

La cirrosi biliare primitiva: aspetti clinici e diagnostici

N. Bizzaro

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Tolmezzo-Gemona (UD)

Riassunto

La cirrosi biliare primitiva (PBC) è una malattia colestatica cronica del fegato a patogenesi autoimmune. La diagnosi sieroinmunologica di PBC si basa sul rilievo di anticorpi anti-mitocondri ad alto titolo o di anticorpi anti-nucleo PBC-specifici (anti-lamina nucleare e multiple nuclear dots) che possono precedere di molti anni la comparsa dei primi sintomi. L'eziologia è tuttora sconosciuta ma molti fattori ambientali (in particolare batteri e sostanze chimiche) sono stati proposti come causa scatenante la malattia, con meccanismo di *molecular mimicry*, in soggetti geneticamente predisposti. La storia naturale della malattia può variare ampiamente con casi a progressione lenta e altri ad evoluzione molto rapida e mortale. L'unico trattamento efficace si basa sulla somministrazione di acido ursodesossicolico, mentre il trapianto di fegato è l'unica possibilità di intervento negli stadi finali di malattia.

Summary

Primary biliary cirrhosis: clinical and diagnostic features

Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic cholestatic liver disease of unknown etiology for which an autoimmune pathogenesis is supported by clinical and experimental data, including the presence of autoantibodies and autoreactive T cells. In fact, PBC diagnosis is based mainly on the detection of high titer serum anti-mitochondrial antibodies or PBC-specific anti-nuclear antibodies (nuclear lamin and multiple nuclear dots) which can precede the clinical symptoms of the disease by years. Several animal models have been described, while multiple candidates have been proposed to initiate disease in a genetically susceptible host by molecular mimicry. The natural history of the disease may vary widely, ranging from cases with a slow progression of disease over decades to patients having a rapid and fatal course. The only established medical treatment is based on ursodeoxycholic acid while liver transplantation is required in end stages.

Key words: PBC, mitochondrial antibodies, MIT3, gp210, Sp100, multiple nuclear dots.

La cirrosi biliare primitiva (PBC) è una malattia colestatica cronica del fegato a patogenesi autoimmune, nella quale le cellule epiteliali che rivestono i dotti biliari intraepatici di piccola e media dimensione sono danneggiate con meccanismo immunomediato. La progressiva distruzione delle cellule epiteliali biliari conduce infine a fibrosi e cirrosi epatica.

Il termine cirrosi biliare primitiva è stato introdotto nel 1950 da Ahrens che descrisse una rara condizione caratterizzata dalla presenza di un'affezione epatica con colestasi cronica¹.

Una pietra miliare per la definizione della PBC come malattia autoimmune è stata la scoperta della sua associazione specifica con anticorpi anti-mitocondri (AMA), riscontrata in più del 90% dei pazienti. L'autoantigene mitocondriale principale è stato identificato e clonato per la prima volta nel 1987 come la sottounità E2 del complesso piruvato deidrogenasi (PDC-E2)².

Patogenesi

Numerosi fenomeni immunologici sono stati descritti nella PBC tra i quali le anomalie della risposta immune

Tabella I. Segni e sintomi di PBC all'esordio.

	Prevalenza
Facile stancabilità	fino al 80%
Epatomegalia	70%
Prurito	20-60%
Iperpigmentazione	25%
Splenomegalia	15%
Ittero	10%
Dolore addominale	10%
Xantelasma	5-10%

innata e la presenza di cellule B e T autoreattive anti-PDC-E2, suggerendo così l'esistenza di un processo autoimmune generalizzato (sia umorale che cellulare). Benché l'eziologia rimanga sconosciuta, è oramai accettato che la PBC è una malattia autoimmune organo-specifica, nella quale l'esposizione a fattori ambientali (batteri o sostanze chimiche), causa la rottura della tolleranza immunologica verso la PDC³. Ad esempio, è stato dimostrato che l'acido 2-octinoico utilizzato nella preparazione dei rossetti per labbra reagisce con gli anticorpi anti-PDC ed è in grado di stimolare una risposta autoanticorpale anti-PDC in animali da esperimento⁴. L'ipotesi oggi prevalente è dunque che la PBC sia causata da modificazioni post-traslazionali di autoantigeni mitocondriali indotte da sostanze chimiche ambientali, in individui geneticamente predisposti⁵.

Epidemiologia

In seguito alla scoperta degli AMA come marcatore immunologico della malattia, l'uso di questo test diagnostico ha condotto a un cambiamento significativo nell'inquadramento della PBC, che è passata dall'essere considerata una malattia rara associata a ittero e sintomi di insufficienza epatica, a una condizione molto più comune e spesso diagnosticata nelle fasi molto precoci del suo decorso. Infatti, fino al 60% dei pazienti è diagnosticato attualmente in fase asintomatica⁶. La malattia colpisce più frequentemente le donne con un picco di incidenza tra i 40 e i 60 anni⁶, senza differenze di razza ma con una larga variabilità geografica che oscilla da 40 a 400 soggetti per milione nella popolazione generale, essendo più comune in Europa Settentrionale e negli USA⁷.

Sintomi

I segni e i sintomi all'esordio sono illustrati in Tabella I. Dal punto di vista clinico la PBC presenta un quadro evolutivo in tre fasi: a) *fase asintomatica*, in cui la diagnosi viene posta casualmente per il riscontro di un aumento generalmente modesto della fosfatasi alcalina e delle γ GT o per la presenza di AMA; b) *fase sintomatica*, nella quale vi è comparsa di prurito e di astenia ingravescente; pigmentazione cutanea, spider nevi, e lesioni da grattamento possono comparire con la progressione della malattia; c) *fase cirrotica*.

Tabella II. Aspetti biochimici e anticorpali in corso di PBC.

Parametri biochimici	Modificazioni
Fosfatasi alcalina	Aumento significativo nel 100% dei casi
ALT	Moderato aumento (300 U/L)
AST	Lieve aumento (<145 U/L)
γ GT	Marcato aumento
Albumina	Normale o leggermente diminuita negli stadi iniziali; cala progressivamente con il progredire del danno epatico
IgG e IgA	Normali o leggermente aumentate
IgM	Aumentate nel 80-90% dei casi
Crioglobuline	Presenti nel 90% dei casi: IgM (60%), IgG+IgM (25%) e IgA+IgM (5%).
Colesterolo	Da moderato a notevole aumento (fino a 1.800 mg/dL)
Trigliceridi	Moderato aumento nelle fasi avanzate
Bilirubina	Aumento progressivo, prevalentemente di tipo coniugato
Ceruloplasmina	Aumentata nel 90% dei casi
Glicemia	Diminuita negli stadi avanzati
Tempo di protrombina	Da normale a fortemente allungato a seconda del danno epatico
Parametri anticorpali	
AMA	Presenti ad alto titolo in oltre il 90% dei casi
ANA PBC-specifici	Presenti a qualsiasi titolo nel 25-30% dei casi
ASMA	Presenti a basso titolo nel 10-50% dei casi
ASCA	Presenti nel 20% dei casi
Anti-centromero	Presenti nel 15-20% dei casi

Tabella III. Stadi istologici di PBC secondo la classificazione di Ludwig.

I	Infiltrazione linfocitaria estesa intorno alle cellule epiteliali dei dotti biliari nel tratto portale
II	Progressiva perdita della normale struttura dei dotti biliari con interessamento del parenchima circostante
III	Fibrosi
IV	Cirrosi con noduli rigenerativi

Una volta che la malattia è progredita a stadi avanzati, le complicazioni possono essere sia metaboliche, principalmente secondarie a colestasi di lunga durata sia relative alla cirrosi stessa. Quest'ultime includono malassorbimento con steatorrea, osteopenia e, in alcuni casi, osteoporosi franca, ipertensione portale e carcinoma epatocellulare. Infine, la PBC può essere associata in circa il 30% dei casi ad altre malattie autoimmuni come la sindrome di Sjögren, il fenomeno di Raynaud, la sclerosi sistemica e la tiroidite autoimmune⁸.

Aspetti biochimici

Le più importanti alterazioni biochimiche sono riassunte in Tabella II e consistono in un aumento della fosfatasi alcalina e, più moderatamente, di γ GT, transaminasi e bilirubina. La bilirubina, di norma, è coniugata a causa dell'ostruzione biliare postepatica; negli stadi avanzati può essere presente anche una quota di bilirubina non coniugata a causa della sopravvenuta insufficienza epatica. L'albuminemia è in genere normale o leggermente diminuita negli stadi iniziali, ma cala progressivamente con il progredire del danno epatico. La ceruloplasmina è sempre aumentata e riflette l'aumento dei depositi di rame intraepatici. I lipidi plasmatici (colesterolo, HDL e trigliceridi) sono tutti aumentati. L'ipergammaglobulinemia dovuta principalmente all'aumento delle IgM è presente, in grado variabile, nella totalità dei casi.

Aspetti istologici

Dal punto di vista istologico la PBC è caratterizzata da flogosi portale e progressiva distruzione dei dotti biliari intraepatici di piccolo e medio calibro. La stadiazione istologica viene fatta in base alla classificazione di Ludwig⁹ in 4 stadi (Tab. III).

Anticorpi anti-mitocondri

Gli AMA ad alto titolo sono il marcatore immunosierologico più sensibile e più specifico di PBC, essendo riscontrabili nel 90-95% dei pazienti con una specificità vicina al 100%.

Gli AMA rappresentano un gruppo eterogeneo di autoanticorpi diretti contro antigeni localizzati sulla membrana mitocondriale. In base alla loro struttura immunochimica, tali antigeni sono stati classificati in

diversi tipi indicati con le sigle da M1 a M10^{10,11}. Solo gli anticorpi anti-M2 (specificità per piruvato-deidrogenasi), anti-M4 (anti-solfito-ossidasi), anti-M8 e anti-M9 (ambedue rivolti verso la glicogeno-fosforilasi) sono però specifici per PBC e, tra questi, solo gli anti-M2 hanno rilevanza diagnostica essendo presenti ad alto titolo in quasi tutti i pazienti, mentre gli altri tre possono essere a basso titolo e comunque non sono mai presenti isolatamente ma sempre associati agli anti-M2^{12,13}. L'antigene M2 consta in realtà di 4 diversi autoantigeni che fanno parte del complesso strutturale dell'enzima piruvato deidrogenasi¹⁴, a cui corrispondono 4 differenti tipi anticorpali non cross-reagenti. Gli anticorpi rinvenibili con maggior frequenza sono quelli diretti contro la componente E2 (2-oxo-acido-deidrogenasi)¹⁵; gli altri sono rinvenibili con frequenza minore e di norma si trovano associati agli anti-E2¹³.

Gli AMA sono rilevabili con il metodo di immunofluorescenza indiretta (IFI) su sezioni di fegato/rene di topo e su linee cellulari HEp-2. Oltre all'IFI, gli AMA con specificità anti-M2 possono essere rilevati con metodi di blot o immunoenzimatici (ELISA). L'indagine in IFI, rispetto alle altre metodiche, è tuttavia dotata di maggior sensibilità nello screening, essendo in grado di rilevare la presenza di tutti gli anticorpi anti-M2. Su rene di ratto, gli anticorpi anti-M2 sono responsabili di una fluorescenza citoplasmatica di aspetto granulare interessante tutte le cellule tubulari ma più intensa a livello dell'epitelio dei tubuli renali distali (più piccoli e di forma regolare rispetto a quelli prossimali). Si considerano significativi solo titoli uguali o superiori a 1:40¹³. Il titolo degli AMA non correla con la gravità della malattia né con la sua tendenza evolutiva, per cui il monitoraggio in IFI nei soggetti con PBC non è ritenuto né utile né necessario¹³.

Sulle sezioni di stomaco, in presenza di anticorpi anti-M2 si osserva un quadro di fluorescenza diffusa interessante sia le cellule parietali che quelle principali, che non va perciò confusa con quella prodotta dagli anticorpi anti-cellule parietali gastriche che, per l'appunto, reagiscono solo con le cellule parietali.

La maggior parte degli anticorpi anti-M2 appartiene alla classe IgG con una caratteristica restrizione per le IgG₃¹⁶ ma vi è un 13-20% di casi in cui essi sono esclusivamente di classe IgM¹⁶. Nella ricerca degli AMA è perciò opportuno utilizzare coniugati anti-IgG e IgM per ottenere una migliore sensibilità diagnostica. Anticorpi anti-mitocondri sono evidenziabili in IFI anche su cellule HEp-2, dove producono un quadro di fluorescenza citoplasmatica di aspetto grossolanamente granulare, con rinforzo alla periferia del nucleo, e su retina di diverse specie animali, dove appaiono intensamente fluorescenti le cellule dei coni e bastoncelli che contengono quasi esclusivamente organelli mitocondriali.

Diversi studi hanno dimostrato che gli AMA possono comparire durante la fase asintomatica di malattia e prima che vi siano segni biochimici di danno epatico¹⁷⁻¹⁹.

Tabella IV. Sensibilità e specificità degli anticorpi PBC-associati e dei metodi analitici impiegati per la loro rilevazione. Risultati preliminari del Gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIMeL su 243 pazienti con PBC e 106 soggetti con altre malattie epatiche.

Anticorpo	Metodo	Sensibilità %	Specificità %
AMA	IFI rene	63	98
MIT3	ELISA	71	98
gp210 (AMA negativi)	ELISA	11	98
Sp100 (AMA negativi)	ELISA	12	96

I dati vanno considerati solo ai fini di una valutazione comparativa delle performances dei diversi test e metodi, perché per gli scopi dello studio la casistica selezionata include un elevato numero di soggetti con PBC AMA-negativi.

In particolare, è stato evidenziato che praticamente tutti i soggetti in cui si riscontra la positività degli AMA, anche in assenza di alterazioni biochimiche, hanno già lesioni istologiche compatibili con PBC o svilupperanno un quadro clinico di PBC negli anni a seguire^{18,20}.

Né la concentrazione né l'isotipo degli AMA si associano alla gravità di malattia o predicono il decorso di malattia²¹.

Mentre nella PBC gli AMA sono sempre ad alto titolo, a basso titolo (1:20-1:40) possono essere riscontrati nel 30% circa dei soggetti con epatite cronica attiva²² e, occasionalmente, nelle epatiti da farmaci (alotano, clorpromazina, sulfonamide)²³.

Anticorpi anti-gp210 e anti-Sp100

Oltre agli AMA, il 30% circa dei casi di PBC è caratterizzato dalla presenza di autoanticorpi estremamente specifici rivolti verso antigeni nucleari evidenziabili in IFI con i pattern lamina nucleare (prodotto da anticorpi diretti contro le proteine gp210 e nucleoporina p62) e *multiple nuclear dots* (con specificità per le proteine Sp100 e PMI)^{24,25} che si associano ad un peggior decorso clinico²⁶.

Recentemente, il gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIMeL ha condotto uno studio su 243 pazienti con diagnosi clinica e istologica di PBC e su 106 soggetti con altre malattie epatiche (manoscritto in preparazione) per verificare l'accuratezza diagnostica degli anticorpi anti-gp210, anti-Sp100 e anti-MIT3 (antigene mitocondriale ricombinante con epitopi immunodominanti dell'antigene naturale M2), misurati con metodo ELISA.

I risultati preliminari (Tab. IV) indicano che: a) la sensibilità diagnostica degli anticorpi anti-MIT3 determinati in ELISA è superiore a quella degli AMA con metodo IFI su tessuto renale (71% vs 63%) e che la specificità è uguale (98%); b) esiste una quota di pazienti con PBC AMA negativi in IFI e MIT3 negativi in ELISA, che è positiva solo per gp210 o per Sp100.

Ciò implica che il test ELISA con antigene ricombinante MIT3 può essere impiegato al posto del tessuto murino in IFI e che la ricerca degli anticorpi anti-antigeni gp210 e Sp100 è in grado di aumentare significa-

tivamente la sensibilità diagnostica dei test immunologici per la diagnosi (anche precoce) di PBC.

Criteri diagnostici

La diagnosi di PBC si basa sulla presenza di almeno due dei tre criteri illustrati in Tabella V. La diagnosi è di PBC definita quando tutti i tre criteri sono soddisfatti, mentre il termine di PBC probabile è utilizzato quando sono soddisfatti solo due criteri²⁷.

La diagnosi differenziale si pone con tutte le malattie caratterizzate da segni di colestasi intraepatica e in particolare con tutte quelle forme caratterizzate da prurito e da incremento della fosfatasi alcalina, quali le neoplasie primitive e secondarie del fegato, le metastasi ossee, la malattia di Paget. Un'altra condizione che richiede una diagnosi differenziale con la PBC è la colangite sclerosante primaria, nella quale tuttavia gli AMA sono sempre negativi.

Decorso clinico e prognosi

Il decorso clinico e l'evoluzione della PBC sono molto variabili, con casi a progressione lenta della durata di decenni, e casi che hanno un decorso rapido e molto grave.

Circa il 30% dei casi mostra completa risposta biochimica al trattamento con acido ursodesossicolico^{28,29} e un ritardo della progressione istologica³⁰. Tuttavia, i pazienti sintomatici, quelli con malattia avanzata alla diagnosi e i pazienti che non rispondono al trattamento, hanno un rischio più elevato di morte o necessità di ricorrere al trapianto di fegato³¹.

La presenza di ascite, i livelli di bilirubina e di albu-

Tabella V. Criteri diagnostici per PBC. La diagnosi è di PBC definita quando sono presenti tre criteri e di PBC probabile quando sono presenti due criteri.

1. Aumento persistente (> 6 mesi) della fosfatasi alcalina sierica, superiore a 1.5 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento
2. AMA >1:40
3. Quadro istologico compatibile con PBC

mina e il tempo di protrombina sono i parametri più utilizzati nella pratica clinica per predire la sopravvivenza dei pazienti³² anche se sono utili solo negli stadi avanzati di malattia. Non esiste invece una stretta correlazione tra lo stadio istologico e la prognosi; pazienti con reperti biotipici riferibili al terzo stadio di malattia possono infatti ancora essere asintomatici. Più recentemente è stato suggerito che la presenza nelle fasi iniziali di PBC di anticorpi anti-gp210 e anti-Sp100 in forma isolata o associata agli AMA, correli con una prognosi peggiore^{26,33}. Un'aumentata incidenza di carcinomi epatici ed extraepatici nei pazienti con PBC è stata anch'essa recentemente dimostrata³⁴.

Bibliografia

- Ahrens EH, Payne MA, Kunkel HG, Eisenmenger WJ, Blondheim SH. Primary biliary cirrhosis. *Medicine (Baltimore)* 1950; 29:299-364.
- Gershwin ME, Mackay IR, Sturgess A, Coppel RL. Identification and specificity of a cDNA encoding the 70 kd mitochondrial antigen recognized in primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 1987; 138:3525-31.
- Giorgini A, Selmi C, Invernizzi P, Podda M, Zuin M, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis: solving the enigma. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1051:185-93.
- Long SA, Quan C, van de Water J, Nantz MH, Kurth MJ, Barsky D, et al. Immunoreactivity of organic mimeotopes of the E2 components of pyruvate dehydrogenase: connecting xenobiotics with primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 2001; 167:2956-63.
- Gershwin ME, Mackay IR. The causes of primary biliary cirrhosis: convenient and inconvenient truths. *Hepatology* 2008; 47:737-45.
- Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005; 353:1261-73.
- Selmi C, Invernizzi P, Zuin M, Podda M, Gershwin ME. Genetics and geoepidemiology of primary biliary cirrhosis: following the footprints to disease etiology. *Semin Liver Dis* 2005; 25:265-80.
- Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al; USA PBC Epidemiology Group. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology* 2005; 42:1194-202.
- Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS. Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis). *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1978; 379:103-12.
- Berg PA, Klein R, Lindenborn-Fotinos J. Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1986; 2:123-31.
- Homborg JC, Johanet C, Dubel L. Autoantibodies in hepatology. In: Conrad K, Humbel RL, Meurer M, Shoenfeld Y, Tan EM, eds. *Pathogenic and diagnostic relevance of autoantibodies*. Dresden: Pabst; 1998. p. 242-63.
- Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S. Serologic tests in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1965; 1:827-31.
- Mackay IR, Gershwin ME. The autoantibodies of primary biliary cirrhosis: clinicopathological correlations. In: van Venrooij WJ and Maini RN, eds. *Manual of biological markers of disease*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1996. C8.1:1-18.
- Bassendine MF, Fussey SPM, Mutimer DJ, James PFW, Yeaman SJ. Identification and characterization of four M2 mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Sem Liver Dis* 1989; 9:124-31.
- Surh CD, Danner D, Ahmed A, Coppel RL, Mackay IR, Dickson R, et al. Reactivity of primary biliary cirrhosis sera with a human fetal liver cDNA clone of branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase dihydrolipoamide acyltransferase, the 52 kD mitochondrial antigen. *Hepatology* 1989; 9:63-8.
- Surh CD, Cooper AE, Coppel RL, Leung P, Ahmed A, Dickson R, et al. The predominance of IgG3 and IgM isotype antimitochondrial autoantibodies against recombinant fused mitochondrial polypeptide in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1988; 8:290-5.
- Mitchison HC, Bassendine MF, Hendrick A, Bennett MK, Bird G, Watson AJ, et al. Positive antimitochondrial antibodies but normal alkaline phosphatase: is this primary biliary cirrhosis? *Hepatology* 1986; 6:1279-84.
- Metcalf JV, Mitchinson HC, Palmer JM, Jones DE, Bassendine MF, James OFW. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1996; 348:1399-402.
- Kisand KE, Metsküla K, Kisand KV, Kivik T, Gershwin ME, Uibo R. The follow-up of asymptomatic persons with antibodies to pyruvate dehydrogenase in adult population samples. *J Gastroenterol* 2001; 36:248-54.
- Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OFW. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut* 2004; 53:865-70.
- van Norstrand MD, Malinchoc M, Lindor KD, Therneau TM, Gershwin ME, Leung PS, et al. 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.
- Kenny RP, Czaja AJ, Ludwig J, Dickson ER. Frequency and significance of antimitochondrial antibodies in severe chronic active hepatitis. *Dig Dis Sci* 1986; 31:705-11.
- Klatskin G, Kantor FS. Mitochondrial antibody in primary biliary cirrhosis and other diseases. *Ann Int Med* 1972; 77:533-41.
- Worman HJ, Courvalin JC. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. *Autoimmun Rev* 2003; 2:211-7.
- Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, Podda M, Wiesierska-Gadek J. Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2005; 25:298-310.
- Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, et al. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45:118-27.
- James OF, Bhopal R, Howel D, Gray J, Burt AD, Metcalf JV. Primary biliary cirrhosis once rare, now common in the United Kingdom? *Hepatology* 1999; 30:390-4.
- Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2000; 31:1005-13.
- Lindor K. Ursodeoxycholic acid for the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2007; 357:1524-9.
- Locke GR, Therneau TM, Ludwig J, Dickson ER, Lindor

- KD. Time course of histological progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1996; 23:52-6.
31. Degott C, Zafrani ES, Callard P, Balkau B, Poupon RE, Poupon R. Histopathological study of primary biliary cirrhosis and the effect of ursodeoxycholic acid treatment on histology progression. *Hepatology* 1999; 29: 1007-12.
32. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A. Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology* 1989; 10:1-7.
33. Wiesierska-Gadek J, Penner E, Battezzati PM, Selmi C, Zuin M, Hitchman E, et al. Correlation of initial autoantibody profile and clinical outcome in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43:1135-44.
34. Deutsch M, Papatheodoridis GV, Tzakou A, Hadziyannis SJ. Risk of hepatocellular carcinoma and extrahepatic malignancies in primary biliary cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20:5-9.