

Pierwotna marskość żółciowa – dylematy etiopatogenetyczne

Primary biliary cirrhosis – etiopathogenetic dilemmas

Krzysztof Gutkowski, Marek Hartleb

Katedra i Klinika Gastroenterologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Przegląd Gastroenterologiczny 2008; 3 (3): 125–130

Słowa kluczowe: pierwotna marskość żółciowa wątroby, etiopatogeneza, mimikra molekularna, autoimmunizacja.

Key words: primary biliary cirrhosis, etiopathogenesis, molecular mimicry, autoimmunization.

Adres do korespondencji: dr n. med. Krzysztof Gutkowski, Klinika Gastroenterologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, e-mail: kgutski@intertele.pl

Streszczenie

Pierwotna marskość żółciowa (PBC) jest przewlekłym schorzeniem wątroby o nie do końca ustalonej etiologii, charakteryzującym się uszkodzeniem międzyptacikowych przewodów żółciowych przez autoreaktywne limfocyty T. Obecnie uważa się, że rozwój PBC jest wynikiem współdziałania czynników środowiskowych i genetycznych. Pierwotne uszkodzenie nabłonka przewodów żółciowych może zostać wywołane czynnikiem infekcyjnym, chemicznym bądź toksycznym. Zjawisko to u osób podatnych genetycznie może prowadzić do medowanej przez limfocyty T reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciwko komórkom tego nabłonka. Reakcja niszczenia przewodów żółciowych przyjmuje w PBC charakter ciągły i w konsekwencji prowadzi do przewlekłej cholestazy, włóknienia i marskości wątroby. W pracy przedstawiono aktualne poglądy na etiopatogenezę PBC.

Wprowadzenie

Pierwotna marskość żółciowa wątroby (ang. *primary biliary cirrhosis* – PBC) jest przewlekłym, autoimmunologicznym schorzeniem wątroby charakteryzującym się postępującym niszczeniem międzyptacikowych przewodów żółciowych. Końcowym efektem jest zanik przewodów żółciowych, którego konsekwencją są żółtaczka, marskość i niewydolność wątroby [1, 2]. Mimo upływu ponad 150 lat od pierwszego opisu 6 chorych na PBC, etiopatogeneza tego schorzenia nie została do końca wyjaśniona i obecnie opiera się na kilku hipotezach o różnym poziomie wiarygodności. W świetle aktualnego stanu wiedzy wydaje się, że PBC jest schorzeniem wieloetiologicznym. Potencjalne czynniki odpowiedzialne za rozwój choroby uwzględniają:

Abstract

Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic liver disease characterized by an autoreactive T-lymphocyte mediated injury of interlobular bile ducts. However, the pathogenesis of this disease is not completely understood. In the light of current knowledge the development of PBC seems to be a result of environmental or genetic factors. Primary bile duct injury may be caused by infective, chemical or toxic factors. In genetically susceptible individuals this injury may lead to a T-cell mediated autoimmune response directed against bile duct epithelial cells. When immune mediated bile duct injury has been initiated, the disease leads to chronic cholestasis, fibrosis and hepatic cirrhosis. In this paper we discuss recent views on etiopathogenesis of PBC.

- czynniki środowiskowe,
- czynniki genetyczne,
- drobnoustroje i związki chemiczne warunkujące zjawisko mimikry molekularnej,
- przeciwciała przeciwmitochondrialne i autoreaktywne limfocyty T,
- kwasy żółciowe,
- płęć żeńską i mikrochimeryzm płodowy.

W niniejszej pracy dokonano przeglądu wiedzy na temat mechanizmów etiopatogenetycznych leżących u podstaw rozwoju PBC oraz przybliżono najbardziej istotne nurty badań klinicznych i eksperymentalnych.

Czynniki środowiskowe

Hipoteza o roli czynników środowiskowych w rozwoju PBC znajduje potwierdzenie w wielu badaniach epide-

miologicznych. Kingham i Parker [3] wykazali, że roczna zapadalność na PBC wśród mieszkańców południowej Walii i północno-wschodniej Anglii wynosi 200–251/mln mieszkańców. W analogicznych badaniach epidemiologicznych przeprowadzonych przez Witt-Sulivana i wsp. [4] w Kanadzie oraz przez Watsona i wsp. [5] w Australii wykazano, że wskaźnik zapadalności na PBC w tych krajach jest znacznie niższy (<25/mln/rok). Najniższą zapadalność na PBC stwierdzono w krajach Afryki i Indiach (ok. 1/mln/rok). Z badania Prince'a i wsp. [6], obejmującego ponad 3 tys. miejscowości północnej Anglii, wynika, że w miastach odnotowuje się większą zapadalność na PBC niż w przylegających do nich ośrodkach wiejskich. Zatem czynniki warunkujące wyższy poziom rozwoju cywilizacyjnego mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju PBC. Wydaje się, że kolejne badania epidemiologiczne powinny skupić się nie tylko na określeniu wskaźnika zapadalności na PBC, lecz także na próbie identyfikacji czynników środowiskowych mających związek z etiopatogenezą tego schorzenia.

Czynniki genetyczne

Szacuje się, że w rodzinach, w których jeden z członków choruje na PBC, ryzyko zachorowania przez krewnych jest ponad 1000-krotnie wyższe w porównaniu z populacją ogólną [7]. Podwyższone ryzyko zachorowania dotyczy najbliższych krewnych, czyli braci, sióstr, rodziców i dzieci [8–10]. Nie znaleziono dotychczas żadnej mutacji genetycznej związanej ze zwiększonym ryzykiem rozwoju PBC. W niektórych badaniach wykazano słaby związek ryzyka zapadalności na PBC z haplotypem HLA-DR8 [11, 12] oraz genem HLA-DPB1 [13, 14].

U zdrowych krewnych pacjentów z PBC stwierdza się częściej niż w ogólnej populacji nieprawidłowości w zakresie immunoregulacji limfocytów T. Nie odnotowuje się jednak u nich częstszego występowania przeciwciał przeciwmitochondrialnych (ang. *antimitochondrial antibodies* – AMA), które uznaje się za wyznacznik serologiczny PBC [15].

Drobnoustroje i związki chemiczne (zjawisko mimikry molekularnej)

Zjawisko mimikry molekularnej polega na strukturalnym podobieństwie determinantów antygenowych czynnika sprawczego (drobnoustrój, ksenobiotyki) do epitopów niektórych białek gospodarza. Podobieństwo to inicjuje immunologiczną reakcję krzyżową, w wyniku której dochodzi do niszczenia zarówno czynnika sprawczego, jak i komórek własnych organizmu mających podobne epitopy. Mechanizm mimikry molekularnej jest powszechnie uważany za wstęp do wielu procesów autoimmunizacyjnych, w tym także PBC [16].

Podjeżdza się, że powstawanie AMA może być wynikiem kontaktu z czynnikami infekcyjnymi. Powyższą tezę potwierdzają badania Kikuchi i wsp. [17], którzy inkubowali jednojądrzaste komórki krwi obwodowej pacjentów z PBC z krótkimi niebiałkowymi sekwencjami CpG-DNA (niemetylowane motywy cytozyna-fosforan-guanina – CpG), powszechnie obecnymi w komórkach różnych bakterii. W porównaniu ze zdrową grupą kontrolną badacze stwierdzili znamienne wzrost liczby aktywowanych limfocytów B w hodowlach komórkowych pochodzących od chorych na PBC. Ponadto aktywowane limfocyty B produkowały znacznie więcej immunoglobulin klasy M. Obserwacje te wskazują, że układ immunologiczny chorych na PBC reaguje w sposób hiperergiczny na infekcje bakteryjne – nadmierną aktywacją limfocytów B i nadprodukcją przeciwciał klasy IgM. Są to objawy immunologiczne wczesnego stadium PBC.

Koncepcję roli mimikry molekularnej jako mechanizmu leżącego u podstaw patogenezy PBC potwierdzają badania Abdulkarima i wsp. [18], którzy w badaniu pilotażowym wykazali u 39 chorych na PBC obecność antygeny *Chlamydia pneumoniae* w materiale biopsyjnym wątroby. Niestety, zastosowanie tetracyklin – antybiotyku hamującego rozwój tej bakterii – nie miało wpływu na wyniki badań laboratoryjnych czy przebieg kliniczny PBC.

Selmi i wsp. [19] zwrócili uwagę na potencjalną rolę w patogenezie PBC innego drobnoustroju – *Novosphingobium aromaticivorans*. Ta powszechnie występująca Gram-ujemna laseczka metabolizuje różne związki organiczne oraz estrogeny. Dwa białka strukturalne *Novosphingobium aromaticivorans* wykazują homologię z podjednostką E2 ludzkiej *dehydrogenazy pirogronianowej* (PDC-E2) – głównego epitopu rozpoznawanego przez AMA. Autorzy objęli badaniem 77 chorych na PBC i 195 zdrowych ochotników, których surowice poddano badaniom na obecność przeciwciał skierowanych przeciw antygenom *Novosphingobium aromaticivorans*. Obecność wysokich mian przeciwciał stwierdzono wyłącznie w surowicach chorych na PBC (u wszystkich 77 osób). Określenie przydatności klinicznej tej obserwacji wymaga dalszych badań.

Badania ostatnich kilku lat wskazują na *Escherichia coli* jako drobnoustrój o potencjalnym znaczeniu patogennym [20–22]. Teza ta wynika z faktu, że przeciwciała reagujące z mitochondrialnym kompleksem ludzkiej *dehydrogenazy pirogronianowej* wykazują reakcję krzyżową z kompleksem bakteryjnej izoformy tego enzymu. Ponadto u wielu chorych na PBC potwierdzono zwiększoną częstość występowania infekcji dróg moczowych lub bezobjawowej bakteriurii *E. coli*. Hipotezę o istotnej roli tej bakterii osłabia jednak fakt, że miano AMA przeciwko kompleksowi bakteryjnej *dehydrogenazy pirogro-*

nianowej jest znacznie niższe niż miano tych przeciwciał przeciwko enzymatycznemu kompleksowi ludzkiemu. Poza tym przeciwciała przeciwko PDC-E2 *E. coli* występują znacznie częściej u chorych z zaawansowanymi niż wczesnymi postaciami PBC.

Ekspozycja na niektóre związki chemiczne może indukować przeciwciała wykazujące wysokie powinowactwo do kompleksu ludzkiej *dehydrogenazy pirogronianowej*. Dotyczy to zwłaszcza halogenowych pochodnych wodorowęglanów [23]. W modelu zwierzęcym wykazano, że ester bromoheksanonu indukuje AMA, których miana są tak wysokie jak u chorych na PBC [24, 25]. W jednym badaniu zwrócono uwagę na zwiększoną zapadalność na PBC osób zamieszkujących obszar sąsiadujący ze składem odpadów toksycznych [26].

W kilku pracach podnosi się znaczenie kwasu 2-oktynowego – składnika powszechnie dodawanego do różnych kosmetyków (szminki, perfumy). Kwas ten wykazuje homologiczną budowę z fragmentem kompleksu ludzkiej PDC-E2. Znacznie częstsze stosowanie kosmetyków przez kobiety może tłumaczyć ich zdecydowanie wyższą zapadalność na PBC [27, 28].

Przeciwciała przeciwmitchondrialne i autoreaktywne limfocyty T

Przeciwciała przeciwmitchondrialne (AMA) są serologicznym wykładnikiem PBC. Obecnie znane są 4 główne autoantygeny będące celem ataku tych przeciwciał (podtyp M2). Są nimi:

- 1) podjednostka E2 kompleksu *dehydrogenazy pirogronianowej*,
- 2) kompleks *dehydrogenazy α-ketokwasów* o rozgałęzionych łańcuchach,
- 3) kompleks *dehydrogenazy ketoglutaranowej*,
- 4) białko wiążące *dehydrogenazę hydrolipoamidową*.

Każdy z tych autoantygenów bierze udział w procesie fosforylacji oksydacyjnej, która zachodzi w błonie wewnętrznej mitochondriów. Większość przeciwciał AMA jest skierowana przeciwko *acetylotransferazie dihydrolipoamidowej* (podjednostka E2) *dehydrogenazy pirogronianowej* [29, 30]. Opisywane wcześniej podtypy przeciwciał anty-M4, anty-M8 i anty-M9 uznaje się obecnie za artefakty, które powstają w wyniku kontaktu z odczynnikami chemicznymi używanymi do wykrywania AMA [31, 32]. Poza AMA antygeny PDC-E2 są także rozpoznawane przez większość autoreaktywnych limfocytów B i T wyizolowanych z krwi chorych na PBC.

Obecność AMA stwierdza się u 95% chorych na PBC [33]. Poza wartością diagnostyczną użyteczność kliniczna tych przeciwciał jest niewielka. Wykazano bowiem, że ich miano nie koreluje z ciężkością PBC czy ze skłonnością do progresji choroby [2, 34]. Nie odnotowano również istotnych różnic w odpowiedzi na leczenie kwa-

sem ursodeoksycholowym (UDCA) u chorych z obecnością i nieobecnością AMA [35, 36].

W wątrobowych przestrzeniach wrotnych u chorych na PBC stwierdza się nacieki zapalne złożone z limfocytów cytotoksycznych CD8⁺ i pomocniczych CD4⁺, które gromadzą się w sąsiedztwie uszkodzonych przewodów żółciowych [37–39]. Wśród limfocytów izolowanych z wątroby i przywnekowych węzłów chłonnych odnotowuje się 100–150 razy większą liczbę limfocytów wykazujących powinowactwo do PDC-E2 niż wśród komórek pozyskanych z krwi obwodowej. Fakt ten przemawia za aktywną koncentracją wątrobową autoreaktywnych limfocytów u chorych na PBC [40].

Epitopem rozpoznawanym przez limfocyty pomocnicze CD4⁺ w kontekście cząsteczek MHC (ang. *major histocompatibility complex*) klasy II jest 13-aminokwasowa sekwencja znajdująca się między 163. a 176. aminokwasem łańcucha PDC-E2 [41, 42]. Zidentyfikowano również cel ataku immunologicznego limfocytów T-cytotoksycznych o fenotypie CD8⁺, którym jest sekwencja 9 aminokwasów umiejscowionych w pozycjach 159–167 PDC-E2. Substytucja alaniny w pozycji 5 tego epitopu znacznie zmniejsza liczbę cytotoksycznych limfocytów T CD8⁺ rozpoznających PDC-E2 [43]. W wątrobach osób chorych na PBC liczba cytotoksycznych limfocytów T rozpoznających sekwencję 159–167 PDC-E2 jest 10-krotnie wyższa niż w przypadku limfocytów krwi obwodowej [39]. Powyższe dane dowodzą, że nabłonek przewodów żółciowych wykazujący ekspresję PDC-E2 stanowi cel ataku dla limfocytów cytotoksycznych u chorych na PBC. Nadal nie jest jednak wiadomo, dlaczego komórki nabłonkowe przewodów żółciowych u chorych na PBC cechuje wzmożona ekspresja tego epitopu. Jedną z teorii zakłada, że PDC-E2 krąży we krwi w połączeniu z immunoglobuliną klasy A (IgA). Kompleks PDC-E2-IgA może z kolei na drodze transcytozy zostać przemieszczony z części podstawnej do szczytowej cholangiocyta, skąd jest wydzielany do żółci. U chorych na PBC stwierdzono obecność kompleksów PDC-E2-IgA we wnętrzu komórek nabłonka przewodów żółciowych oraz identyczne z surowiczą cząsteczki IgA na powierzchni błon mitochondrialnych [37, 44].

Nie do końca wyjaśnione jest także zjawisko wybiórczego niszczenia komórek nabłonka dróg żółciowych. Wiadomo bowiem, że antygeny mitochondrialne będące celem ataku immunologicznego limfocytów T znajdują się we wszystkich komórkach, a nie tylko w nabłonku dróg żółciowych. Według jednej z teorii komórki nabłonka dróg żółciowych cechuje wyższy potencjał apoptotyczny, będący przyczyną ich wybiórczej destrukcji [45–47]. Inna hipoteza zakłada, że za uruchomienie kaskady zjawisk immunologiczno-destrukcyjnych mogą odpowiadać czynniki toksyczne, infekcyjne bądź kwasy

żółciowe, które odślaniają miejsca antygenowe na powierzchni cholangiocytołów, wraz z ekspresją epitopów homologicznych do tych zdefiniowanych wewnątrz kompleksu PDC-E2 [48, 49].

Interesujący jest także fakt, że we wczesnych stadiach PBC zidentyfikowano na powierzchni komórek nabłonka dróg żółciowych antygen wykazujący podobieństwo molekularne do kilku determinantów antygenowych PDC-E2 [50, 51]. Dowiedziono, że autoantygen ten w połączeniu z cząsteczką MHC klasy II i molekułami kostymulującymi CD80/CD86 może stanowić cel ataku immunologicznego aktywowanych limfocytów cytotoksycznych CD8⁺. Poza tym jego ekspresja może prowokować atak ze strony immunoglobulin klasy A. Wszystkie te cząsteczki są obecne wokół uszkodzonych przewodów żółciowych [51].

Wykazano, że podjednostka E2 *dehydrogenazy pirogronianowej* pojawia się w uszkodzonych przewodach żółciowych zanim molekuly HLA (ang. *human leukocyte antigens*) klasy II i ich kostymulanty CD80/CD86 zapoczątkują reakcję destrukcji immunologicznej. Potwierdza to tezę, że uszkodzenie komórek nabłonka dróg żółciowych przez aktywowane limfocyty cytotoksyczne CD8⁺ poprzedza destrukcja zapoczątkowana przez inne czynniki, np. kwasy żółciowe [49].

Kwasy żółciowe

Po zapoczątkowaniu przez limfocyty T destrukcji przewodów żółciowych, zmiany degeneracyjne i martwicze hepatocytów są nasilane przez gromadzone w ich cytoplazmie cytotoksyczne kwasy żółciowe. Kwas cholowy, chenodeoksycholowy i deoksycholowy są silnymi detergentami i mogą uszkadzać błonę komórkową, o ile występują w odpowiednio dużych stężeniach [52–54]. Konsekwencją ich cytotoksycznych właściwości jest zwyrodnienie piankowate hepatocytów. Podkreślić należy także fakt, że sama cholestaza powoduje wzmożoną ekspresję cząsteczek HLA klasy I na powierzchni hepatocytów, czyniąc je łatwiejszym celem dla aktywowanych limfocytów T. Badania przeprowadzone wśród chorych, a także na materiale zwierzęcym dowodzą, że leczenie UDCA zmniejsza ekspresję cząsteczek HLA klasy I na powierzchni hepatocytów oraz obniża potencjał toksyczny kwasów cholodeoksycholowego i chenodeoksycholowego, co tłumaczy jego korzystny wpływ na przebieg PBC [53, 54].

Płeć żeńska i mikrochimeryzm płodowy

Odpowiedź na pytanie, dlaczego na PBC chorują znacznie częściej kobiety – pozostaje kwestią otwartą. Jedną z teorii zakłada, że przełamanie tolerancji wobec własnych antygenów może wiązać się z brakiem pewnych genów zlokalizowanych na chromosomie X [55]. Wykazano bowiem, że kobiety chorujące na PBC cechują

je znamienne wyższy odsetek monosomii w zakresie chromosomu X w porównaniu z kobietami zdrowymi bądź chorującymi na wirusowe zapalenie wątroby typu C [56]. Dla definitywnego potwierdzenia słuszności tej teorii niezbędne są dalsze badania.

Teoria mikrochimeryzmu płodowego zakłada, że obecne w krwiobiegu matki komórki płodu zapoczątkowują procesy autoimmunizacji w PBC. Kilka badań usiłujących potwierdzić słuszność tej teorii dostarczyło rozbieżnych danych [57–59].

Piśmiennictwo

1. Jones DE. Pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 39: 639-48.
2. Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 335: 1570-80.
3. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ i wsp. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: A controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology* 2005; 42: 1194-202.
4. Witt-Sullivan H, Heathcote J, Cauch K i wsp. The demography of primary biliary cirrhosis in Ontario, Canada. *Hepatology* 1990; 12: 98-105.
5. Watson RG, Angus PW, Dewar M i wsp. Low prevalence of primary biliary cirrhosis in Victoria, Australia. *Melbourne Liver Group. Gut* 1995; 36: 927-30.
6. Prince MI, Chetwynd A, Diggle P i wsp. The geographical distribution of primary biliary cirrhosis in a well-defined cohort. *Hepatology* 2001; 34: 1083-8.
7. Bach N, Schaffner F. Familial primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1994; 20: 698-701.
8. Tong MJ, Nies KM, Reynolds TB, Quismorio FP. Immunological studies in familial primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1976; 71: 305-7.
9. James SP, Jones EA, Schafer DF i wsp. Selective immunoglobulin A deficiency associated with primary biliary cirrhosis in a family with liver disease. *Gastroenterology* 1986; 90: 283-8.
10. Galbraith RM, Smith M, Mackenzie RM i wsp. High prevalence of seroimmunologic abnormalities in relatives of patients with active chronic hepatitis or primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1974; 290: 63-9.
11. Gregory WL, Mehal W, Dunn AN i wsp. Primary biliary cirrhosis: contribution of HLA class II allele DR8. *Q J Med* 1993; 86: 393-9.
12. Underhill J, Donaldson P, Bray G i wsp. Susceptibility to primary biliary cirrhosis is associated with the HLA-DR8-DQB1*0402 haplotype. *Hepatology* 1992; 16: 1404-8.
13. Underhill JA, Donaldson PT, Doherty DG i wsp. HLA DPB polymorphism in primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 959-62.
14. Mella JG, Roschmann E, Maier KP, Volk BA. Association of primary biliary cirrhosis with the allele HLA-DPB1*0301 in a German population. *Hepatology* 1995; 21: 398-402.
15. Caldwell SH, Leung PS, Spivey JR i wsp. Antimitochondrial antibodies in kindreds of patients with primary biliary cirrhosis: antimitochondrial antibodies are unique to clinical disease and are absent in asymptomatic family members. *Hepatology* 1992; 16: 899-905.

16. Selmi C, Ross SR, Ansari AA i wsp. Lack of immunological or molecular evidence for a role of mouse mammary tumor retrovirus in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2004; 127: 493-501.
17. Kikuchi K, Lian ZX, Yang GX i wsp. Bacterial CpG induces hyper-IgM production in CD27+ memory B cells in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2005; 128: 304-12.
18. Abdulkarim AS, Petrovic LM, Kim WR i wsp. Primary biliary cirrhosis: an infectious disease caused by Chlamydia pneumoniae? *J Hepatol* 2004; 40: 380-4.
19. Selmi C, Balkwill DL, Invernizzi P i wsp. Patients with primary biliary cirrhosis react against a ubiquitous xenobiotic-metabolizing bacterium. *Hepatology* 2003; 38: 1250-7.
20. Shimoda S, Nakamura M, Shigematsu H i wsp. Mimicry peptides of human PDC-E2 163-176 peptide, the immunodominant T-cell epitope of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2000; 31: 1212-6.
21. Ohno N, Ota Y, Hatakeyama S i wsp. A patient with E. coli-induced pyelonephritis and sepsis who transiently exhibited symptoms associated with primary biliary cirrhosis. *Intern Med* 2003; 42: 1144-8.
22. Bogdanos DP, Baum H, Grasso A i wsp. Microbial mimics are major targets of crossreactivity with human pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2004; 40: 31-9.
23. Long SA, Quan C, Van de Water J i wsp. Immunoreactivity of organic mimeotopes of the E2 component of pyruvate dehydrogenase: connecting xenobiotics with primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 2001; 167: 2956-63.
24. Leung PS, Quan C, Park O i wsp. Immunization with a xenobiotic 6-bromohexanoate bovine serum albumin conjugate induces antimitochondrial antibodies. *J Immunol* 2003; 170: 5326-13.
25. Bruggaber SF, Leung PS, Amano K i wsp. Autoreactivity to lipoate and a conjugated form of lipoate in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2003; 125: 1705-13.
26. Ala A, Stanca CM, Bu-Ghanim M i wsp. Increased prevalence of primary biliary cirrhosis near Superfund toxic waste sites. *Hepatology* 2006; 43: 525-31.
27. Amano K, Leung PS, Rieger R i wsp. Chemical xenobiotics and mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis: identification of antibodies against a common environmental, cosmetic, and food additive, 2-octynoic acid. *J Immunol* 2005; 174: 5874-83.
28. Rieger R, Leung PS, Jeddloh MR i wsp. Identification of 2-nonynoic acid, a cosmetic component, as a potential trigger of primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2006; 27: 7-16.
29. Nishio A, Coppel R, Ishibashi H, Gershwin ME. The pyruvate dehydrogenase complex as a target autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000; 14: 535-47.
30. Shigematsu H, Shimoda S, Nakamura M i wsp. Fine specificity of T cells reactive to human PDC-E2 163-176 peptide, the immunodominant autoantigen in primary biliary cirrhosis: implications for molecular mimicry and cross-recognition among mitochondrial autoantigens. *Hepatology* 2000; 32: 901-9.
31. Palmer JM, Yeaman SJ, Bassendine MF, James OF. M4 and M9 autoantigens in primary biliary cirrhosis – a negative study. *J Hepatol* 1993; 18: 251-4.
32. Davis PA, Leung P, Manns M i wsp. M4 and M9 antibodies in the overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and chronic active hepatitis: epitopes or epiphenomena? *Hepatology* 1992; 16: 1128-36.
33. Miyakawa H, Tanaka A, Kikuchi K i wsp. Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA-negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens. *Hepatology* 2001; 34: 243-8.
34. Van Norstrand MD, Malinchoc M, Lindor KD i wsp. Quantitative measurement of autoantibodies to recombinant mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis: Relationship of levels of autoantibodies to disease progression. *Hepatology* 1997; 25: 6-11.
35. Kim WR, Poterucha JJ, Jorgensen RA i wsp. Does antimitochondrial antibody status affect response to treatment in patients with primary biliary cirrhosis? Outcomes of ursodeoxycholic acid therapy and liver transplantation. *Hepatology* 1997; 26: 22-6.
36. Invernizzi P, Crosignani A, Battezzati PM i wsp. Comparison of the clinical features and clinical course of antimitochondrial antibody-positive and -negative primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1997; 25: 1090-5.
37. Migliaccio C, Van de Water J, Ansari AA i wsp. Heterogeneous response of antimitochondrial autoantibodies and bile duct apical staining monoclonal antibodies to pyruvate dehydrogenase complex E2: The molecule versus the mimic. *Hepatology* 2001; 33: 792-801.
38. Kita H, Naidenko OV, Kronenberg M i wsp. Quantitation and phenotypic analysis of natural killer T cells in primary biliary cirrhosis using a human CD1d tetramer. *Gastroenterology* 2002; 123: 1031-43.
39. Kita H, Matsumura S, He XS i wsp. Quantitative and functional analysis of PDC-E2-specific autoreactive cytotoxic T lymphocytes in primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest* 2002; 109: 1231-40.
40. Shimoda S, Van de Water J, Ansari A i wsp. Identification and precursor frequency analysis of a common T cell epitope motif in mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest* 1998; 102: 1831-40.
41. Van de Water J, Ansari A, Prindiville T i wsp. Heterogeneity of autoreactive T cell clones specific for the E2 component of the pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis. *J Exp Med* 1995; 181: 723-33.
42. Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H i wsp. HLA DRB4 0101-restricted immunodominant T cell autoepitope of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: evidence of molecular mimicry in human autoimmune diseases. *J Exp Med* 1995; 181: 1835-45.
43. Kita H, Matsumura S, He XS i wsp. Analysis of TCR antagonism and molecular mimicry of an HLA-A0201-restricted CTL epitope in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2002; 36: 918-26.
44. Malmborg AC, Shultz DB, Luton F i wsp. Penetration and co-localization in MDCK cell mitochondria of IgA derived from patients with primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 1998; 11: 573-80.
45. Schlaeager R, Haux P, Kattermann R. Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase in cholestasis: Significance of the hepatic bile acid concentration

- for the leakage of alkaline phosphatase from rat liver. *Enzyme* 1982; 28: 3-13.
46. Matsumura S, Kita H, He XS i wsp. Comprehensive mapping of HLA-A0201-restricted CD8 T-cell epitopes on PDC-E2 in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2002; 36: 1125-34.
 47. Amano K, Leung PS, Xu Q i wsp. Xenobiotic-induced loss of tolerance in rabbits to the mitochondrial autoantigen of primary biliary cirrhosis is reversible. *J Immunol* 2004; 172: 6444-52.
 48. Jones DE, Palmer JM, James OF i wsp. T-cell responses to the components of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 995-1002.
 49. Van de Water J, Ansari AA, Surh CD i wsp. Evidence for the targeting by 2-oxo-dehydrogenase enzymes in the T cell response of primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 1991; 146: 89-94.
 50. Van de Water J, Turchany J, Leung PS i wsp. Molecular mimicry in primary biliary cirrhosis. Evidence for biliary epithelial expression of a molecule cross-reactive with pyruvate dehydrogenase complex-E2. *J Clin Invest* 1993; 91: 2653-64.
 51. Tsuneyama K, Van de Water J, Leung PS i wsp. Abnormal expression of the E2 component of the pyruvate dehydrogenase complex in the luminal surface of biliary epithelium occurs before major histocompatibility complex Class II and BB1/B7 expression. *Hepatology* 1995; 21: 1031-7.
 52. Portmann B, Popper H, Neuberger J, Williams R. Sequential and diagnostic features in primary biliary cirrhosis based on serial histologic study in 209 patients. *Gastroenterology* 1985; 88: 1777-90.
 53. Kneppelhout JC, Mulder CJ, van Berge Henegouwen GP i wsp. Ursodeoxycholic acid treatment in primary biliary cirrhosis with the emphasis on late disease. *Neth J Med* 1992; 41: 11-6.
 54. Heuman D, Pandak W, Hylemon P, Vlahcevic A. Conjugates of ursodeoxycholate protect against cytotoxicity of more hydrophobic bile salts: In vitro studies in rat hepatocytes and human erythrocytes. *Hepatology* 1991; 14: 920-6.
 55. Kaplan MM, Bianchi DW. Primary biliary cirrhosis: for want of an X chromosome? *Lancet* 2004; 363: 505-6.
 56. Invernizzi P, Miozzo M, Battezzati PM i wsp. Frequency of monosomy X in women with primary biliary cirrhosis. *Lancet* 2004; 363: 533-5.
 57. Tanaka A, Lindor K, Gish R i wsp. Fetal microchimerism alone does not contribute to the induction of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1999; 30: 833-8.
 58. Corpechot C, Barbu V, Chazouillères O, Poupon R. Fetal microchimerism in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 33: 696-700.
 59. Fanning PA, Jonsson JR, Clouston AD i wsp. Detection of male DNA in the liver of female patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 33: 690-5.