Mack C, Narkewicz MR, Karrer FM. Pathogenesis and Outcome of Biliary Atresia: Current Concepts: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Jul;37(1):4-21.
23. Nakamura Y, Murai T, Ogawa Y. Effect of <I>in vitro</I> and <I>in vivo</I> administration of dexamethasone on rat macrophage functions: comparison between alveolar and peritoneal macrophages. *Eur Respir J.* 1996 Feb 1;9(2):301-6.
24. Xu Y, Yu J, Zhang R, Yin Y, Ye J, Tan L, et al. The Perinatal Infection of Cytomegalovirus Is an Important Etiology for Biliary Atresia in China. *Clin Pediatr (Phila).* 2012 Feb;51(2):109-13.
25. Makin E, Quaglia A, Kvist N, Petersen BL, Portmann B, Davenport M. Congenital biliary atresia: liver injury begins at birth. *J Pediatr Surg.* 2009 Mar;44(3):630-3.
26. Mack CL, Sokol RJ. Unraveling the Pathogenesis and Etiology of Biliary Atresia. *Pediatr Res.* 2005 May;57(5 Part 2):87R-94R.
27. Davit-Spraul A, Baussan C, Hermeziu B, Bernard O, Jacquemin E. CFC1 Gene Involvement in Biliary Atresia With Polysplenia Syndrome: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008 Jan;46(1):111-2.
28. Yang M-C, Chang M-H, Chiu S-N, Peng S-F, Wu J-F, Ni Y-H, et al. Implication of early-onset biliary atresia and extrahepatic congenital anomalies: Biliary atresia and congenital anomalies. *Pediatr Int.* 2010 Aug;52(4):569-72.

29. Muise AM, Turner D, Wine E, Kim P, Marcon M, Ling SC. Biliary Atresia With Choledochal Cyst: Implications for Classification. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Nov;4(11):1411–4.
30. Krishna S, Mittal V, Saxena AK, Sodhi KS. Biliary Atresia in Neonates and Infants. *Radiology*. 2011 Dec;261(3):997–8.
31. Santos JL, Carvalho E, Bezerra JA. Advances in biliary atresia: from patient care to research. *Braz J Med Biol Res*. 2010 Jun;43(6):522–7.
32. Nizery L, Chardot C, Sissaoui S, Capito C, Henrion-caude A, Debray D, et al. Biliary atresia: Clinical advances and perspectives. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2016;
33. Ronald J. Sokol; Ross W. Shepherd; Riccardo Superina JABPRJHH. National Institutes of Health Workshop. *Hepatology*. 2014; 46(2):566–81.
34. Chen Y, Zhao D, Gu S, Li Y, Pan W, Zhang Y. Three-color risk stratification for improving the diagnostic accuracy for biliary atresia. *Eur Radiol*. 2020;
35. Shah I, Bhatnagar S, Dhabe H. Clinical and Biochemical Factors Associated with Biliary Atresia. *Trop Gastroenterol*. 2012;33(3):214–7.
36. El-guindi MA, Sira MM, Konsowa HA, El-abd OL, Salem TA. Value of hepatic subcapsular flow by color Doppler ultrasonography in the diagnosis of biliary atresia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28:867–72.
37. Hartley JL, Davenport M, Kelly DA. Biliary atresia. *The Lancet*. 2009 Nov;374(9702):1704–13.
38. Benchimol EI, Walsh CM, Ling SC. Early diagnosis of neonatal cholestatic jaundice: test at 2 weeks. *Can Fam Physician Med Fam Can*. 2009 Dec;55(12):1184–92.
39. Chen S-M. Screening for Biliary Atresia by Infant Stool Color Card in Taiwan. *PEDIATRICS*. 2006 Apr 1;117(4):1147–54.

40. 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.
41. Lien T-H, Chang M-H, Wu J-F, Chen H-L, Lee H-C, Chen A-C, et al. Effects of the infant stool color card screening program on 5-year outcome of biliary atresia in taiwan. *Hepatology*. 2011 Jan;53(1):202–8.
42. Chardot C. Biliary atresia. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:28.
43. Mack CL, Sokol RJ. Unraveling the Pathogenesis and Etiology of Biliary Atresia. *Pediatr Res*. 2005;57(5):87–94.
44. Rastogi A, Krishnani N, Yachha SK, Khanna V, Poddar U. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24:97–102.
45. Saito T, Terui K, Mitsunaga T, Nakata M, Kuriyama Y, Higashimoto Y, et al. Role of Pediatric Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography in an Era Stressing Less-Invasive Imaging Modalities. *Jpgn*. 2014;59(2):204–9.
46. Davenport M, Caponcelli E, Livesey E, Hadzic N, Howard E. Surgical Outcome in Biliary Atresia Etiology Affects the Influence of Age at Surgery. *Ann Surg*. 2008;247(4):694–8.
47. Poddar U, Thapa BR, Das A, Bhattacharya A, Rao KN, Singh K. Neonatal cholestasis: differentiation of biliary atresia from neonatal hepatitis in a developing country. *Acta Paediatr*. 2009 Aug;98(8):1260–4.
48. Nemati M, Rafeey M, Shakeri AB. Ultrasound Findings in Biliary Atresia: The Role of Triangular Cord Sign. *Pak J Biol Sci*. 2008 Dec 15;12(1):95–7.
49. Mittal V, Saxena AK, Sodhi KS, Thapa BR, Rao KLN, Das A, et al. Role of Abdominal Sonography in the Preoperative Diagnosis of

- Extrahepatic Biliary Atresia in Infants Younger Than 90 Days. *Am J Roentgenol*. 2011 Apr;196(4):W438–45.
50. Rastogi A, Krishnani N, Yachha SK, Khanna V, Poddar U, Lal R. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in developing countries. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Jan;24(1):97–102.
 51. Castagnetti M, Davenport M, Tizzard S, Hadzic N, Mieli-Vergani G, Buxton-Thomas M. Hepatobiliary scintigraphy after Kasai procedure for biliary atresia: clinical correlation and prognostic value. *J Pediatr Surg*. 2007 Jun;42(6):1107–13.
 52. Hadžić N, Davenport M, Tizzard S, Singer J, Howard ER, Mieli-Vergani G. Long-term Survival Following Kasai Portoenterostomy: Is Chronic Liver Disease Inevitable?: *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Oct;37(4):430–3.
 53. Norton KI, Glass RB, Kogan D, Lee JS, Emre S, Shneider BL. MR Cholangiography in the Evaluation of Neonatal Cholestasis: Initial Results. *Radiology*. 2002 Mar;222(3):687–91.
 54. Shanmugam NP, Harrison PM, Devlin J, Peddu P, Knisely A, Davenport M, et al. Selective Use of Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography in the Diagnosis of Biliary Atresia in Infants Younger Than 100 Days. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009 Oct;49(4):435–41.
 55. Davenport M, Caponcelli E, Livesey E, Hadzic N, Howard E. Surgical Outcome in Biliary Atresia: Etiology Affects the Influence of Age at Surgery. *Ann Surg*. 2008 Apr;247(4):694–8.
 56. Sokol RJ. Corticosteroid treatment in biliary atresia: Tonic or toast? *Hepatology*. 2007 Dec;46(6):1675–8.
 57. Volpert D, White F, Finegold MJ, Molleston J, DeBaun M, Perlmutter DH. Outcome of Early Hepatic Portoenterostomy for Biliary Atresia: *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2001 Mar;32(3):265–9.

58. 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. *J Pediatr Surg*. 2004 Dec;39(12):1803–5.
59. Weerasooriya VS, White FV, Shepherd RW. Hepatic fibrosis and survival in biliary atresia. *J Pediatr*. 2004 Jan;144(1):123–5.
60. 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 Transpl*. 2009 Aug;15(8): 876–82.
61. Moyer K, Kaimal V, Pacheco C, Mourya R, Xu H, Shivakumar P, et al. Staging of biliary atresia at diagnosis by molecular profiling of the liver. *Genome Med*. 2010;2(5):33.
62. 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. *J Pediatr Surg*. 2003 Jul;38(7):997–1000.
63. 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.
64. Davenport M. Biliary atresia: clinical aspects. *Semin Pediatr Surg*. 2012 Aug;21(3):175–84.
65. Fouquet V, Alves A, Branchereau S, Grabar S, Debray D, Jacquemin E, et al. Long-Term Outcome of Pediatric Liver Transplantation for Biliary Atresia: A 10-Year Follow-Up in a Single Center. *Liver Transplantation*. 2005;11(2):152–60.
66. Evi R. Aktivitas Bilirubin Serum pada Pasien Atresia Bilier Sebelum dan Sesudah Prosedur Kasai.

67. Ramachandran P, Safwan M, Srinivas M, Rela M. Recent trends in the diagnosis and management of biliary atresia in developing countries. 2015;
68. Averbukh LD, Wu GY. Evidence for Viral Induction of Biliary Atresia: A Review. *J Clin Transl Hepatol*. 2018;6(4):410–9.
69. 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.
70. 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.
71. 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*. 2005 Jun;57(6):837–44.
72. Mack C. The Pathogenesis of Biliary Atresia: Evidence for a Virus-Induced Autoimmune Disease. *Semin Liver Dis*. 2007 Aug;27(3):233–42.
73. Bezerra JA. The Next Challenge in Pediatric Cholestasis: Deciphering the Pathogenesis of Biliary Atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006 Jul;43(Supplement 1):S23–9.
74. Roy P, Chatterjee U, Ganguli M, Banerjee S, Chatterjee S, Basu A. A histopathological study of liver and biliary remnants with clinical outcome in cases of extrahepatic biliary atresia. *Indian J Pathol Microbiol*. 2010;53(1):101.
75. 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*. 2005 Apr;40(4):637–42.

76. Pediatric Biliary Atresia: Prenatal and Postnatal Risk Factors. *Indian J Forensic Med Toxicol* [Internet]. 2020 Oct 7 [cited 2021 Nov 6]; Available from: <http://medicopublication.com/index.php/ijfmt/article/view/11610>
77. Kilgore A, Mack CL. Update on investigations pertaining to the pathogenesis of biliary atresia. *Pediatr Surg Int*. 2017;0(0):0.
78. Saito T, Shinozaki K, Matsunaga T, Ogawa T, Etoh T, Muramatsu T, et al. Lack of Evidence for Reovirus Infection in Tissues from Patients with Biliary Atresia and Congenital Dilatation of the Bile Duct. *Hepatology*. 2004;40:203–11.
79. Hadžić N. Biliary atresia. *Acta Medica Acad*. 2009;38(December): 92–103.
80. Zani A, Quaglia A, Hadzi N, Zuckerman M, Davenport M. Cytomegalovirus-associated biliary atresia: An aetiological and Prognostic subgroup. *Jpediatr Surg*. 2015;
81. Setyoboedi B, Widayanti R, Arief S, Puspitasari D, Prihaningtyas RA. The agreement of cytomegalovirus (CMV) serology examination and CMV polymerase chain reaction of liver tissue in infants with cholestasis. *Sri Lanka J Child Health*. 2021 Mar 5;50(1):43.
82. Ningappa M, Min J, Higgs BW, Ashokkumar C, Ranganathan S. Genome-wide association studies in biliary atresia. *WIREs Syst Biol Med*. 2015;7(October):267–73.
83. Chen G, So M, Ngan ES, Lui VC, Chen Y, Liu X, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 10q24. 2. *Hum Mol Genet*. 2010;19(14):2917–25.
84. Leyva-vega M, Gerfen J, Thiel BD, Jurkiewicz D, Elizabeth B, Pawlowska J, et al. Genomic Alteration in Biliary Atresia Suggests Region of Potential Disease Susceptibility in 2q37.3. *Am J Med Genet A*. 2011;152A(4):886–95.

85. Shen C, Zheng S, Wang W, Xiao X. Relationship Between Prognosis of Biliary Atresia and Infection of Cytomegalovirus. *World J Pediatr.* 2008;4(2):123–6.
86. Tian L, Ye Z, Kafka K, Stewart D, Anders R, Schwarz KB, et al. Biliary Atresia Relevant Human Induced Pluripotent Stem Cells Recapitulate Key Disease Features in a Dish. *JPGN.* 2019; 68(1):56–63.
87. Luiz J, Reverbel T, Cerski CT, Wagner MB. Medial thickening of hepatic artery branches in biliary atresia. A morphometric study. *J Pediatr Surg.* 2005;40:637–42.
88. Harper PAW, Plant JW, Ungers DB. Congenital biliary atresia and jaundice in lambs and calves. *Aust Vet J.* 1990;67(1):18–22.
89. Lorent K, Gong W, Koo KA, Waisbourd-zinman O, Zhao X, Sealy I, et al. Identification of a plant isoflavonoid that cause biliary atresia. *Sci Transl Med.* 2016;7(286):1–24.
90. Damage EC, Waisbourd-zinman O, Koh H, Tsai S, Lavrut P, Dang C, et al. The Toxin Biliatresone Causes Mouse Extrahepatic Cholangiocyte Damage and Fibrosis Through Decreased Glutathione and SOX17. *Hepatology.* 2016;00(00).
91. 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.* 2000 Nov;26(3):365–9.
92. Pacheco MC, Campbell KM, Bove KE. Ductal Plate Malformation-Like Arrays in Early Explants after a Kasai Procedure Are Independent of Splenic Malformation Complex (Heterotaxy). *Pediatr Dev Pathol.* 2009 Sep;12(5):355–60.
93. Hayashida M, Nishimoto Y, Matsuura T, Takahashi Y, Kohashi K, Souzaki R, et al. The evidence of maternal microchimerism in biliary atresia using fluorescent in situ hybridization. *J Pediatr Surg.* 2007 Dec;42(12):2097–101.

94. Kobayashi H, Tamatani T, Tamura T, Kusafuka J, Yamataka A, Lane GJ, et al. Maternal microchimerism in biliary atresia. *J Pediatr Surg.* 2007 Jun;42(6):987–91.
95. Irie N, Muraji T, Hosaka N, Takada Y, Sakamoto S, Tanaka K. Maternal HLA Class I Compatibility in Patients With Biliary Atresia: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009 Oct;49(4):488–92.
96. Schön P, Tsuchiya K, Lenoir D, Mochizuki T, Guichard C, Takai S, et al. Identification, genomic organization, chromosomal mapping and mutation analysis of the human INV gene, the ortholog of a murine gene implicated in left-right axis development and biliary atresia. *Hum Genet.* 2002 Feb;110(2):157–65.
97. Bessho K, Bezerra JA. Biliary Atresia: Will Blocking Inflammation Tame the Disease? *Annu Rev Med.* 2011 Feb 18;62(1):171–85.
98. 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.
99. Soomro GB, Abbas Z, Hassan M, Luck N, Memon Y, Khan AW. Is there any association of extra hepatic biliary atresia with cytomegalovirus or other infections? *JPMA J Pak Med Assoc.* 2011 Mar;61(3):281–3.
100. Yaghobi R, Didari M, Gramizadeh B, Rahsaz M, Heidari T, Banihashemi M, et al. Study of Viral Infections in Infants with Biliary Atresia. *Indian J Pediatr.* 2011 Apr;78(4):478–81.
101. 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.* 2004 Aug 1;114(3):322–9.
102. Al-Masri AN, Flemming P, Rodeck B, Melter M, Leonhardt J, Petersen C. Expression of the interferon-induced Mx proteins in biliary atresia. *J Pediatr Surg.* 2006 Jun;41(6):1139–43.

103. Wang W, Zheng S, Shong Z, Zhao R. Development of a Guinea Pig Model of Perinatal Cytomegalovirus-Induced Hepatobiliary Injury. *Fetal Pediatr Pathol.* 2011 Aug 30;30(5):301–11.
104. Britt WJ, Boppana S. Human cytomegalovirus virion proteins. *Hum Immunol.* 2004;65(5):395–402.
105. Tomtishen J. Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virology.* 2012;9(1):22.
106. Fischler B, Svensson JF, Nemeth A. Early Cytomegalovirus Infection and The long-term outcome of Biliary Atresia. *Acta Paediatr.* 2009;99:1600–2.
107. Tommaso AMA De, Andrade PD, Costa SCB, Escanhoela CAF, Hessel G. High frequency of Human Cytomegalovirus DNA in the Liver of Infants with Extrahepatic Neonatal Cholestasis. *Biomed Cent Trials.* 2005;8(5):1–8.
108. Xu Y, Yu J, Zhang R. The Perinatal Infection of Cytomegalovirus Is an Important Etiology for Biliary Atresia in China. *Clin Pediatr (Phila).* 2012;51(2):109–13.
109. Gardner TJ, Tortorella D. Virion Glycoprotein-Mediated Immune Evasion by Human Cytomegalovirus: a Sticky Virus Makes a Slick Getaway. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016;80(3):663–77.
110. Stehel EK, Sanchez PJ. Cytomegalovirus Infection in the Fetus and Neonate. *NeoReviews.* 2005;6(1):e38–45.
111. van Zuylen WJ, Hamilton ST, Naing Z, Hall B, Shand A, Rawlinson WD. Congenital cytomegalovirus infection: Clinical presentation, epidemiology, diagnosis and prevention. *Obstet Med.* 2014;7(4):140–6.
112. Britt W. Controversies in the natural history of congenital human cytomegalovirus infection: the paradox of infection and disease in offspring of women with immunity prior to pregnancy. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 2015;204(3):263–71.

113. Swanson C E SMR. Congenital Cytomegalovirus Infection: New Prospects for Prevention and Therapy. *Pediatr Clin Nort Am*. 2014;60(2):1–17.
114. Rb F, A-l B, Sa N, Fjær RB. Extrahepatic Bile duct Atresia and Viral involvement. *Pediatr Transplant*. 2005;9:68–73.
115. Koyano S, Inoue N, Oka A, Moriuchi H, Asano K, Ito Y, et al. Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection Using Newborn Urine Samples Collected on Filter Paper: Feasibility and Outcomes From a Multicentre Study. *BMJ*. 2011;1:1–10.
116. Wang W, Zheng S, Shong Z, Zhao R. Development of a Guinea Pig Model of Perinatal Cytomegalovirus-Induced Hepatobiliary Injury. *Fetal Pediatr Pathol*. 2011;30:301–11.
117. Soomro GB, Abbas Z, Hassan M, Luck N, Memon Y, Khan AW. Short Report Is there any association of extra hepatic biliary atresia with cytomegalovirus or other infections ? *J Pak Med Assoc*. 2011;61(3):281–3.
118. Zabiegaj-Zwick, C; Nel E, Moore SW. Problems related to cytomegalovirus infection and biliary atresia. *SAMJ*. 2012;102(11):890–2.
119. Mukherjee D, Kundu R, Niyogi P, Das J. Cytomegalovirus in biliary atresia: coincidental or causal ? *Sri Langka J Child Health*. 2016;45(4):256–8.
120. Rosa C La, Diamond DJ. The immune response to human CMV. *Future Virol*. 2012;7(3):279–93.
121. Connell JHJ. Translational Mini-Review Series on Infectious Disease: Congenital cytomegalovirus infection: 50 years on. *Clin Exp Immunol*. 2007;149:205–10.
122. Crough T, Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(1):76–98.
123. Brindley M., Stephen; Allison M, Lahan; Karrer, Frederick M.;Fontenot AP, Mack CL. Cytomegalovirus-Specific T cell

- Reactivity in Biliary Atresia Time of Diagnosis is Associated with Deficits in Regulatory T Cells. *Hepatology*. 2013;55(4):1130–8.
124. Kodo K, Sakamoto K, Imai T, Ota T, Miyachi M, Mori J, et al. Cytomegalovirus-Associated Biliary Atresia: An Autopsy Case Report. *J Pediatr Surg Case Rep*. 2018;
 125. Zagory, Jessica A.; Nguyen, Marie V; Wang KS. Recent Advances in the Pathogenesis and Management of Biliary Atresia. *Curr Opin Pediatr*. 2016;27(3):389–94.
 126. Ortiz-perez A, Donnelly B, Temple H, Tiao G, Bansal R, Mohanty SK. Innate Immunity and Pathogenesis of Biliary Atresia. *Front Immunol*. 2020;11(February):1–14.
 127. Lu BR, Brindley SM, Tucker RM, Lambert CL, Mack CL. α -Enolase Autoantibodies Cross-Reactive to Viral Proteins in a Mouse Model of Biliary Atresia. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1753–61.
 128. Saito T, Terui K, Mitsunaga T, Nakata M, Ono S, Mise N, et al. Evidence for Viral Infection as a Causative Factor of Human Biliary Atresia. *J Pediatr Surg*. 2015;
 129. Zani A, Quaglia A, Hadzić N, Zuckerman M, Davenport M. Cytomegalovirus-associated biliary atresia: An aetiological and prognostic subgroup. *J Pediatr Surg*. 2015;50(10):1739–45.
 130. Wang W, Zheng S, Shong Z, Zhao R. Development of a guinea pig model of perinatal cytomegalovirus-induced hepatobiliary injury. *Fetal Pediatr Pathol*. 2011;30(5):301–11.
 131. Wen J, Xiao Y, Wang J, Pan W, Zhou Y, Zhang X, et al. Low doses of CMV induce autoimmune-mediated and inflammatory responses in bile duct epithelia of regulatory T cell-depleted neonatal mice. *Lab Invest*. 2015;95(2):180–92.
 132. Jevon G, Dimmick JE. Biliary Atresia and Cytomegalovirus Infection: A DNA Study. *J Pediatr Dev Pathol*. 1999;(Cmv):11–4.

133. Yaghobi R, Didari M, Gramizadeh B, Rahsaz M, Heidari T, Banihashemi M, et al. Study of viral infections in infants with biliary atresia. *Indian J Pediatr*. 2011;78(4):478–81.
134. Zani-Ruttenstock E, Davenport M. Biliary Atresia and Choledochal Malformations. In: Guandalini S, Dhawan A, Branski D, editors. *Textbook of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*. Switzerland: Springer; 2016. p. 633.
135. Tarr PI, Haas JE, Christie DL. Biliary and Age at Referral. *Pediatrics*. 1996;97(6).
136. Fischler B, Woxenius S, Nemeth A, Papadogiannakis N. Immunoglobulin deposits in liver tissue from infants with biliary atresia and the correlation to cytomegalovirus infection. *J Pediatr Surg*. 2005;40(3):541–6.
137. Shen C, Zheng S, Wang W, Xiao X-M. Relationship between prognosis of biliary atresia and infection of cytomegalovirus. *World J Pediatr WJP*. 2008;4(2):123–6.
138. Fischler B, Svensson JF, Nemeth A. Early cytomegalovirus infection and the long-term outcome of biliary atresia. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2009;98(10):1600–2.
139. El-araby HA, Ghoneim EM, El-rahman MHA. Cytomegalovirus Frequency in Neonates with Biliary Atresia. *Egypt J Med Microbiol*. 2010;19(2):25–32.
140. Xu Y, Yu J, Zhang R, Yin Y, Ye J, Tan L, et al. The perinatal infection of cytomegalovirus is an important etiology for biliary atresia in China. *Clin Pediatr (Phila)*. 2012;51(2):109–13.
141. Zabiegaj-Zwick C, Nel E, Moore SW. Problems related to cytomegalovirus infection and biliary atresia. *S Afr Med J*. 2012;102(11):890–2.
142. Brindley SM, Lanham AM, Karrer FM, Tucker RM, Fontenot AP, Mack CL. Cytomegalovirus-specific T-cell reactivity in biliary

- atresia at the time of diagnosis is associated with deficits in regulatory T cells. *Hepatology*. 2012;55(4):1130–8.
143. Hill R, Quaglia A, Hussain M, Hadzic N, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. Th-17 cells infiltrate the liver in human biliary atresia and are related to surgical outcome. *J Pediatr Surg*. 2015;50(8): 1297–303.
 144. Tenorio R, Fern I, Knowlton JJ, Zamora PF, Sutherland DM, Risco C, et al. Replication Neoorganelles. *J Viruses*. 2019;11(288):1–16.
 145. Armon R, Cheruti U. *Environmental Aspects of Zoonotic Diseases* This title was made available Open Access through a partnership with Knowledge Unlatched. IWA Publishing would like to thank all of the libraries for pledging to support the transition of this title to Open Acce. 1st ed. Armon, Robert; Cheruti U, editor. London: IWA Publishing; 2011. 209 p.
 146. Eledge MR, Zita MD, Boehme KW. *Reovirus: Friend and Foe*. 2019;3.
 147. Randolph, E; Steele, Marilyn I; Marshall, Candaca M; Lloyd RE. Reovirus 3 Not Detected by Reverse Transcriptase- Mediated Polymerase Chain Reaction Analysis of Preserved Tissue From Infants With Cholestatic Liver Disease. *J Hepatol*. 1995;3:697–702.
 148. Petersen BC, Biermanns D, Kuske M, Schzkel K. New Aspect in Murine Model for Extrahepatic Biliary Atresia. *J Pediatr Surg*. 1997;32(8):1190–5.
 149. Tyler KEL, Okol ROJS, Berhaus STMO, Ysan MLE, Arrer FRMK, Arkewicz MIRN, et al. Detection of Reovirus RNA in Hepatobiliary Tissues From Patients With Extrahepatic Biliary Atresia and Choledochal Cysts. *J Hepatol*. 1998;27:1475–82.
 150. Szavay PO, Leonhardt J, Petersen C. The Role of Reovirus Type 3 Infection in an Established Murine Model for Biliary Atresia. *Eur J Pediatr Surg*. 2002;12:248–50.

151. Rauschenfels S, Krassmann M, Al-masri AN, Verhagen W, Leonhardt J, Kuebler JF. Incidence of Hepatotropic Viruses in Biliary Atresia. *Eur J Pediatr*. 2009;168:469–76.
152. Riepenhoff-Talty M, Evans MJ, Svensson L, Hoffenberg E, Sokol RJ, Uhnoo I, et al. Detection of Group C Rotavirus in Infants with Extrahepatic Biliary Atresia. *J Infect Dis*. 1996;174:8–15.
153. Hertel PM, Estes MK. Rotavirus and biliary atresia: can causation be proven ? *Curr Opin Gastroenterol*. 2012;28(1):10–7.
154. Sochaczewski COVON, Pintelon I, Brouns I, Thys S, Deigendesch N, Kübler JF, et al. Experimentally Induced Biliary Atresia by Means of Rotavirus-Infection Is Directly Linked to Severe Damage of the Microvasculature in the Extrahepatic Bile Duct. *Wiley Online Libr*. 2019;824(June 2017):818–24.
155. Rebecca M. Tucker, Amy G. Feldman, Erika K. Fenner C I. M. Regulatory T Cell Inhibit Th1 Cell-Mediated Bile Duct Injury In Murine Biliary Atresia. *J Hepatol*. 2013;59(4):1–14.
156. Feng J, Li M, Cai T, Tang H, Gu W. Rotavirus-induced murine biliary atresia is mediated by nuclear factor- κ B. *J Pediatr Surg*. 2005;40:630–6.
157. Bednarek J, Traxinger B, Brigham D, Roach J, Orlicky D, Wang D, et al. Cytokine-producing Bcells Promote Immune-mediated Bile Duct Injury in Murine Biliary Atresia. *Hepatology*. 2019; 68(5):1890–904.
158. Bobo L, Ojeh C, Chiu D, Machado A, Colombani P SK. Lack of Evidence for Rotavirus by Polymerase Chain Reaction. *Pediatr Res*. 41:229–34.
159. Gómez-rial J, Rivero-calle I, Salas A, Martínón-torres F. Rotavirus and Autoimmunity. *J Infect*. 2020;81:183–9.
160. Clemente MG, Patton JT, Yolken R, Whittington PF, Parashar UD, Jiang B, et al. Prevalence of Groups A and C Rotavirus Antibodies

- in Infants with Biliary Atresia and Cholestatic Controls. *J Pediatr.* 2015;166(1):79-84.e1.
161. Vij M mohammed R. Biliary atresia: Pathology, Etiology and Pathogenesis. *Future Sci.* 2020;6(5).
 162. Kikuchi, kentaro; miyakawa, hiroshi; Abe K et al. Vanishing Bile Duct Syndrome Associated with Chronic EBV Infection. *Dig Dis Sci.* 2000;45(1):160–5.
 163. Saad RD, Dawson BD, Margraf LR, Finegold MJ, Weinberg AG, Rogers BB. Cytomegalovirus and Human Herpesvirus 6, but Not Human Papillomavirus, Are Present in Neonatal Giant Cell Hepatitis and Extrahepatic Biliary Atresia. *Pediatr Dev Pathol.* 2000;3:367–73.
 164. Yaghobi R, Didari M, Gramizadeh B. Study of Viral Infections in Infants with Biliary Atresia. *Indian J Pediatr.* 2011;78(4):478–81.
 165. Kader H.H.A; Nowicki, M.J; Kuramoto K al. Evaluation of The Role of Hepatitis C Virus in Biliary Atresia. *Paediatr Infect Dis J.* 1994;13(7):657–9.
 166. Yoto Y, Kudoh T. Parvovirus B19 Infection Associated with Acute Hepatitis. *The Lancet.* 1995;347:868–9.
 167. Perlmutter DH, Shepherd RW. Extrahepatic biliary atresia: A disease or a phenotype? *Hepatology.* 2002 Jun;35(6):1297–304.
 168. Oldstone MBA. Molecular and Cellular Mechanisms, Pathogenesis, and Treatment of Insulin-Dependent Diabetes Obtained Through Study of a Transgenic Model of Molecular Mimicry. In: Oldstone MBA, editor. *Molecular Mimicry: Infection-Inducing Autoimmune Disease* [Internet]. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag; 2005 [cited 2021 Oct 2]. p. 65–87. (Current Topics in Microbiology and Immunology; vol. 296). Available from: http://link.springer.com/10.1007/3-540-30791-5_5

169. 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.
170. Brindley SM, Lanham AM, Karrer FM, Tucker RM, Fontenot AP, Mack CL. Cytomegalovirus-specific T-cell reactivity in biliary atresia at the time of diagnosis is associated with deficits in regulatory T cells. *Hepatology*. 2012 Apr;55(4):1130–8.
171. Urushihara N, Iwagaki H, Yagi T, Kohka H, Kobashi K, Morimoto Y, et al. Elevation of serum interleukin-18 levels and activation of kupffer cells in biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 2000 Mar;35(3):446–9.
172. Yang H, Plösch T, Lisman T, Gouw ASH, Porte RJ, Verkade HJ, et al. Inflammation Mediated Down-Regulation of Hepatobiliary Transporters Contributes to Intrahepatic Cholestasis and Liver Damage in Murine Biliary Atresia. *Pediatr Res*. 2009 Oct;66(4):380–5.
173. Mieli-Vergani G, Vergani D. Biliary atresia. *Semin Immunopathol*. 2009 Sep;31(3):371–81.
174. Donaldson PT, Clare M, Constantini PK, Hadzic N, Mieli-Vergani G, Howard E, et al. HLA and cytokine gene polymorphisms in biliary atresia: Immunogenetics of EHBA. *Liver*. 2002 Jun;22(3):213–9.
175. A-Kader HH, El-Ayyouti M, Hawas S, Abdalla A, Al-Tonbary Y, Bassiouny M, et al. HLA in Egyptian children with biliary atresia. *J Pediatr*. 2002 Sep;141(3):432–4.
176. 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*. 2001 Jul;36(7):1017–25.
177. 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*. 2002 Nov;360(9346):1653–9.

178. Lu BR, Mack CL. Inflammation and biliary tract injury: *Curr Opin Gastroenterol*. 2009 May;25(3):260–4.
179. 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*. 2000 Nov;35(11):1591–6.
180. 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.
181. Dillon P, Belchis D, Tracy T, Cilley R, Hafer L, Krummel T. Increased expression of intercellular adhesion molecules in biliary atresia. *Am J Pathol*. 1994 Aug;145(2):263–7.
182. Davenport M. Biliary atresia. *Semin Pediatr Surg*. 2005 Feb;14(1):42–8.
183. Rebecca M. Tucker, Amy G. Feldman, Erika K. Fenner C I. M. Regulatory T Cell Inhibit Th1 Cell-Mediated Bile Duct Injury In Murine Biliary Atresia. *J Hepatol*. 2013;59(4):1–14.
184. Ando H, Inomata Y, Iwanaka T, Kuroda T, Nio M, Matsui A, et al. Clinical practice guidelines for biliary atresia in Japan: A secondary publication of the abbreviated version translated into English. *J Hepato-Biliary-Pancreat Sci*. 2020;1–7.
185. Setyoboedi B. Comparison of CD4+/Foxp3+ and CD4+/IL-17+ cells counts on cholestatic infants with and without biliary atresia. *PAMJ-Clinical Medicine*. 2021;5(1):1-10.
186. Ahmed AF, Ohtani H, Nio M, Funaki N, Shimaoka S, Nagura H, et al. CD8+ T cells infiltrating into bile ducts in biliary atresia do not appear to function as cytotoxic T cells: a clinicopathological analysis. *J Pathol*. 2001 Mar;193(3):383–9.

187. Mack CL, Tucker RM, Sokol RJ, Karrer FM, Kotzin BL, Whittington PF, et al. Biliary atresia is associated with CD4+ Th1 cell-mediated portal tract inflammation. *Pediatr Res*. 2004 Jul;56(1):79–87.
188. Barnes BH, Tucker RM, Wehrmann F, Mack DG, Ueno Y, Mack CL. Cholangiocytes as immune modulators in Rotavirus-induced murine biliary atresia. *Liver Int*. 2009 Sep;29(8):1253–61.
189. 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 Gastroenterol* [Internet]. 2006 Dec [cited 2019 Oct 28];6(1). Available from: <http://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-6-14>
190. Petersen C, Kuske M, Bruns E, Biermanns D, Wussow P, Mildemberger H. Progress in Developing Animal Models for Biliary Atresia. *Eur J Pediatr Surg*. 1998 Jun;8(03):137–41.
191. Mohanty SK, Ivantes CAP, Mourya R, Pacheco C, Bezerra JA. Macrophages Are Targeted by Rotavirus in Experimental Biliary Atresia and Induce Neutrophil Chemotaxis by Mip2/Cxcl2. *Pediatr Res*. 2010 Apr;67(4):345–51.
192. Tucker RM, Hendrickson RJ, Mukaida N, Gill RG, Mack CL. Progressive Biliary Destruction Is Independent of a Functional Tumor Necrosis Factor- α Pathway in A Rhesus Rotavirus-Induced Murine Model of Biliary Atresia. *Viral Immunol*. 2007 Mar;20(1):34–43.
193. 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.
194. Shivakumar P, Sabla GE, Whittington P, Chougnnet CA, Bezerra JA. Neonatal NK cells target the mouse duct epithelium via Nkg2d and drive tissue-specific injury in experimental biliary atresia. *J Clin Invest*. 2009 Aug 3;119(8):2281–90.

195. Deng Y-H, Pu C-L, Li Y-C, Zhu J, Xiang C, Zhang M-M, et al. Analysis of Biliary Epithelial-Mesenchymal Transition in Portal Tract Fibrogenesis in Biliary Atresia. *Dig Dis Sci*. 2011 Mar; 56(3):731–40.
196. Petersen C, Biermanns D, Kuske M, Schäkel K, Meyer-Junghänel L, Mildenerger H. New aspects in a murine model for extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 1997 Aug;32(8):1190–5.
197. Andreollo NA, Santos EF dos, Araújo MR, Lopes LR. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? *ABCD Arq Bras Cir Dig São Paulo*. 2012 Mar;25(1):49–51.
198. 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. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. 2008 Jul;295(1):G16–26.
199. Jafri M, Donnelly B, Bondoc A, Allen S, Tiao G. Cholangiocyte secretion of chemokines in experimental biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 2009 Mar;44(3):500–7.
200. Saxena V, Shivakumar P, Sabla G, Mourya R, Chougnet C, Bezerra JA. Dendritic Cells Regulate Natural Killer Cell Activation and Epithelial Injury in Experimental Biliary Atresia. *Sci Transl Med*. 2011 Sep 28;3(102):102ra94-102ra94.
201. Haber BA, Russo P. Biliary atresia. *Gastroenterol Clin North Am*. 2003 Sep;32(3):891–911.
202. C.L.Mack, Amy G F and RJS. Clues to the Etiology of Bile Duct Injury in Biliary Atresia. *Semin Liver Dis*. 2013;32(4).
203. Harada K, Nakanuma Y. Biliary Innate Immunity in the Pathogenesis of Biliary Diseases. *InflammationAllergy-Drug Targets*. 2010;9(2):83–90.
204. Banales JM, Huebert RC, Karlsen T, Strazzabosco M, LaRusso NF, Gores GJ. Cholangiocyte pathobiology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(5):269–81.

205. Walther AE, Mohanty SK, Donnelly B, Coots A, Mcneal M, Tiao GM. Surgery Role of myeloid differentiation factor 88 in Rhesus Rotavirus-induced biliary atresia. *J Surg Res*. 2013;184(1):322–9.
206. Harada K, Nakanuma Y. Biliary innate immunity: Function and modulation. *Mediators Inflamm*. 2010;10:9.
207. Saito T, Hishiki T, Terui K, Mitsunaga T, Terui E, Nakata M, et al. Toll-like Receptor mRNA Expression in Liver Tissue From Patients With Biliary Atresia. 2011;53(6):620–6.
208. Bezerra AJBKJA. Biliary atresia: will blocking inflammation tame the disease? *Annu Rev Med*. 2011;62(513):171–85.
209. Shimoda S, Harada K, Niuro H, Taketomi A, Maehara Y, Tsuneyama K, et al. CX3CL1 (fractalkine): A signpost for biliary inflammation in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2010;51(2):567–75.
210. Harada K, Sato Y, Isse K, Ikeda H, Nakanuma Y. Induction of innate immune response and absence of subsequent tolerance to dsRNA in biliary epithelial cells relate to the pathogenesis of biliary atresia: No tolerance to dsRNA in BECs. *Liver Int*. 2008 Apr 10;28(5):614–21.
211. 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.
212. Leonhardt J, Stanulla M, von Wasielewski R, Skokowa J, Kübler J, Ure BM, et al. Gene expression profile of the infective murine model for biliary atresia. *Pediatr Surg Int*. 2006 Jan;22(1):84–9.
213. Mack CL. What Causes Biliary Atresia? Unique Aspects of the Neonatal Immune System Provide Clues to Disease Pathogenesis. *Cmgh*. 2015;1(3):267–74.
214. Qiu Y, Yang J, Wang W, Zhao W, Peng F, Xiang Y, et al. HMGB1-Promoted and TLR2/4-Dependent NK Cell Maturation and

- Activation Take Part in Rotavirus- Induced Murine Biliary Atresia. *Plos Pathog.* 2014;10(3).
215. Burch JM, Sokol RJ, Narkewicz MR, Reichlin M, Frank MB, MacKenzie T, et al. Autoantibodies in Mothers of Children with Neonatal Liver Disease: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Sep;37(3):262–7.
 216. Hadchouel M, Hugon RN, Odievre M. Immunoglobulin deposits in the biliary remnants of extrahepatic biliary atresia: a study by immunoperoxidase staining in 128 infants. *Histopathology.* 1981;5(2):217–21.
 217. 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;44(5):1231–9.
 218. Goodnow CC, Vinuesa CG, Randall KL, Mackay F, Brink R. Control systems and decision making for antibody production. *Nat Publ Group.* 2010;11(8):681–8.
 219. Rose NR, Bona C. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited). *Immunol Today.* 1993 Sep;14(9):426–30.
 220. De novo hepatitis with autoimmune antibodies and atypical histology: a rare cause of late graft dysfunction after pediatric liver transplantation.
 221. 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.* 2004 Nov;39(11):1658–62.
 222. Yuasa T, Tsuji H, Kimura S, Niwa N, Yurugi K, Egawa H, et al. Human leukocyte antigens in Japanese patients with biliary atresia: Retrospective analysis of patients who underwent living donor liver transplantation. *Hum Immunol.* 2005 Mar;66(3):295–300.

223. Meyers RL, Book LS, O’Gorman MA, Jackson WD, Black RE, Johnson DG, et al. High-dose steroids, ursodeoxycholic acid, and chronic intravenous antibiotics improve bile flow after Kasai procedure in infants with biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 2003 Mar;38(3):406–11.
224. Kobayashi H, Li Z, Yamataka A, Lane GJ, Miyano T. Role of immunologic costimulatory factors in the pathogenesis of biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 2003 Jun;38(6):892–6.
225. 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. *Hum Pathol*. 2008 Jan;39(1):102–15.
226. Harada K, Sato Y, Ikeda H, Isse K, Ozaki S, Enomae M, et al. Epithelial-mesenchymal transition induced by biliary innate immunity contributes to the sclerosing cholangiopathy of biliary atresia. *J Pathol*. 2009 Apr;217(5):654–64.
227. Mack CL, Tucker RM, Sokol RJ, Karrer FM, Kotzin BL, Whittington PF, et al. Biliary atresia is associated with CD4+ Th1 cell-mediated portal tract inflammation. *Pediatr Res*. 2004;56(1):79–87.
228. Zhang S, Goswami S, Ma J, Meng L, Wang Y, Zhu F, et al. CD4+T cell subset profiling in biliary atresia reveals ICOS– Regulatory T cells as a favorable prognostic factor. *Front Pediatr*. 2019; 7(JULY):1–13.
229. Shinkai M, Shinkai T, Puri P, Stringer MD. Elevated expression of IL2 is associated with increased infiltration of CD8+ T cells in biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 2006;41(2):300–5.
230. 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;46(1):180–7.
231. Barnes PJ, Adcock IM. How Do Corticosteroids Work in Asthma? *Ann Intern Med*. 2003 Sep 2;139(5_Part_1):359.

232. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids – New Mechanisms for Old Drugs. *N Engl J Med.* 2005 Oct 20;353(16):1711–23.
233. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005: Corticosteroids and inflammation. *Br J Pharmacol.* 2006 Jun;148(3):245–54.
234. Antonicelli F, De Coupade C, Russo-Marie F, Le Garrec Y. CREB is involved in mouse annexin A1 regulation by cAMP and glucocorticoids: Mouse annexin A1 promoter regulation. *Eur J Biochem.* 2001 Jan;268(1):62–9.
235. Kim S-W, Rhee HJ, Ko J, Kim YJ, Kim HG, Yang JM, et al. Inhibition of Cytosolic Phospholipase A2 by Annexin I. *J Biol Chem.* 2001 May;276(19):15712–9.
236. Hirabayashi T, Murayama T, Shimizu T. Regulatory Mechanism and Physiological Role of Cytosolic Phospholipase A2. *Biol Pharm Bull.* 2004;27(8):1168–73.
237. Roviezzo F, Getting SJ, Paul-Clark MJ, Yona S, Gavins FNE, Perretti M, et al. The annexin-1 knockout mouse: what it tells us about the inflammatory response. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc.* 2002 Dec;53(4 Pt 1):541–53.
238. Pitzalis C, Pipitone N, Perretti M. Regulation of Leukocyte-Endothelial Interactions by Glucocorticoids. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Jun;966(1):108–18.
239. Mulla A, LeRoux C, Solito E, Buckingham JC. Correlation between the Antiinflammatory Protein Annexin 1 (Lipocortin 1) and Serum Cortisol in Subjects with Normal and Dysregulated Adrenal Function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jan;90(1):557–62.
240. Kassel O. Glucocorticoids inhibit MAP kinase via increased expression and decreased degradation of MKP-1. *EMBO J.* 2001 Dec 17;20(24):7108–16.

241. Lasa M, Abraham SM, Boucheron C, Saklatvala J, Clark AR. Dexamethasone Causes Sustained Expression of Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Phosphatase 1 and Phosphatase-Mediated Inhibition of MAPK p38. *Mol Cell Biol.* 2002 Nov 15;22(22):7802–11.
242. Toh M-L, Yang Y, Leech M, Santos L, Morand EF. Expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase 1, a negative regulator of the mitogen-activated protein kinases, in rheumatoid arthritis: Up-regulation by interleukin-1? and glucocorticoids. *Arthritis Rheum.* 2004 Oct;50(10):3118–28.
243. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. The Interplay between the Glucocorticoid Receptor and Nuclear Factor- κ B or Activator Protein-1: Molecular Mechanisms for Gene Repression. *Endocr Rev.* 2003 Aug 1;24(4):488–522.
244. Tanabe T, Tohnai N. Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002 Aug;68–69:95–114.
245. Nissen RM. The glucocorticoid receptor inhibits NF κ B by interfering with serine-2 phosphorylation of the RNA polymerase II carboxy-terminal domain. *Genes Dev.* 2000 Sep 15;14(18):2314–29.
246. Bladh L-G, Lidén J, Dahlman-Wright K, Reimers M, Nilsson S, Okret S. Identification of Endogenous Glucocorticoid Repressed Genes Differentially Regulated by a Glucocorticoid Receptor Mutant Able to Separate between Nuclear Factor- κ B and Activator Protein-1 Repression. *Mol Pharmacol.* 2005 Mar;67(3):815–26.
247. Hafezi-Moghadam A, Simoncini T, Yang Z, Limbourg FP, Plumier J-C, Rebsamen MC, et al. Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med.* 2002 May;8(5):473–9.

248. Ortiz PA, Garvin JL. Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 2003 Mar 1;284(3):R628–38.
249. Perretti M, Ahluwalia A. The microcirculation and inflammation: site of action for glucocorticoids. *Microcirc N Y N* 1994. 2000 Jun;7(3):147–61.
250. Gille J, Reisinger K, Westphal-Varghese B, Kaufmann R. Decreased mRNA Stability as a Mechanism of Glucocorticoid-Mediated Inhibition of Vascular Endothelial Growth Factor Gene Expression by Cultured Keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 2001 Dec;117(6):1581–7.
251. Saklatvala J, Dean J, Clark A. Control of the expression of inflammatory response genes. Saklatvala J, Nagase H, Salvesen G, editors. *Biochem Soc Symp*. 2003 Sep 1;70:95–106.
252. Singh N, Tucker MJ, Rieder MJ . Mechanisms of glucocorticoid-mediated antiinflammatory and immunosuppressive action. *Paediatric and Perinatal Drug Therapy*. 2004; 6(2):107-115.
253. Lao OB, Larison C, Garrison M, Healey PJ, Goldin AB. Steroid use after the Kasai procedure for biliary atresia. *Am J Surg*. 2010 May;199(5):680–4.
254. Alvaro D, Gigliozzi A, Marucci L, Alpini G, Barbaro B, Monterubbianesi R, et al. Corticosteroids modulate the secretory processes of the rat intrahepatic biliary epithelium. *Gastroenterology*. 2002 Apr;122(4):1058–69.
255. Elenkov IJ. Glucocorticoids and the Th1/Th2 Balance. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Jun;1024(1):138–46.
256. 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. *J Pediatr Surg*. 2004 Jan;39(1):10–5.

257. Escobar MA, Jay CL, Brooks RM, West KW, Rescorla FJ, Molleston JP, et al. Effect of corticosteroid therapy on outcomes in biliary atresia after Kasai portoenterostomy. *J Pediatr Surg.* 2006 Jan;41(1):99–103.
258. Stringer MD, Davison SM, Rajwal SR, McClean P. Kasai portoenterostomy: 12-year experience with a novel adjuvant therapy regimen. *J Pediatr Surg.* 2007 Aug;42(8):1324–8.
259. Shimadera S, Iwai N, Deguchi E, Kimura O, Fumino S, Ono S. The Significance of Steroid Therapy after Hepatportoenterostomy in Infants with Biliary Atresia. *Eur J Pediatr Surg.* 2007 Apr;17(2):100–3.
260. 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.
261. 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. *Am J Gastroenterol.* 2008 Mar;103(3):712–9.
262. Setyoboedi B. Corticosteroid Effects and Administration Time Difference on Mice Model of Biliary Atresia. *Journal of International Dental and Medical Research.* 2020;13(2):553-560.
263. Hadžić N. *Biliary Atresia.* *Acta Medica Academica.*2009;38:92-103.
264. CDC/Dr. Erskine Palmer.CDC Public Health Image Library Image 197. Reoviridae F. Family Reoviridae. 2017;219–26



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	: <i>Cytomegalovirus</i> , adalah virus keluarga herpes (<i>Herpesviridae family</i>). 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
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 Duktus 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 <i>growth hormon</i> (GH), <i>Insulin like growth faktor-1</i> (IGF1)
Kolestasis neonatal	: Kolestasis akibat peningkatan level serum bilirubin konjugasi dalam jangka waktu yang lama pada tiga bulan pertama kehidupan
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	: <i>Transforming growth factor-β</i> ; sitokin fibrogenik paling ampuh yang menginduksi fibrosis melalui beberapa mekanisme



Indeks

A

Antibodi, 44, 48, 69, 185
Antigen, 49, 74, 135
Arteri Hepatika Komunis, 9
Atresia Bilier, 5, 11–12, 35, 51, 53, 56,
58–59, 62–65, 69, 71–72, 79, 86,
91, 115, 125, 140, 161

D

Ductal Plate, 164
Duktus Hepatikus Komunis, 8–9
Duktus Koledokus, 8–9, 16, 21, 34

E

Ekstrahepatik, 1–2, 7–8, 13, 17, 19, 28,
30–31, 33–34, 41–42, 51, 53, 62,
65, 68, 75, 77, 8–85, 88, 92–93,
96, 100–101, 103, 107, 109, 113,
117, 120, 135
Embriologi, 2, 187

F

Fibrosis, 41, 162, 164, 186

H

Hepatomegali, 13
Hepatosit, 6, 9–11, 45, 46, 53, 57, 96,
112, 186
HLA, 29, 32, 38, 43, 75–77, 81–82, 91,
117–118, 165, 173, 178

I

Intrahepatik, 1, 2, 5–7, 12, 19, 22, 28,
30, 32–34, 51, 53, 56, 62, 68, 74,
92–93, 99–101, 103, 108, 117,
119, 135, 136

K

Kasai, 2, 12, 22–24, 58, 78, 118–119,
123, 135, 137–138, 160–161,
164, 179, 182–183
Kistik, 14, 187
Kolangiosit, 93–94, 102, 109, 186
Kontraksi, 10
Kortikosteroid, 125, 131, 136, 139

L

Ligamentum Hepatoduodenale, 9

M

MRCP, 19, 187

O

Obstruksi, 83, 188

P

Porta Hepatis, 7–9, 12, 22, 24, 74

S

Splenomegali, 13
SGOT, 18
SGPT, 18

T

Triangular Cord Sign, 16–17

V

Vena Porta, 8–9, 31–32, 142



Penulis

Penulis lahir di Surabaya, 18-08-1969. Penulis adalah staff Divisi Gastrohepatologi, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, FK UNAIR-RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.

Buku ini merupakan buku ke-5 setelah Atresia Bilier: Ilmu Dasar hingga Aspek Klinis (2019); Deteksi Dini Atresia Bilier pada Bayi (2020); Hepatitis B pada Anak; dan Bayi Kuning, Awas Atresia Bilier!

TINJAUAN IMUNOLOGI

ATRESIA BILIER PADA ANAK



Airlangga
University
Press

ISBN 978-602-473-949-2

