

## Executive Summary

### 1. Elevated serum soluble E-selectin is associated with poor outcome and correlated with serum ALT in biliary atresia

Serum levels of soluble E-selectin were determined from 53 post-operative Biliary atresia (BA) patients and 10 healthy children.

**Results:** Serum E-selectin of BA patients was higher than the controls ( $p=0.01$ ). Further analysis showed that there was an increase in serum E-selectin of BA patients with jaundice compared to those without jaundice ( $p=0.035$ ). Serum E-selectin was positively correlated with serum ALT. **Conclusion:** Serum E-selectin was elevated in BA patients. The elevated serum E-selectin was also associated with poor outcome. Additionally, there was a positive correlation between serum E-selectin and serum ALT. These suggest that E-selectin plays a role in the pathophysiology of liver injury in post-operative BA.

### 2. High-dose steroids do not improve early clinical outcome in biliary atresia

BA patients between 2001 and 2005 were reviewed. The use of steroids for 1 to 3 months has been implemented since 2003.

**Results:** At 6 months post-op, 30 patients (56.6%) were jaundice-free and 24 patients (45.3%) experienced cholangitis at least once. Of the 53 patients, there were 33 patients in steroid group and 20 patients in non-steroid group. The proportion of jaundice-free patients in steroid group was higher than that in non-steroid group, and the proportion of patients with cholangitis in steroid group was lower than that in non-steroid group. However, these discrepancies did not reach a statistically significant difference. **Conclusions:** Although the use of steroids seems to have benefits, it did not statistically improve early outcome in BA patients.

### 3. Serum transforming growth factor- $\beta$ 1 and epidermal growth factor in biliary atresia

Serum levels of TGF- $\beta$ 1 and EGF were determined from 67 BA patients and 10 healthy children. **Results:** Serum TGF- $\beta$ 1 levels of BA patients were higher than the controls ( $P=0.036$ ). However, there was no difference in serum EGF between BA patients and the controls ( $P=0.74$ ). Further analysis showed that patients with good outcome had their serum TGF- $\beta$ 1 and serum EGF levels higher than those of patients with poor outcome. In addition, serum TGF- $\beta$ 1 was positively correlated with serum EGF.

**Conclusions:** The elevated serum TGF- $\beta$ 1 and serum EGF levels were associated with good outcome in BA. These suggest that the resultant actions of TGF- $\beta$ 1 and EGF pathways possibly involve in the pathophysiologic process in post-operative BA.

### 4. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in biliary atresia

Hepatic iNOS expression was determined from liver biopsies of 24 BA patients, and 16 non-BA patients. The iNOS expression was evaluated based on its intensity using ImageJ software. **Results:** Hepatic iNOS expression of BA was significantly stronger than that of non-BA ( $P<0.0001$ ). The largest area of hepatic iNOS expression was the area of hepatocytes. Subgroup analysis of BA patients at 6 months post-op revealed that there was no difference in iNOS expression between the patients with good outcome and those with poor outcome ( $P=0.732$ ). **Conclusions:** Overexpression of hepatic iNOS in BA was demonstrated. Hepatocytes were the major source of hepatic iNOS production. These suggest that iNOS plays a role in the liver pathology of BA but its expression cannot be used as a predictor for therapeutic outcome.

### 5. Non-correctable Biliary Atresia with Large Extrahepatic Cyst: a Report of Two Cases

We report 2 unusual cases of biliary atresia type III with cystic structure that is possibly mistaken as a correctable biliary atresia or choledochal cyst.

### 6. Hepatic Expression of hepatocyte growth factor and its receptor in biliary atresia

Hepatic HGF and C-met expression were studied from liver biopsies of 41 BA patients at the time of Kasai operation, and 17 non-cholestatic pediatric patients. The HGF and C-met expression of hepatocyte areas was scored as per its intensity and percentage of stained area. **Results:** Hepatic HGF and C-met staining scores of BA patients were higher than those of non-cholestatic patients ( $P<0.0001$ ). Analysis of BA patients at 6 months post-Kasai revealed that there was no difference in either hepatic HGF or C-met expression at the time of surgery between the patients with good outcome and those with poor outcome. **Conclusions:** Strong expression of hepatic HGF and its receptor in BA patients was demonstrated. However, the expression was not associated with the early therapeutic outcome. These suggest that resultant actions of HGF involve in the liver pathology of BA but its expression cannot be used as a predictor for therapeutic outcome.

## รายงานสรุปย่อ

### ๑. ระดับซีรัม E-selectin ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ไม่ดีและแปรผันกับระดับซีรัม ALT ในโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน

เป็นการศึกษาระดับซีรัมของ E-selectin โดยใช้หลักการ ELISA ในผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน 53 ราย โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 10 คน ผลการศึกษาพบว่า ระดับของซีรัม E-selectin ในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันสูงกว่ากลุ่มควบคุม การวิเคราะห์เพิ่มเติมพบว่า ระดับซีรัม E-selectin ในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันที่มีผลการรักษาที่ไม่ดีจะสูงกว่า ผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันที่มีผลการรักษาที่ดี นอกจากนี้ระดับซีรัม E-selectin ยังแปรผันตรงกับระดับซีรัม ALT สรุป ระดับซีรัม E-selectin ที่สูงในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันมีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ไม่ดี ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า E-selectin น่าจะมีบทบาทในพยาธิสรีรวิทยาของโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน

### ๒. การใช้ยาสเตียรอยด์ระดับสูงไม่ทำให้ผลการรักษาโรคทางเดินน้ำดีตีบตันดีขึ้น

เป็นการศึกษาผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันจำนวน 53 คน มีผู้ป่วยที่ได้รับยาสเตียรอยด์ระดับสูง 33 คน และไม่ได้รับยาสเตียรอยด์ 20 คน ผลการศึกษาพบว่า สัดส่วนผู้ป่วยที่มีผลการรักษาดีในกลุ่มที่ได้รับยาสเตียรอยด์ (60%) มีมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยาสเตียรอยด์ (50%) แต่สัดส่วนความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) สรุป การใช้ยาสเตียรอยด์ระดับสูงไม่ทำให้ผลการรักษาโรคทางเดินน้ำดีตีบตันดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### ๓. ระดับซีรัม transforming growth factor-beta1 และ epidermal growth factor ในโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน

เป็นการศึกษาว่าระดับของ TGF- $\beta$ 1 และ EGF ในซีรัมในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันจำนวน 67 รายและเด็กปกติทั่วไปจำนวน 10 ราย ผลการศึกษาพบว่าระดับของซีรัม TGF- $\beta$ 1 ในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม ( $p = 0.0362$ ) อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างกันของระดับของซีรัม EGF ระหว่างผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันและกลุ่มควบคุม ( $p = 0.744$ ) นอกจากนี้ผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันที่มีผลการรักษาดีจะมีระดับของซีรัม TGF- $\beta$ 1 และ EGF สูงกว่าผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันที่มีผลการรักษาที่ไม่ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ TGF- $\beta$ 1 และ EGF ในซีรัม (Pearson's  $r = 0.3418$ ,  $p = 0.0046$ ) สรุป ระดับของ TGF- $\beta$ 1 และ EGF ในซีรัมของผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันที่สูงขึ้น มีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ดี ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าผลของ TGF- $\beta$ 1 และ EGF น่าจะเกี่ยวข้องกับ พยาธิสรีรวิทยาของโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน

### ๔. การแสดงออกของเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ของตับในโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน

ศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ iNOS ของตับอาศัยเทคนิค Immunohistochemistry โดยศึกษาชิ้นเนื้อตับของผู้ป่วยทางเดินน้ำดี 24 คน และกลุ่มควบคุม 16 คน ผลการศึกษาพบว่าระดับการแสดงออกของเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase ของตับในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.0001$ ) การวิเคราะห์เพิ่มเติมพบว่าระดับการแสดงออกของเอนไซม์ iNOS ของตับไม่มี ความสัมพันธ์กับผลการรักษาในผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตันเมื่อ 6 เดือนหลังผ่าตัด ( $p = 0.732$ ) สรุป ระดับการแสดงออกของเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase ของตับในผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตันสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่สัมพันธ์กับผลการรักษา แสดงให้เห็นว่า iNOS มีบทบาทต่อพยาธิสภาพของตับในผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน แต่ระดับการแสดงออกของเอนไซม์ iNOS ของตับไม่สามารถนำมาใช้เพื่อการพยากรณ์โรคได้

### ๕. การรายงานผู้ป่วย 2 รายที่เป็นโรคทางเดินน้ำดีตีบตันแบบที่มีถุงน้ำขนาดใหญ่นอกตับ

ผู้วิจัยได้ทำการรักษาและรายงานผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตันชนิดที่พบยากคือ ชนิดที่มีถุงน้ำขนาดใหญ่นอกตับร่วมด้วย ซึ่งอาจจะทำให้แพทย์ผู้ทำการรักษา เข้าใจผิดว่าเป็น โรคทางเดินน้ำดีโป่งพองแต่กำเนิดซึ่งมีการรักษาที่ต่างกัน

### ๖. การแสดงออกของ เฮปาทอไซโทโทรฟิเคเตอร์และตัวรับ C-met ในตับโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน

เป็นการศึกษาการแสดงออกของ เฮปาทอไซโทโทรฟิเคเตอร์และตัวรับ C-met ของตับอาศัยเทคนิค Immunohistochemistry โดยศึกษาชิ้นเนื้อตับของผู้ป่วยทางเดินน้ำดี 41 คน และกลุ่มควบคุม 17 คน โดยผลการศึกษาพบว่าระดับการแสดงออกของ เฮปาทอไซโทโทรฟิเคเตอร์และตัวรับ C-met ของตับในผู้ป่วยทางเดินน้ำดีตีบตันสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.0001$ ) การวิเคราะห์เพิ่มเติมพบว่า การแสดงออกของ เฮปาทอไซโทโทรฟิเคเตอร์และตัวรับ C-met ของตับไม่มีความสัมพันธ์กับผลการรักษาในผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตันเมื่อ 6 เดือนหลังผ่าตัด โดยสรุป ระดับการแสดงออกของ เฮปาทอไซโทโทรฟิเคเตอร์และตัวรับ C-met ของตับในผู้ป่วยโรคทางเดินน้ำดีตีบตันสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่สัมพันธ์กับผลการรักษา