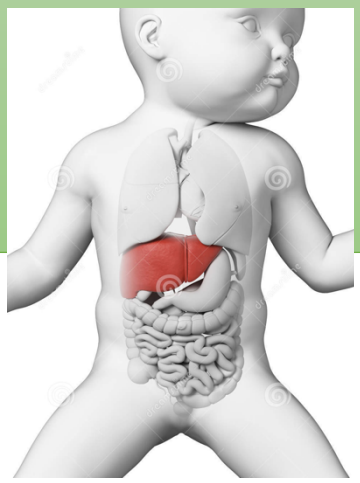
R. Emaus
S2938162

Rijksuniversiteit Groningen
Bachelorscriptie

Vakgroep: Farmacotherapie, Toxicologie en Targeting
Begeleider: Leonie Beljaars

28-09-2018



Farmacotherapeutische behandeling van kinderen met biliaire atresie na Kasai porto-enterostomie: (on)terecht verwachte potentie?

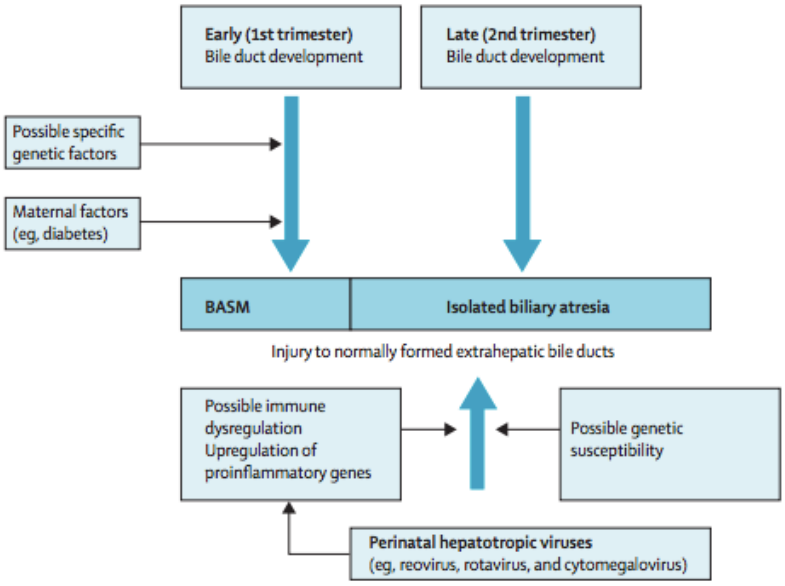
SAMENVATTING. Biliare atresie is een ernstige levercomplicatie welke alleen voorkomt bij pasgeboren kinderen. Hierbij zijn de galwegen vanaf de lever naar de darmen niet of niet goed aangelegd, waardoor zich cholestase voordoet en de integriteit van de darmen tevens verandert. De oorzaak van de ziekte is onbekend en ontwikkelt zich al mogelijk voor de geboorte van het kind. De behandeling is operatief, namelijk via Kasai porto-enterostomie. Via deze behandeling worden de galwegen aangelegd zodat het gal weer naar de darmen kan stromen. Postoperatief doen zich vervolgens in de meeste gevallen meerdere complicaties op bij de kinderen, waardoor zij niet geheel genezen zijn maar er alsnog hoge behoefte is aan farmacotherapeutische behandeling. In veel gevallen wordt de genezing van een kind gemeten aan de hand van de verdwijning van geelzucht (en daarmee het goed functioneren van de lever) en de overleving van de aangeboren lever (geen noodzaak aan levertransplantatie). De meest voorkomende complicatie is bacteriële cholangitis. Om deze reden worden er doorgaans profylactische antibiotica voorgeschreven. De effectiviteit hiervan is echter discutabel – uit verschillende onderzoeken worden controversiële resultaten verkregen. Zo is er door het onderzoek van *Wu et al* en *de Vries et al* is er geen significant verschil aangetoond wat betreft de incidentie van BC bij behandelde en onbehandelde patiënten met antibiotica, terwijl *Lally et al* wel degelijk wordt geconcludeerd dat antibioticumgebruik een positieve invloed heeft. Een van grootste oorzaken voor de behoefte aan een levertransplantatie op latere leeftijd is bindweefselvorming in de lever. Hierdoor nemen de leverfuncties af, of vallen zelfs geheel uit. Om dit te voorkomen en/of verhelpen worden er glucocorticosteroïden toegediend. Ook hiervan zijn de resultaten controversieel: door *Bezerra et al* en *Davenport et al (2007)* wordt geconcludeerd dat er geen significant effect van steroïden op de genezing en overleving van de patiënt aangetoond is, terwijl *Davenport et al (2013)* het tegendeel concludeert. Tevens worden choleretica toegediend, met als doel het verlagen van de endogene concentratie giftige galzouten. De conclusies wat betreft choleretica zijn aan de hand van de behandelde artikelen enkel positief. Zowel de studies van *Qiu et al* en tonen beide aan de UDCZ (alleen of in combinatie met steroïden) een positief effect heeft op het uitblijven van geelzucht. Een van de mogelijke oorzaken van BA zijn virale infecties. Wanneer dit het geval is worden er antivirale middelen toegediend – over de effectiviteit hiervan is reeds weinig bekend. Een mogelijk toekomstig alternatief zijn zilveren nanodeeltjes. Hiervan is door het onderzoek van *Zhang et al* aangetoond dat het bij muizen een positieve invloed heeft op de gezondheid. Ten slotte zijn er nog enkele overige middelen: het kruidenmengsel "Inchinko-to" uit Azië en de immunoglobulinen. Van beide is echter geen aangetoond bewijs van effectiviteit beschikbaar.

AFKORTINGEN. BA = biliaire atresie, KPE = Kasai porto-enterostomie, BR = bilirubine, BC = bacteriële cholangitis, steroïden = glucocorticosteroïden, UDCZ = ursodeoxycholzuur, RRV = Rhesus rotavirus, AgNPS = zilveren nanodeeltjes, IG = immunoglobulinen

TREFWOORDEN. Biliaire atresie, Kasai porto-enterostomie, farmacotherapeutische behandeling, (profylactische) antibiotica, glucocorticosteroïden, choleretica (UDCZ), antivirale middelen, nanodeeltjes

Inleiding

Biliaire atresie (BA) is een van de meest voorkomende levercomplicaties bij pasgeboren kinderen. Een destructieve inflammatie ligt ten grondslag aan de ziekte, welke leidt tot de complicaties leverfibrose en slecht aangelegde galwegen, en tevens tot de afbraak van de galwegen. Dit uit zich dan weer door middel van het ontstaan van geelzucht in de eerste weken na geboorte. Hoewel BA wereldwijd een zeldzame ziekte is, verschilt de incidentie ervan sterk per land – in Nederland is dit (gemeten tussen 1987 en 2008) 1 op de 18.619 levend geboren kinderen (1). In Aziatische landen ligt de incidentie een stuk hoger – in Japan is dit bijvoorbeeld 1 op de 5000 (2). Een vergelijkbare pathologie is niet bekend bij mensen uit andere leeftijdscategorieën. Er is al met al weinig tot niets bekend over de pathogenese van BA: het ziektebeeld blijft idiopathisch. Verschillende hypothesen zijn wel opgesteld. Zo wordt er vermoed dat genetische aanleg en disfunctioneren van het immuunsysteem vooral een grote rol spelen, zoals te zien is in figuur 1.



Figuur 1: Mogelijke en vermoede oorzaken van BA voor en na de geboorte. (BASM = biliary atresia splenic malformation syndrome: zal niet worden behandeld in deze review door de zeer lage incidentie) (1)

De slecht of niet aangelegde galwegen hebben logischerwijs ophoping van gal in de lever (cholestase) en een veranderde samenstelling van de darmflora tot gevolg (3). Daarnaast heeft het disfunctioneren van de lever geelzucht tot gevolg. Geelzucht is geen ziektebeeld op zichzelf, maar een verschijnsel dat wordt veroorzaakt door een sterk verhoogde concentratie bilirubine (BR) in het bloedserum. BR is een afbraakproduct van rode bloedcellen en wordt normaalgesproken uit het lichaam verwijderd door de lever. Wanneer de lever minder goed functioneert stijgt de concentratie BR in het bloed, en krijgt de gehele huid een gele gloed. Geelzucht wordt dan ook vaak gebruikt als relatief eenvoudig meetbare maatstaaf voor het functioneren van de lever (4), en daarmee ook voor het dan wel niet slagen van operatieve behandelingen. Aangetoond is dat een snelle klaring van geelzucht na operatie een aanwijzing is dat de behoefte aan een levertransplantatie later in het leven lager is (5) (6).

Onderzoekers zijn voornamelijk bezig met het identificeren en begrijpen van relevante factoren in het serum, waarvan vermoed wordt dat ze te maken hebben met de problematische fibrose in patiënten. Een voorbeeld van zo een factor in het bloed is osteopontine: de expressie hiervan is in de lever van kinderen met BA sterk verhoogd t.o.v. controles (3). Vorming van fibrotisch weefsel in de lever van patiënten is namelijk de voornaamste redenen voor de hoge letaliteit en nood voor levertransplantatie op latere leeftijd (7). Wanneer deze factoren geïdentificeerd kunnen worden, kan er eventueel op ingespeeld worden door middel van farmacotherapeutische interventie.

Ondanks dat er reeds weinig over de pathogenese van de ziekte bekend is, is wel bekend waaruit de behandeling bestaat en welke mogelijkheden er bestaan wat betreft farmacotherapeutische adjuvantia. De eerstelijns behandeling is operatief, bestaande uit een Kasai porto-enterostomie (KPE). KPE is een palliatieve procedure waarbij de afvoer van gal uit de lever wordt bevorderd door het (opnieuw) aanleggen van de zeer kleine galgangen. Studies hebben in het verleden aangetoond dat 90% van de onbehandelde kinderen met BA zal sterven voor ze de leeftijd van drie jaar bereiken. Nu is de vijfjarige overlevingskans na introductie van KPE gestegen tot wel 30-70% (8). Drie classificaties BA kunnen worden onderscheden. >90% van de BA-patiënten leidt aan type 3. Enkel deze patiënten (type 3) worden na diagnose operatief behandeld via KPE, en zullen dus ook als enige in deze review behandeld worden (1). Twee factoren hebben bewezen invloed op het slagen van de KPE-behandeling. Deze factoren zijn leeftijd op moment van KPE, en de anatomie van de extrahepatische atretische galwegen (9) (10). De behandeling geeft bijvoorbeeld de beste uitkomst wanneer deze wordt uitgevoerd op zeer jonge kinderen; bij voorkeur bij kinderen van <65 dagen oud. Wanneer de behandeling wordt uitgevoerd bij kinderen van deze leeftijd, word het namelijk geassocieerd met een effectievere verdwijning van geelzucht (4).

Zelfs na succesvolle KPE-behandeling ervaart het grootste deel van de patiënten nog steeds verschillende levercomplicaties gedurende het leven. In het uiterste geval hebben zij een levertransplantatie nodig – geschat wordt dat dit het geval is bij meer dan 70% van de patiënten. Deze schrale resultaten benadrukken de behoefte van patiënten met BA aan effectieve zorg. Daarnaast wordt er alleen al in de Verenigde Staten circa de helft van het jaarlijkse budget van 77 miljoen euro voor levertransplantaties bij kinderen gebruikt ter behandeling van BA (11). Hierdoor is er, ondanks de lage incidentie van de ziekte, veel onderzoek gedaan naar de farmacotherapeutische middelen. Zo zijn er een aantal verschillende geneesmiddelen in gebruik: antibiotica, corticosteroïden, choleretica en antivirale middelen. Er is echter nog geen eensgezindheid over de inhoud van de beste behandeling, dan wel over de daadwerkelijke effectiviteit van de zojuist genoemde middelen. In dit review zal in kaart gebracht worden wat de verschillende huidige behandelingsmethoden zijn met zijn bijbehorende eventuele voor- en nadelen. Naast de ‘standaard’-middelen is er niet veel bekend over vernieuwende ontwikkelingen, er zullen maar enkelen worden behandeld in dit review. Het hedendaagse onderzoek richt zich voornamelijk op de effectiviteit van de middelen welke al in gebruik zijn.

Geneesmiddelen bij biliaire atresie

Zoals vermeld zijn er verschillende perioperatieve farmacotherapeutische behandelmethoden mogelijk bij BA-patiënten na KPE. Het doel van deze geneesmiddelen is het behouden van de gezondheid van de patiënten, door het tegengaan van postoperatieve complicaties. De voornaamste 'standaard' toegediende medicijnen zijn profylactische antibiotica, glucocorticosteroïden en choleretica. Incidenteel worden er ook antivirale middelen voorgeschreven.

(Profylactische) antibiotica

Zowel pre- als postoperatief worden er profylactische antibiotica toegediend aan patiënten. Het soort antibioticum dat wordt toegediend is afhankelijk van het ziekenhuis en land waar dit gebeurt. Zo wordt er bijvoorbeeld gebruik gemaakt van amoxicilline/clavulaanzuur, piperacilline/tazobactam (Tazocine), neomycine/colistine/nystatine, ciprofloxacine, cotrimoxazole, trimetoprim/sulfamethoxazol (TM/SM) en combinaties van de zojuist genoemde. In Nederland worden er voornamelijk combinatietherapieën toegediend (2) (12) (1). Het doel van de toegediende antibiotica de voorkoming van bacteriële cholangitis (BC). Dit is een van de meest voorkomende en alarmerende postoperatieve complicaties na uitvoering van KPE. Ongeveer 70-90% van de patiënten ontwikkelt het ten minste een keer binnen de eerste twee levensjaren (8). Het omvat een ontsteking van de galwegen en wordt veroorzaakt door bacteriën afkomstig uit de natuurlijke darmflora. Na een succesvolle KPE is het opdoen van BC een cruciale complicatie: het voorkomen van BC wordt gezien als een belangrijke indicatie over de overlevingskans van de aangeboren lever op lange termijn. Wanneer BC zich opdoet in een patiënt kort na KPE is dit indicatie voor een slechte prognose (13) (12).

De feitelijke werking van profylactische antibiotica is echter discutabel: uit verschillende onderzoeken zijn controversiële resultaten verkregen. Drie onafhankelijke retrospectieve cohort studies zullen worden behandeld. In tabel 1 is een overzicht/samenvatting van de resultaten van de behandelde studies te zien.

Tabel 1: Overzicht/samenvatting van de behandelde studies omtrent antibiotica

	Wu et al (2001)	*Lally et al (1989)*	*De Vries et al (2012)*
Locatie	Taiwan	Verenigde Staten	Nederland
Studie-omvang	37 (16 met AB, 21 zonder AB)	41 (34 met AB, 7 zonder AB)	204 (124 met AB, 80 zonder AB)
Data informatie-collectie	1993-1998	1972-1986	1987-2008
Toegediend antibioticum	TM/SM, neomycine	TM/SM, ampicilline, cefalosporinen	TM/SM, neomycine/colistine/nystatine, ciprofloxacine
Vervolgstudie (maanden)	6-59	1-72	1-263
Resultaten	53% BC bij AB, 47% bij geen AB	15% BC bij AB, 57% bij geen AB	62% BC bij AB, 51% bij geen AB

Afkortingen: AB = antibioticum behandeling, TM/SM = trimetoprim/sulfamethoxazol

Tijdens de studie van *Wu et al* (14) zijn 37 kinderen met BA beoordeeld, welke gedurende een periode van 5 jaar (1993 en 1998) KPE ondergingen. De periode van de vervolgstudie varieerde per patiënt – deze omvatte tussen de 6 en 59 maanden. Het doel van deze studie was om de juiste klinische en laboratorium kenmerken van BC in patiënten met BA te identificeren, om BC vervolgens beter te kunnen onderscheiden van andere koortsige perioden. Bij de 37 patiënten werden de koortsige periodes geanalyseerd: hiervan was er in 78 gevallen sprake van BC, bij een totaal van 34 kinderen. Gedurende deze periodes werd er in 41 gevallen (53%) tevens gebruik gemaakt van profylactische antibiotica. Bij de overige 37 periodes (47%) werd er niet behandeld met antibiotica. Met andere woorden: er was even veel sprake van periodes van BC bij kinderen met en zonder behandeling. Conclusie van *Wu et al* is dus dat de profylactische antibiotica geen aangetoond effect vertonen op het voorkomen van cholangitis bij kinderen met BA na KPE. Uit de studie van *Lally et al* (15) is een andere conclusie getrokken. Gedurende deze studie zijn 41 kinderen met BA in het Kinderziekenhuis van Los Angeles tijdens een periode van 14 jaar (1972-1986) beoordeeld. De duur van de vervolgstudie varieerde per patiënt, en omvatte tussen de 1 en 72 maanden. Het doel was om de factoren te bepalen welke ervoor zorgen dat enkele kinderen wel een gezond leven (zonder transplantatie of andere levercomplicaties) leiden na KPE. Hierbij werd ook het gebruik van profylactische antibiotica geëvalueerd. Van de 41 patiënten werden er 37 langdurig behandeld met antibiotica. Drie hiervan werden van de behandeling afgehaald in de eerste twee tot drie maanden, en vielen hierdoor vervolgens binnen de categorie 'geen antibiotica'. Van de 34 overgebleven patiënten met antibiotica ontwikkelde vervolgens bij vijf van hen (15%) BC gedurende het gebruik. Dit gold voor vier van de zeven (57%) van de patiënten welke niet werden behandeld. Conclusie van deze studie is dus tegenstrijdig aan die van *Wu et al*, namelijk dat de profylactische antibiotica wel degelijk een positief effect hebben op de incidentie van cholangitis. Het doel van de studie van de *Vries et al* (1) was om het gevolg van BA te onderzoeken, en om factoren voor een meer adequate prognose te bepalen. Dit was een grote studie, vergeleken met die van *Wu et al* en *Lally et al*. 204 patiënten zijn voor dit onderzoek beoordeeld, welke waren gediagnosticeerd tussen 1987 en 2008. De duur van de vervolgstudie varieerde van 1 tot 263 maanden. Van deze 204 patiënten werden er 124 behandeld met profylactische antibiotica – hiervan ontwikkelden 77 patiënten (62%) ten minste eenmaal BC. Van de niet behandelde patiënten (n= 80) ontwikkelde er 41 (51%) BC. Uit het resultaat van *De Vries et al* kan dus dezelfde conclusie worden getrokken als uit die van *Wu et al*.

Lactobacillus casei rhamnosus

Profylactische antibiotica lijken onschuldig, gezien de afwezigheid van bekende meldingen over enige bijwerkingen. Een groot nadeel van langdurig antibioticagebruik is echter daadwerkelijk aanwezig: de resistentie die het zou kunnen veroorzaken. Derhalve wordt er ook onderzoek gedaan naar alternatieven. Zo is er door *Lien et al* onderzoek verricht naar het gebruik van de bacterie *Lactobacillus casei rhamnosus*. Dit virus is een probioticum – oftewel, een levend micro-organisme met een suppressief effect op bacteriële groei. Daarnaast voorkomen zij infectie en inflammatie van de darmen (16). In het onderzoek van *Lien et al* is aangetoond dat het toedienen van deze bacterie even effectief is in het voorkomen van BC als neomycine is. Hiervoor zijn een totaal van 20 patiënten willekeurig ingedeeld in twee groepen waarvan er een behandeld zou worden met het antibioticum neomycine en de

andere met het probioticum. Gedurende de eerste zes maanden na behandeling was de incidentie van BC in beide groepen exact even groot, namelijk 2 patiënten (20%) (17).

Glucocorticosteroïden

Veel BA-patiënten hebben op latere leeftijd, ondanks succesvolle KPE, alsnog levertransplantatie nodig. Ontsteking en fibrose in de lever zijn hierbij de kern van het probleem. Door complicaties met verscheidene (onbekende) redenen, o.a. BC, ontstaat er een ontsteking in de lever, waardoor fibrotisch weefsel wordt gevormd en de lever niet meer geheel kan functioneren. Om deze reden maken ook glucocorticosteroïden (worden vanaf hier steroïden genoemd) deel uit van de farmacotherapie na KPE. Door het verminderen van inflammatie en fibrose in de lever wordt vervolgens de galafvoer bevorderd. De meest gebruikte steroïde bij BA is dexamethason. Ook van de steroïden is het daadwerkelijke effect onzeker. Hier geldt wederom dat uit verschillende onderzoeken verschillende conclusies getrokken kunnen worden. De onderzoeken van *Bezerra et al*, *Davenport et al* en *Qiu et al* zullen worden belicht. De resultaten hiervan zijn samengevat in tabel 2.

Tabel 2: Overzicht/samenvatting van de behandelde studies omtrent steroïden

	Bezerra et al (2014)	*Davenport et al (2007)*	*Davenport et al (2013)*
Locatie	Via het CHiLDREN-netwerk	Verenigd Koninkrijk	Verenigd Koninkrijk
Studie-omvang	140 (70 met SB, 70 zonder SB)	73 (36 met SB, 37 zonder BS)	153 (lage dosis steroïden (n= 18), hoge dosis steroïden (n= 44) en controle (n= 91)
Data informatie-collectie	2005-2011	2000-2005	2000-2011
Toegediende steroïden	(Methyl)prednisolon	Prednisolon	Prednisolon
Resultaten	**Met SB**: 59% genezen van geelzucht en 58,7% had geen transplantatie nodig. **Zonder SB**: 49% genezen van geelzucht en 59,4% had geen transplantatie nodig	Geen significant verschil tussen met en zonder SB wat betreft verdwijning van geelzucht en aantal lever-transplantaties	Geelzuchtverdwijning (lage dosis, hoge dosis, controle): 47/91 (52%) vs. 12/18 (67%) vs. 29/44 (66%). Vierjarige overleving aangeboren lever (geen noodzaak transplantatie: 46% vs. 50% vs. 57%.

Afkortingen: SB = steroïden behandeling, CHiLDREN = Childhood Liver Disease Research and Education Network: dit is een netwerk bestaande uit een team van o.a. dokters en onderzoekers, en verspreidt zich over de Verenigde Staten, Canada en het Verenigd Koninkrijk.

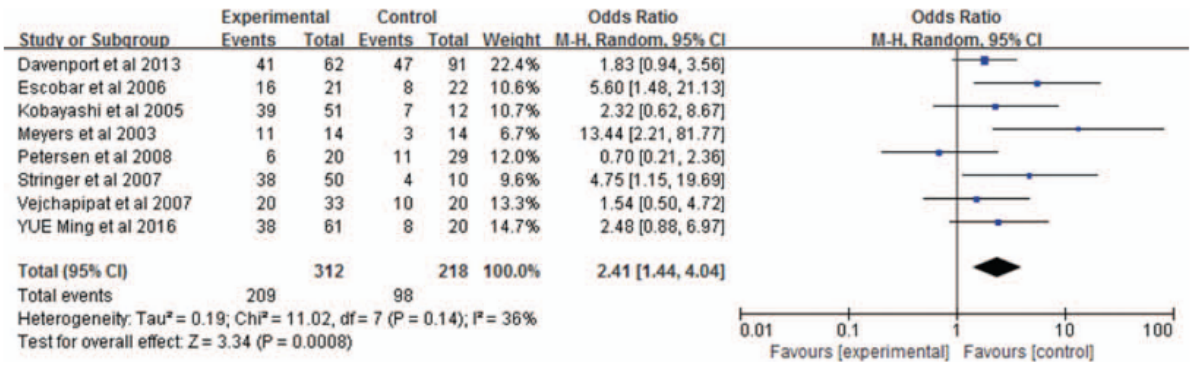
Het doel van de studie van *Bezerra et al* (18) was aantonen of het toedienen van steroïden na KPE een positieve invloed heeft op de overleving van de eigen lever. Dit is gerealiseerd door

een gerandomiseerd, dubbelblind onderzoek waarbij 140 patiënten betrokken waren. Alle kinderen werden 13 weken behandeld. Aan de eerste groep patiënten (n= 70) werd de eerste twee weken intraveneus methylprednisolon en oraal prednisolon toegediend, gevolgd door negen weken prednisolon volgens een schema met aflopende doses. Voor de tweede groep (n= 70) gold hetzelfde schema wat betreft toediening. Hierbij werd echter een zoutoplossing toegediend in plaats van (methyl)prednisolon. De resultaten van de groepen leken in alle opzichten veel op elkaar. Wanneer het serumlevel bilirubine zes maanden na KPE lager was dan 1,5 mg/dL werd de patiënt beschouwd als genezen. Behandeling met steroïden had volgens het onderzoek geen invloed op het aandeel patiënten dat hieraan voldeed: dit waren 41 van de 70 (59%) met steroïden behandelde patiënten t.o.v. 34 van de 70 (49%) patiënten met placebo. Daarnaast is de tweejarige overleving zonder levertransplantatie gemeten. Ook op dit vlak leken de resultaten sterk op elkaar: 58,7% van de behandelde patiënten en 59,4% van de placebo patiënten had geen transplantatie nodig. Volgens het onderzoek van *Bezerra et al* is er dus geen positief effect op de overleving van de aangeboren lever van steroïden aangetoond. Een tweede studie naar het effect van steroïden is die van *Davenport et al* (19). Ook dit is een gerandomiseerde studie, echter met een kleinere studie-omvang. Voor de studie werden 73 BA-patiënten, welke KPE hadden ondergaan in twee ziekenhuizen in het Verenigd Koninkrijk (Londen en Leeds) beoordeeld. 36 kinderen werden behandeld met steroïden (prednisolon), 37 met een placebo. Het resultaat werd hier gemeten als het uitblijven van geelzucht (gedefinieerd als een bilirubine plasmalevel van $\leq$20 μmol/L na 6 en 12 maanden), en als het overleven van de aangeboren lever na 6 en 12 maanden (geen noodzaak voor levertransplantatie). Algeheel werd de verdwijning van geelzucht 6 en 12 maanden postoperatief bereikt door respectievelijk 34 (48%) en 32 (44%) patiënten. Op beide tijdstippen werd er geen significant verschil gemeten tussen de behandelde- en placebo groep. Het zelfde geldt voor het aantal levertransplantaties. Deze werden uitgevoerd bij 9 (13%) en 22 (31%) patiënten na respectievelijk 6 en 12 maanden. Hier was wederom geen verschil aan te tonen tussen de behandelde- en placebo groep. Wat echter wel als positief resultaat uit de studie kwam, was dat het aantal kinderen dat vrij van geelzucht was 1 maand na KPE hoger was onder de groep van behandelde kinderen. Hieruit kan dus geconcludeerd worden dat de snelheid van geelzucht verdwijning hoger ligt na behandeling met steroïden. Meer aanwijzingen hiervoor zijn echter niet elders in de literatuur teruggevonden. In tegenstelling tot de voorheen besproken resultaten zijn er ook studies met positieve resultaten. Een voorbeeld hiervan is gepubliceerd door dezelfde onderzoeksgroep, *Davenport et al*. De groep heeft een paar jaar na het eerst besproken onderzoek nogmaals onderzoek gedaan naar hetzelfde onderwerp. In deze studie (20) werden 153 BA-patiënten ingedeeld in drie groepen van behandelmethoden: lage dosis steroïden (n= 18), hoge dosis steroïden (n= 44) en geen steroïden (n= 91). Het resultaat werd gemeten als het uitblijven van geelzucht, de hoogte van bilirubine serumlevels en overleving van de aangeboren lever. 1 maand na KPE werd er een significant verschil gemeten in verlaging van bilirubinelevels tussen kinderen in de hoge dosis en geen steroïden groep: de serumlevels waren lager bij de behandelde patiënten. Ook werd aangetoond dat gebruik van steroïden voor een significante verhoging van de geelzuchtverdwijning zorgde: 47/91 (52%) vs. 12/18 (67%) vs. 29/44 (66%). Er werd geen verschil aangetoond wat betreft vierjarige overleving van de aangeboren lever (46% vs. 50% vs. 57%) of vierjarige overleving van de patiënten (96% vs. 94% vs. 95%).

Choleretica

Ursodeoxycholzuur (UDCZ) is een galzuur dat al langere tijd wordt gebruikt ter behandeling van verscheidene galblaasziekten. Zijn medicinale effectiviteit is onder andere bewezen bij volwassenen welke leden aan biliaire cirrose en cholangitis. Er wordt gesuggereerd dat UDCZ immunomodulerend effect zou hebben, en een verhoogde concentratie UCDZ zou geassocieerd worden met een verlaagde concentratie 'giftige' endogene galzouten (21). Om deze reden is UDCZ geïntroduceerd als therapie bij BA. Wanneer ze worden toegediend aan patiënten gebeurt dit in de meeste gevallen in combinatie met steroïden, dus wordt het grootste aandeel van het onderzoek ook naar de combinatie gedaan.

De studie *Qiu et al* (22) is een meta-analyse uitgevoerd over van 8 studies (onder andere de eerste van Davenport) uit verscheidene landen, waarbij in totaal 530 BA-patiënten werden beoordeeld. Hiervan werden 312 patiënten behandeld met steroïden in combiniatie met UDCZ, en werden de overige 218 behandeld met andere therapeutische methoden. Het resultaat werd hier gemeten als het aantal postoperatieve gevallen van geelzucht. In figuur 2 zijn de resultaten van de meta-analyse te zien. Geconcludeerd kan worden dat farmacotherapie met steroïden en UDCZ een positieve invloed heeft op de postoperatieve klaring van geelzucht. Voor het onderzoek van *Willot et al* (23) is er gekeken naar het effect van alleen UDCZ op de leverfunctie van kinderen met BA na KPE. De studie-omvang van deze studie was echter wel zeer laag: er zijn 16 kinderen beoordeeld, welke allemaal gedurende ten minste 18 maanden na KPE werden behandeld met drie keer per dag 200 mg/m^2 lichaamoppervlak (600 mg/m^2 per dag) UDCZ. Op klinisch en bloedspiegel niveau zijn de patiënten beoordeeld op moment van stoppen met UDCZ (T0), tijdens vervolgstudie (T1), en eventueel tijdens de tweede start van UDCZ (T2: alleen wanneer na stoppen met UDCZ de situatie weer verslechterde). Hiervoor werd de verdwijning van geelzucht en BC gemeten. In figuur 3 is te zien dat na stoppen met UDCZ-behandeling de bilirubinelevels in serum het van de patiënten (weergegeven als mediaan) significant verhoogd was – de leverfunctie daalde na stoppen met de behandeling. In figuur 4 is te zien dat na herstarten van de behandeling de bilirubinelevels weer sterk daalde. Daarmee is dus het positieve effect van UDCZ op de leverfunctie aangetoond aan de hand van deze studie.



Figuur 2: Resultaten van de meta-analyse van het effect van steroïden en UDCZ, door Qiu et al (22)

	Median (Range)	
	T0 at the Time of UDCA Discontinuation	T1 at the Last Evaluation After Discontinuation
Total bilirubin level, μmol/L	10.3 (3.4–39.3) (*n* = 15)	13.7 (5.1–56.4) (*n* = 15)
Conjugated bilirubin level, μmol/L	2.6 (1.7–27.2) (*n* = 15)	3.4 (1.7–46.2) (*n* = 15)
AST level, ×N	1.3 (0.6–3.4) (*n* = 16)	1.7 (0.7–6.0) (*n* = 16)
ALT level, ×N	1.4 (0.5–5.4) (*n* = 16)	3.0 (0.8–7.0) (*n* = 16)
GGT level, ×N	4.2 (0.5–27.4) (*n* = 16)	8.0 (1.8–30.2) (*n* = 15)
Total serum bile acid level, μmol/L	56 (5–370) (*n* = 15)	54 (2–288) (*n* = 14)
UDCA enrichment of serum bile acids, % of total serum bile acid	53 (18.8–73.0) (*n* = 12)	0 (0–11) (*n* = 14)
Sum of serum cholic and chenodeoxycholic acids, μmol/L	33 (2–130) (*n* = 12)	53 (2–279) (*n* = 14)
Prothrombin time, %	96 (66–100) (*n* = 16)	90 (67–100) (*n* = 15)
Factor V, %	100 (54–151) (*n* = 15)	84 (51–144) (*n* = 14)

Values are expressed as medians (minimum to maximum). ×N indicates multiple of the upper limit of value considered normal in this laboratory.

Figuur 3: Resultaten van Willot et al (23) op tijdstop T0 en T1

	Median (Range)	
	T1 at the Last Evaluation After Discontinuation	T2 6 Months After UDCA Treatment Was Reinstituted
Total bilirubinemia, μmol/L	13.7 (5.1–56.4) (*n* = 12)	8.5 (2–40) (*n* = 12)
Conjugated bilirubinemia, μmol/L	2.6 (1.7–46.2) (*n* = 12)	3.4 (1.7–56.4) (*n* = 12)
AST level, ×N	1.7 (0.9–6.0) (*n* = 13)	1.3 (0.6–3.9) (*n* = 12)
ALT level, ×N	3.1 (1.3–7.0) (*n* = 13)	1.4 (0.7–5.9) (*n* = 12)
GGT level, ×N	10.6 (2.4–30.2) (*n* = 12)	4.6 (1.2–21.3) (*n* = 13)
Total serum bile acids, μmol/L	75 (5–288) (*n* = 11)	114 (6–198) (*n* = 13)
UDCA enrichment of serum bile acids, % of total serum bile acids	0 (0–11) (*n* = 11)	55 (6–76) (*n* = 11)
Sum of serum cholic and chenodeoxycholic acid levels, μmol/L	68 (5–279) (*n* = 11)	57 (3–129) (*n* = 11)
Prothrombin time, %	87.5 (67–100) (*n* = 13)	85 (68–100) (*n* = 13)
Factor V, %	80 (51–130) (*n* = 12)	81.5 (53–130) (*n* = 12)

Values are expressed as medians (minimum to maximum). ×N indicates multiple of the upper limit of value considered normal in this laboratory.

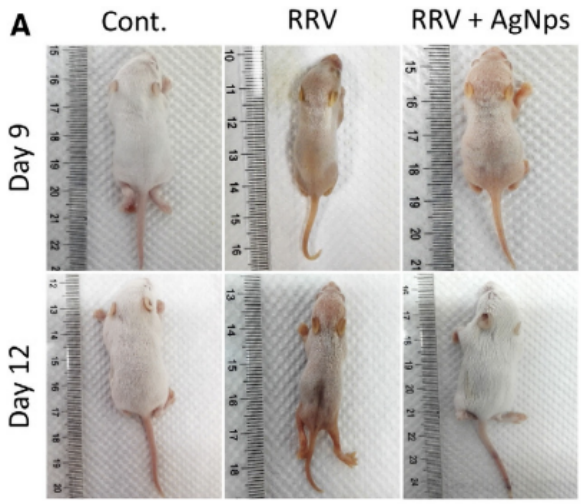
Figuur 4: Resultaten van Willot et al (23) op tijdstippen T1 en T2

Antivirale middelen

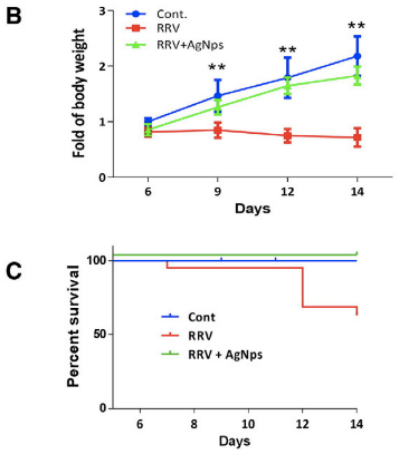
Zoals eerder genoemd is BA nog steeds een idiopathisch ziektebeeld. Er zijn echter wel meerdere hypothesen over de oorzaak, waaronder de onderstelling dat BA wordt veroorzaakt door een prenataal opgelopen virale infectie van de lever en het hepatobiliaire systeem, zoals te zien is in figuur 1. Recentelijke waarnemingen ondersteunen deze theorie. Het aangeboren immuunsysteem reageert namelijk op BA op een soortgelijke manier als dat het op virale infecties reageert: door upregulatie van MxA-transcriptiefactoren en Toll-like receptoren (TLR) 3 en 7. De virussen waarvan wordt vermoed dat zij mogelijk de aanzet zijn tot BA, en waarnaar het meeste onderzoek uit gaat, zijn reovirus, rotavirus, en voornamelijk cytomegalovirus (CMV) (24). Zo is in het onderzoek van *Fishler et al* aangetoond dat in de moeders van kinderen met BA hogere serumlevels van CMV-antilichamen aanwezig zijn en in de kinderen zelf tevens hogere levels CMV-IgM aanwezig is (25). Tevens is in een Chinese studie aangetoond dat CMV-infectie rondom de geboorte gecorreleerd zou kunnen worden aan een slechtere prognose van BA. Bij deze geïnfecteerde kinderen was sprake van minder verdwijning van geelzucht, een hogere incidentie van cholangitis en een ernstigere vorm van leverfibrose en inflammatie na KPE (24). Wanneer duidelijk is dat er bij een BA-patiënt sprake is van een virale (CMV-)infectie, door aangetoonde aanwezigheid van verhoogde levels CMV-IgM, kan er vervolgens op ingespeeld worden via farmacotherapeutische behandeling. In de meeste gevallen wordt er dan gebruik gemaakt van gancyclovir en zijn orale prodrug variant valgancyclovir (21) (2). Deze farmaca zijn namelijk eerste keus ter preventie van meerdere congenitale afwijkingen (26) (27). Men doet vandaag de dag voornamelijk onderzoek naar de correlatie tussen CMV en BA, en het mogelijke causale verband. Onderzoek naar de effectiviteit van antivirale middelen blijkt te ontbreken.

Een alternatief op de huidige antivirale middelen zijn zilveren nanodeeltjes (AgNPS). Deze deeltjes hebben al eerder antivirale en anti-inflammatoire eigenschappen getoond. Door de studie van *Zhang et al* (28) is onderzoek verricht naar muizen welke vlak na de geboorte werden geïnfecteerd met het Rhesus rotavirus (RRV) om door virale infectie veroorzaakte BA te imiteren. Vervolgens bleken de muizen welke waren behandeld met AgNPS alleen een verbleekte, gele huid hadden. Onbehandelde muizen (met RRV, zonder AgNPS) ontwikkelden progressieve toename in geelzucht en hadden veel minder haar. Resultaten hiervan zijn te zien in figuur 5. Tevens is in figuur 6 te zien dat ook de overleving van de behandelde muizen hoger lag, en ook het gewicht van de behandelde muizen meer op dat van de controle leek. Uit het onderzoek van *Zhang et al* kan dus worden geconcludeerd dat de zilveren nanodeeltjes

een positieve invloed hebben op de genezing van muizen met BA. Voor het effect van de AgNPS op mensen moet echter nog nader onderzoek verricht worden.



Figuur 5: Muizenstudie resultaten van de studie van Zhang et al (28): het uiterlijk van de muizen bij de leeftijd van 9 en 12 dagen, van de controle, muizen geïnfecteerd met RRV, en muizen geïnfecteerd met RRV en behandeld met AgNPS.



Figuur 6: Resultaten van Zhang et al (28): het lichaamsgewichten de overleving van muizen onbehandelde, behandeld met RRV en behandeld met RRV+AgNPS

Overige middelen

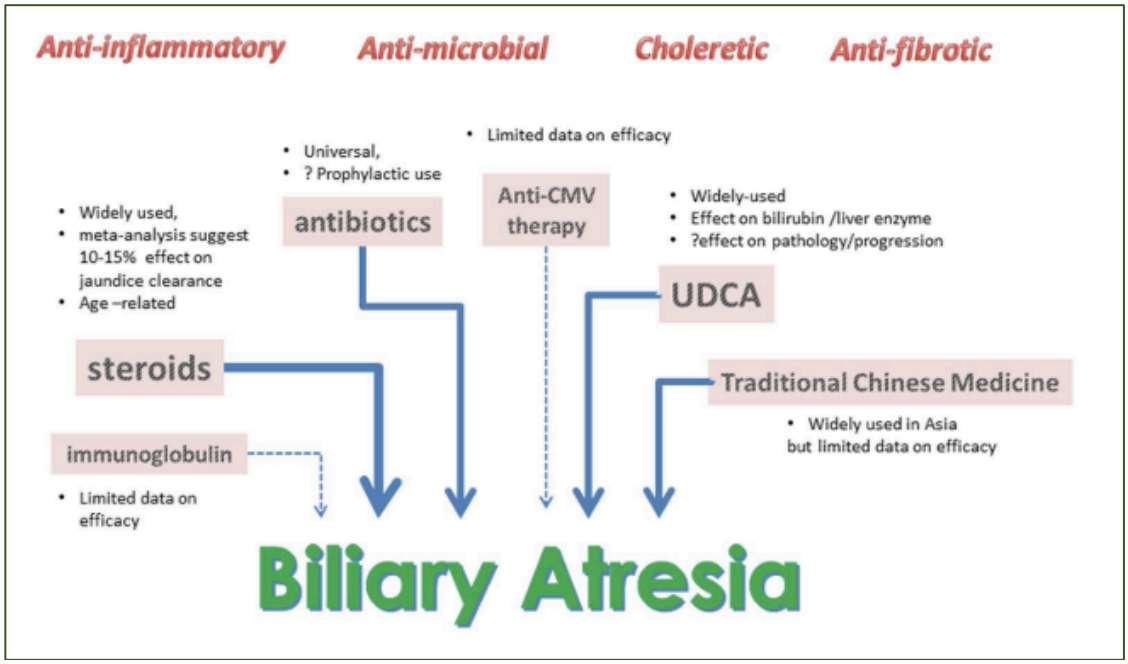
In zowel China als Japan wordt er bijna standaard een Chinees kruidenmengsel voorgeschreven aan kinderen met BA. Dit mengsel genaamd “Inchinko-to” bestaat voornamelijk uit de hoofdbestanddelen Artemisia Capillaris, Gardenia fruit en rabarber. Wat betreft de werkzaamheid is er echter niet veel bewijs. In muizen heeft experimenteel onderzoek aangetoond dat het mengsel hepatische stellaatcellen inhibeert, en daarmee ook fibrose tegenhoudt. Daadwerkelijk bewijs voor effectiviteit van het middel in mensen blijft echter uit (17). De studie van *Tamura et al* beargumenteert bijvoorbeeld dat administratie van Inchinko-to helpt om leverfibrose onder controle te krijgen, maar benoemt dat langere vervolgstudies nodig zijn om conclusies te kunnen trekken (29).

In sommige artikelen worden intraveneuze immunoglobulinen (IG) kort genoemd als potentiele therapie voor BA. Van IG is bekend dat hun therapie inflammatoire cytokines

inhibeert, en de concentratie anti-inflammatoire regulatoire T-cellen verhoogt. Er is echter nog geen publicatie gedaan over specifiek onderzoek naar hen. Volgens Davenport is er wel onderzoek gedaan is, maar is dit nooit gepubliceerd (17). De IG worden dan ook (nog) niet frequent voorgeschreven. Zo wordt in het onderzoek van Wong en Davenport vermeld dat geen van de in het onderzoek ingesloten ziekenhuizen gebruik maakt van immunoglobulinen (2).

Discussie

De levensverwachting voor een gediagnosticeerd kind met BA is met zekerheid sterk verbeterd de afgelopen 50 jaar. Desondanks blijven vele levensbedreigende complicaties zich opdoen, ook na succesvolle KPE. BA is en blijft een enigmatisch ziektebeeld. De oorzaak is veelal nog steeds onbekend, en het verloop is door de jonge leeftijd van de patiënten en de hoge noodzaak voor snelle handelingen moeilijk te achterhalen. De fundamentele behandeling van BA blijft KPE. Tot nu toe is er nog geen farmacotherapeutische therapie gevonden welke de ziekte bij de oorzaak aanpakt: de pathologische processen kunnen niet worden teruggedraaid of worden gestopt. De enige farmacotherapeutica welke naast KPE worden ingezet zijn voornamelijk profylactische antibiotica, corticosteroïden, choleretica en in sommige gevallen antivirale middelen. In Azië wordt er veel van een bepaald kruidenmengsel (Inchinko-to) toegediend, en in de toekomst zullen wellicht immunoglobulinen, probiotica (zoals de besproken *Lactobacillus casei rhamnosu,* het alternatief op de antibiotica) of zilveren nanodeeltjes een uitkomst kunnen bieden. In figuur 7 is een overzicht van de hedendaags bekende, deels experimentele middelen te zien.



Figuur 7: Samenvatting van de mogelijke farmacotherapeutische middelen/methoden ter behandeling van BA (17)

Van het overgrote deel van de besproken middelen is tevens geen sterk overtuigend bewijs van effectiviteit aanwezig en uit verschillende onderzoeken worden controversiële conclusies getrokken. Zo wordt er door *Wu et al* en *de Vries et al* geconcludeerd dat het toedienen van profylactische antibiotica geen invloed heeft op de incidentie van postoperatieve BC. Het tegendeel wordt beargumenteerd door *Lally et al*. Een relevant verschil, zoals te zien in tabel 1, is echter de studie-omvang van de studie van *Lally et al*. Geïncludeerd in deze studie zijn meer dan drie keer zo veel patiënten behandeld met antibiotica t.o.v. onbehandelde patiënten. Het lage aantal onbehandelde patiënten (n= 7) kan voor een vertekend beeld zorgen, en daarmee een verkeerde conclusie. Tevens is het onderzoek aanzienlijk minder actueel dan dat van *Wu et al* en *de Vries et al*. Wanneer *Lally et al* minder in acht wordt genomen, en voornamelijk de overige twee (overeenkomende) conclusies worden

beoordeeld kan worden beargumenteerd dat profylactisch antibioticagebruik na KPE overbodig is.

Wat betreft de steroïden en is er ook weinig overtuigend bewijs van effectiviteit aanwezig. Hier geldt wederom dat er in 1 van de drie beoordeelde studies wordt geconcludeerd dat de farmacotherapie een positief effect heeft op de patiënten. *Davenport et al (2013)* concludeert namelijk een hoger percentage geelzuchtverdwijning bij behandelde patiënten met steroïden. Uit het resultaat van *Bezerra et al* en *Davenport et al (2007)* geeft echter niet dezelfde uitkomst: hier is geen significant verschil aangetoond tussen behandelde en onbehandelde patiënten als het gaat om verdwijning van geelzucht en overleving. Hier geldt echter ook dat in het onderzoek van *Davenport et al (2013)* zeer afwijkende aantallen van patiëntengroepen beoordeeld werden. Zo telde de groep met lage dosis steroïden maar 18 patiënten, en was de controlegroep meer dan twee keer zo groot als de groep met hoge dosis steroïden. Ook hier geldt dat dit onbetrouwbare resultaten tot gevolg gehad kan hebben. In het onderzoek van *Qiu et al* is tevens onderzoek gedaan, echter hier in combinatie met een cholereticum. Conclusie hier is dat de combinatie van farmaca wel een positieve invloed heeft op de postoperatieve verdwijning van geelzucht. Of dit echter toe te wijten kan zijn aan de effectiviteit van het cholereticum op zichzelf komt niet in het onderzoek naar voren. Mogelijk is het effect te wijten aan de combinatie, mogelijk aan het cholereticum zelf. Dit wordt wel verder onderzocht in het onderzoek van *Willot et al*. Ondanks de lage studie-omvang hebben zij overtuigende resultaten verkregen, waaruit geconcludeerd kan worden dat choleretica wel degelijk een positief effect uitoefenen op het voorkomen van geelzucht. Verder zijn de overige behandelmethoden besproken. Van deze middelen dusdanig weinig bekend dat ze ook nog niet, of weinig, in praktijk worden toegepast. Zo worden antivirale middelen toegediend wanneer sprake is van een virale infectie, maar is er geen onderzoek gedaan naar de effectiviteit hiervan. Overige feitelijk vernieuwende middelen ontbreken en tevens is er weinig onderzoek naar nieuwe middelen.

Al met al is er weinig tot niets bekend over enige bijwerkingen van de verschillende farmacotherapeutische behandelingen. Desalniettemin is dit geen reden om ze in de, wellicht onterechte, hoop op effectiviteit toe te dienen. Men zou kunnen beargumenteren dat wanneer er geen sterk bewijs, maar wel wát indicatie is, de middelen ten behoeve van de patiënten toegediend zouden moeten worden. Antibiotica en antivirale middelen hebben echter een ernstig nadeel waar de medische wereld zich momenteel terechte grote zorgen om maakt: de (mogelijke) vorming van resistentie. Ten slotte ervaart geen enkel persoon het als prettig om voor een langere periode meerdere medicijnen te moeten slikken. Een kind niet, maar ook de ouders van een ernstig ziek kind niet. Naar de effectiviteit van alle benoemde middelen moet dus nog altijd meer onderzoek verricht worden, en overtuigendere resultaten verkregen worden.

Referenties

1. De Vries W, De Langen ZJ, Groen H, Scheenstra R, Peeters PMJG, Hulscher JBF, et al. Biliary atresia in the Netherlands: Outcome of patients diagnosed between 1987 and 2008. J Pediatr [Internet]. Mosby, Inc.; 2012;160(4):638–44. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.09.061
2. Wong Z, Davenport M. What Happens after Kasai for Biliary Atresia? A European Multicenter Survey. Eur J Pediatr Surg [Internet]. 2018; Available from: http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0038-1668146
3. Lampela H, Pakarinen M. [Biliary atresia]. Vol. 374, The Lancet 2009. 2009. p. 1704–13.
4. Pakarinen MP, Johansen LS, Svensson JF, Bjørnland K, Gatzinsky V, Stenström P, et al. Outcomes of biliary atresia in the Nordic countries – a multicenter study of 158 patients during 2005–2016. J Pediatr Surg [Internet]. Elsevier Inc.; 2018;53(8):1509–15. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2017.08.048
5. Chuang JH, Lee SY, Shieh CS, Chen WJ, Chang NK. Reappraisal of the role of the bilioenteric conduit in the pathogenesis of postoperative cholangitis. Pediatr Surg Int. 2000;16(1–2):29–34.
6. Superina R, Magee JC, Brandt ML, Healey PJ, Tiao G, Ryckman F, et al. The anatomic pattern of biliary atresia identified at time of Kasai hepatoportoenterostomy and early postoperative clearance of jaundice are significant predictors of transplant-free survival. 2012;254(4):577–85.
7. de Vries W, Homan-Van der Veen J, Hulscher JBF, Hoekstra-Weebers JEHM, Houwen RHJ, Verkade HJ. Twenty-year transplant-free survival rate among patients with biliary atresia. Clin Gastroenterol Hepatol [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;9(12):1086–91. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2011.07.024
8. Oh M, Hobeldin M, Chen T, Thomas DW, Atkinson JB. The Kasai procedure in the treatment of biliary atresia. J Pediatr Surg. 1995;30(7):1077–81.
9. Altman RP, Lilly JR, Greenfeld J, Weinberg A, Van Leeuwen K, Flanigan L. A multivariable risk factor analysis of the portoenterostomy (Kasai) procedure for biliary atresia: Twenty-five years of experience from two centers. Ann Surg. 1997;226(3):348–55.
10. Andrade W, Silva M, Tannuri A, Santos M, Gibelli N, Tannuri U. Current management of biliary atresia based on 35 years of experience at a single center. Clinics [Internet]. 2018;73(9):1–5. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6024511/?report=classic
11. Stringer MD, Davison SM, Rajwal SR, McClean P. Kasai portoenterostomy: 12-year experience with a novel adjuvant therapy regimen. J Pediatr Surg. 2007;42(8):1324–8.
12. Neto B, Borges-Dias M, Trindade E, Estevão-Costa J, Campos JM. Biliary Atresia - Clinical Series. GE - Port J Gastroenterol [Internet]. 2018;25(2):68–73. Available from: https://www.karger.com/Article/FullText/480708
13. Jiang H, Gao P, Chen H, Zhong Z, Shu M, Zhang Z, et al. The Prognostic Value of CD8 + and CD45RO + T Cells Infiltration and Beclin1 Expression Levels for Early Postoperative Cholangitis of Biliary Atresia Patients after Kasai Operation. 2018;33(30):1–12.
14. Wu ET, Chen HL, Ni YH, Lee PI, Hsu HY, Lai HS, et al. Bacterial cholangitis in patients with biliary atresia: Impact on short-term outcome. Pediatr Surg Int. 2001;17(5–6):390–5.

15. Lally KP, Kanegaye J, Mastumura M, Rosenthal P, Sinatra F, Atkinson JB. Perioperative factors affecting the outcome following repair of biliary atresia. Pediatrics [Internet]. 1989;83(5):723–6. Available from: http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L19120514%5Cnhttp://vu.on.worldcat.org/atoztitles/link?sid=EMBASE&issn=00314005&id=doi:&atitle=Perioperative+factors+affecting+the+outcome+following+repair+of+biliary+atresia&stitle=PED
16. Isolauri E, Kirjavainen P V., Salminen S. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation? Gut [Internet]. 2002;50 Suppl 3:III54-III59. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1867676&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
17. Lien TH, Bu LN, Wu JF, Chen HL, Chen AC, Lai MW, et al. Use of Lactobacillus casei rhamnosus to Prevent Cholangitis in Biliary Atresia After Kasai Operation. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2015;60(5):654–8.
18. Bezerra JA, Spino C, Magee JC, Shneider BL, Rosenthal P, Wang KS, et al. Use of corticosteroids after hepatoportoenterostomy for bile drainage in infants with biliary atresia the start randomized clinical trial. JAMA - J Am Med Assoc. 2014;311(17):1750–9.
19. 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;46(6):1821–7.
20. Davenport M, Parsons C, Tizzard S, Hadzic N. Steroids in biliary atresia: Single surgeon, single centre, prospective study. J Hepatol [Internet]. European Association for the Study of the Liver; 2013;59(5):1054–8. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.06.012
21. Davenport M. Adjuvant therapy in biliary atresia: hopelessly optimistic or potential for change? Pediatr Surg Int [Internet]. Springer Berlin Heidelberg; 2017;33(12):1263–73. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/s00383-017-4157-5
22. Qiu J, Shao M, Xie W, Li Y, Yang H, Niu M, et al. Effect of combined ursodeoxycholic acid and glucocorticoid on the outcome of Kasai procedure. Open Med. 2018;97(35).
23. Willot S, Uhlen S, Michaud L, Briand G, Bonnevalle M, Sfeir R, et al. Effect of Ursodeoxycholic Acid on Liver Function in Children After Successful Surgery for Biliary Atresia. Pediatrics [Internet]. 2008;122(6):1236–41. Available from: http://pediatrics.aappublications.org/cgi/doi/10.1542/peds.2008-0986
24. Feldman AG, Mack CL. Biliary atresia: Cellular dynamics and immune dysregulation. Semin Pediatr Surg [Internet]. Elsevier Inc.; 2012;21(3):192–200. Available from: http://dx.doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2012.05.003
25. 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.
26. Morillo-Gutierrez B, Waugh S, Pickering A, Flood T, Emonts M. Emerging (val)ganciclovir resistance during treatment of congenital CMV infection: A case report and review of the literature. BMC Pediatr. BMC Pediatrics; 2017;17(1):1–4.
27. Rawlinson WD, Hamilton ST, Van Zuylen WJ. Update on treatment of cytomegalovirus infection in pregnancy and of the newborn with congenital cytomegalovirus. Curr Opin Infect Dis. 2016;29(6):615–24.

28. Zhang R, Lin Z, Lui VC, Wong KK, Tam PK, Lee P, et al. Silver nanoparticle treatment ameliorates biliary atresia syndrome in rhesus rotavirus inoculated mice. Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med [Internet]. Elsevier Inc.; 2017;13(3):1041–50. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2016.11.013
29. Tamura T, Kobayashi H, Yamataka A, Lane GJ, Koga H, Miyano T. Inchin-ko-to prevents medium-term liver fibrosis in postoperative biliary atresia patients. Pediatr Surg Int. 2007;23(4):343–7.