УДК 616.36-004.7-092

Критическая оценка патогенетических факторов первичного билиарного цирроза

А.Ф. Шептулина, М.В. Маевская, В.Т. Ивашкин

Клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ

Critical evaluation of pathogenic factors of primary biliary cirrhosis

A.F. Sheptulina, M.V. Mayevskaya, V.T. Ivashkin

Vasilenko Clinic of internal diseases propedeutics, gastroenterology and hepatology, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university», Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Цель обзора. *Первичный билиарный цирроз* (ПБЦ) относится к группе аутоиммунных заболеваний печени, сопровождающихся холестазом. В последние годы распространенность ПБЦ, особенно в странах северной Европы, значительно возросла. Несмотря на достаточный прогресс в изучении основных патофизиологических механизмов ПБЦ, этиология заболевания остается неясной. Стояла задача в какой-то мере восполнить эти пробелы.

Основные положения. В настоящее время к этиологическим факторам, увеличивающим риск развития ПБЦ, следует отнести генетические особенности, иммунологические нарушения, а также факторы внешней среды. При этом вклад каждой из перечисленных групп факторов, по крайней мере, отчасти определяется демографическими, этническими и географическими особенностями.

Заключение. Выявление факторов риска и возможных причин ПБЦ позволит разработать дополнительные подходы к лечению, а определение новых

The aim of review. *Primary biliary cirrhosis* (PBC) is related to the group of autoimmune cholestasis-associated liver diseases. In the last years prevalence of PBC increased considerably, especially – in Northern European countries. Despite of sufficient progress in studying of main pathophysiological mechanisms of PBC, etiology of disease remains obscure. There was a task to fill these gaps to some extent.

Key points. Etiological factors increasing risk of PBC development include genetic factors, immunologic disorders, and environmental features. Thus the contribution of each of the mentioned groups of factors, at least, partly is determined by demographic, ethnic and geographical features.

Conclusion. Detection of risk factors and the possible PBC causes allows to develop additional treatment approaches, and define new PBC markers, increase rate of early stage diagnostics.

Key words: primary biliary cirrhosis, cholangiopathy, cholestasis, main histocompatibility complex, pyru-

Шептулина Анна Фароковна – клинический ординатор кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова. Контактная информация: sheptulina.anna@gmail.com; 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1. Клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова

Sheptulina Anna F. – resident of the chair of internal diseases propedeutics, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university».
Contact information: sheptulina.anna@gmail.com; 119991, Moscow, Pogodinskaya street, 1, bld. 1

Маевская Марина Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова

маркёров ПБЦ – увеличить частоту диагностики этого заболевания на ранних стадиях.

Ключевые слова: первичный билиарный цирроз, холангиопатия, холестаз, главный комплекс гистосовместимости, пируватдегидрогеназный комплекс, антимитохондриальные антитела, антинуклеарные антитела.

vate dehydrogenase complex, antimitochondrial antibodies, antinuclear antibodies.

Аутоиммунный гепатит (АИГ), *первичный билиарный цирроз* (ПБЦ) и *первичный склерозирующий холангит* (ПСХ) являются наиболее распространенными формами аутоиммунных заболеваний печени [35].

ПБЦ представляет собой хроническое медленно прогрессирующее холестатическое заболевание печени неизвестной этиологии, при котором первоначально поражаются внутридольковые и септальные желчные протоки и которое приводит к развитию *цирроза печени* (ЦП) и печеночной недостаточности [21, 25]. Заболеваемость выше среди женщин; соотношение мужчины:женщины для ПБЦ, по данным эпидемиологических исследований, составляет 1:8–10 [10, 21]. В качестве объяснения такой предрасположенности рассматривают моносомию по Х-хромосоме в лимфоидных клетках, особенно в Т- и В-лимфоцитах периферической крови, при этом частота моносомии коррелирует с возрастом больных [4, 25].

Распространенность ПБЦ в различных странах неодинакова и находится в пределах от 40 до 400 случаев заболевания на 1 млн населения, наибольшие значения зарегистрированы в северной Европе [27]. За последнее десятилетие в некоторых западных регионах распространенность ПБЦ возросла до 1 случая на 700 человек [32]. В структуре смертности от ЦП всех типов доля ПБЦ составляет приблизительно 2% [3].

Диагноз ПБЦ может быть установлен при наличии у пациента биохимических маркёров холестаза, гистологических признаков ПБЦ (хронический негнойный деструктивный холангит), а также специфичных для заболевания *антимитохондриальных антител* (АМА) и/или антинуклеарных антител [21].

Генетические аспекты ПБЦ

Как и другие аутоиммунные заболевания, ПБЦ следует отнести к группе многофакторных болезней, в возникновении которых играет роль сочетание различных генетических особенностей, а также факторов внешней среды [25]. В настоящее время достоверно известно, что развитие ПБЦ не связано с мутациями одного определенного гена, кроме того, на основании результатов исследований с участием монозиготных близнецов установлено, что заболевание не обладает полной пенетрантностью. Поскольку распространенность ПБЦ в общей популяции не превышает 400 случаев на 1 млн населения [28], его следует рассматривать как редкое заболевание, а следовательно, данные о генетических аспектах представлены только в исследованиях случай–контроль, спроектированных для оценки взаимосвязи между отдельными полиморфизмами генов и ПБЦ [32]. Такие исследования, как известно, обладают рядом ограничений, которые включают в том числе размер выборки и критерии подбора контрольной группы [40].

Относительный риск возникновения ПБЦ у родственников первой линии родства превышает одноименный показатель в общей популяции в 50–100 раз [38]. Существование нескольких случаев заболевания в одной семье получило название семейной формы ПБЦ; частота последней неодинакова и, по-видимому, зависит от географического региона и эпидемиологической обстановки (см. таблицу) [40].

Согласно материалам ретроспективного статистического анализа историй болезни пациентов по данным архива клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ПМГМУ им. И.М. Сеченова, за период 2000–2008 гг. в отделении гепатологии клиники наблюдались 339 больных различными типами холестаза, из них 125 с ПБЦ (36,8%) [9].

Результаты некоторых исследований предполагают, что у членов семей пациентов с ПБЦ на самом деле определяются менее специфичные иммунологические нарушения, которые часто не укладываются в картину ПБЦ. Так, исследователи Группы по изучению печени (Ньюкасл, Великобритания) обнаружили, что 14% родственников первой линии родства 160 пациентов с ПБЦ страдают хотя бы одним аутоиммунным заболеванием (у большинства родственников установлен диагноз системной склеродермии). В менее крупном исследовании, выполненном в Бразилии, было показано, что среди родственников первой линии родства 26 пациентов с ПБЦ только у 5% были диагностированы аутоиммунные заболевания и только в одном случае ПБЦ. Более того, сывороточные аутоантитела оказались положительными лишь у 11% родственников, у большинства из них клинические проявления аутоиммунных заболеваний не зафиксированы [40].

Распространенность семейной формы ПБЦ

Страна, год	Частота семейной формы ПБЦ, %	Число наблюдений
США, 1994	4,3	396
Великобритания, 1983	1	117
Великобритания, 1990	2,4	347
Великобритания, 1995	1,33	736
Великобритания, 1999	6,4	157
Швеция, 1990	4,5	111
Италия, 1997	3,8	156
Япония, 1999	5,1	156
Исландия, 2004	7,1	14

Взаимосвязь ПБЦ с аллелями главного комплекса гистосовместимости I и II классов (MHC) является слабой [40]. Так, описанная в литературе ассоциация ПБЦ с гаплотипами HLA B8, DR3, DR4 и DR2 характерна и для других аутоиммунных заболеваний [1], причем частота выявления перечисленных аллелей зависит от обследованной группы населения и отражает скорее особенности основной популяции [2]. Результаты оценки показателя конкордантности по ПБЦ у близнецов продемонстрировали, что в 5 из 8 пар монозиготных близнецов (показатель конкордантности 0,63) у обоих близнецов был диагностирован ПБЦ, в то время как конкордантность дизиготных близнецов по ПБЦ не установлена [34]. Интересным представляется тот факт, что заболевание начиналось в одном и том же возрасте у 4 из 5 конкордантных по ПБЦ пар монозиготных близнецов.

Несмотря на то, что показатель конкордантности по ПБЦ у монозиготных близнецов является одним из наиболее высоких среди всех аутоиммунных заболеваний, были также обнаружены пары монозиготных близнецов, дисконкордантные по данному признаку, что свидетельствует о влиянии на возникновение заболевания других предрасполагающих факторов, например факторов окружающей среды.

Факторы риска развития ПБЦ

Эпидемиологические исследования предполагают, что влияние факторов окружающей среды заключается либо в инициации ПБЦ, либо в усугублении его течения [17]. Среди факторов риска развития заболевания, выявленных в исследованиях последнего десятилетия, наряду с отягощенным по ПБЦ семейным анамнезом, следует отметить также дефицит эстрогенов, предшествовавшие оперативные вмешательства, *инфекции мочевыводящих путей* (ИМП) и курение [21, 22].

D. Howel и соавт. [23] провели популяционное исследование методом случай–контроль с участием больных ПБЦ из северо-западного региона Англии с применением рассылаемых по почте анкет, включавших вопросы, касающиеся анамнеза заболевания и образа жизни. Анкеты были отправлены 100 пациентам с ПБЦ (первая группа) и 223 здоровым лицам (вторая группа). В ходе исследования была установлена взаимосвязь между ПБЦ и курением: в первой группе курили 76% опрошенных, во второй – 57%.

Аналогичные данные получены и в ряде других эпидемиологических исследований [36, 37]. Одно из наиболее крупных и всеобъемлющих исследований с участием пациентов с ПБЦ (1032) и здоровых лиц (1041) было выполнено M.E. Gershwin и соавт. [21]. Авторами установлена достоверная связь между курением в анамнезе и развитием заболевания, при этом 60% пациентов с ПБЦ и 54% здоровых лиц выкурили более 100 сигарет в течение жизни. C. Corpechot и соавт. [18] оценивали влияние на развитие ПБЦ пассивного и активного курения: из числа обследованных 45% пациентов с ПБЦ и 19% здоровых лиц сообщили о пассивном или активном курении в анамнезе.

О влиянии курения на развитие ПБЦ свидетельствуют и такие данные, как: взаимосвязь между курением и прогрессирующим фиброзом печени, причем риск последнего возрастает по мере увеличения количества пачко-лет; активность воспалительного процесса в печени, повышенные уровни ИФН-γ и ИЛ-10 у курильщиков по сравнению с некурящими. Механизмы влияния курения на развитие ПБЦ включают нарушение функций иммунной и эндокринной систем, а также образование свободных радикалов и оксидативный стресс.

Результаты перечисленных эпидемиологических исследований не только подтверждают то, что курение является фактором риска возникновения ПБЦ, но и предполагают увеличение вероятности развития и повышение выраженности фиброза у этих пациентов [21].

На сегодняшний день в литературе опубликовано множество работ относительно влияния ксенобиотиков на формирование ПБЦ. Ксенобиотиками

называют чужеродные для организма различные химические вещества, например лекарственные препараты, пестициды и органические соединения, метаболизм которых происходит главным образом в печени. К повреждающим механизмам относят: *во-первых*, прямое токсическое действие ксенобиотиков или неоантигенов, вызывающее апоптоз и некроз клеток, что способствует образованию иммуногенных эпитопов; *во-вторых*, перекрестные реакции активированных неоантигенами специфичных Т- и В-лимфоцитов с менее иммуногенными аутоантигенами; *в-третьих*, модификацию нативных клеточных белков, в частности, посредством удаления и/или замены гаптена, с последующим изменением процессинга в *антиген-представляющих клетках* (АПК) и презентацией криптантигенов [23].

ПБЦ и инфекционные заболевания

В качестве другой возможной причины развития ПБЦ следует отметить инфекционные заболевания [25]. Среди основных механизмов влияния возбудителей инфекций на возникновение и прогрессирование болезни необходимо назвать: молекулярную мимикрию, активацию АПК и избыточное образование антигенов, усиление поликлональной активации В-лимфоцитов с увеличением в последующем синтеза аутоантител и иммунных комплексов, способных вызывать повреждение тканей организма. Более того, вирусные и бактериальные суперантигены усиливают Т-клеточные иммунные реакции путем примирования большого количества Т-лимфоцитов независимо от их специфичности [12]. К этиологическим факторам ПБЦ могут быть отнесены следующие инфекционные агенты: *Escherichia coli*, *Chlamydia pneumonia*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium* и вирусы.

Так, у пациенток с ПБЦ ежегодная частота инфекций мочевыводящих путей, вызванных *E. coli*, составляет 35% . По данным исследования кала, колонизация кишечника R-формами *E. coli* была выявлена у 22 больных ПБЦ (100%), только у 1 из 20 здоровых лиц и у 25% пациентов с другими заболеваниями печени. Более того, в крови здоровых женщин с анамнезом рецидивирующих ИМП без признаков какого-либо заболевания печени обнаруживаются АМА в низком титре [32].

В одном из исследований показано, что *C. pneumonia* может выступать в роли триггерного или этиологического фактора в возникновении ПБЦ: согласно результатам этого исследования ДНК *C. pneumonia* была обнаружена в биоптатах всех 39 больных ПБЦ, участвовавших в работе, и только у 8,5% здоровых лиц. Тем не менее, два других исследования не подтвердили взаимосвязь между инфекцией *C. pneumonia* и развитием ПБЦ [11].

В исследовании, выполненном D.P. Bogdanos и соавт., был описан феномен молекулярной мимикрии между белками *H. pylori* и пируватдегидрогеназой человека [14]. По другим сведениям, распространенность инфекции *H. pylori* среди пациентов с ПБЦ не превышает аналогичный показатель в общей популяции [16].

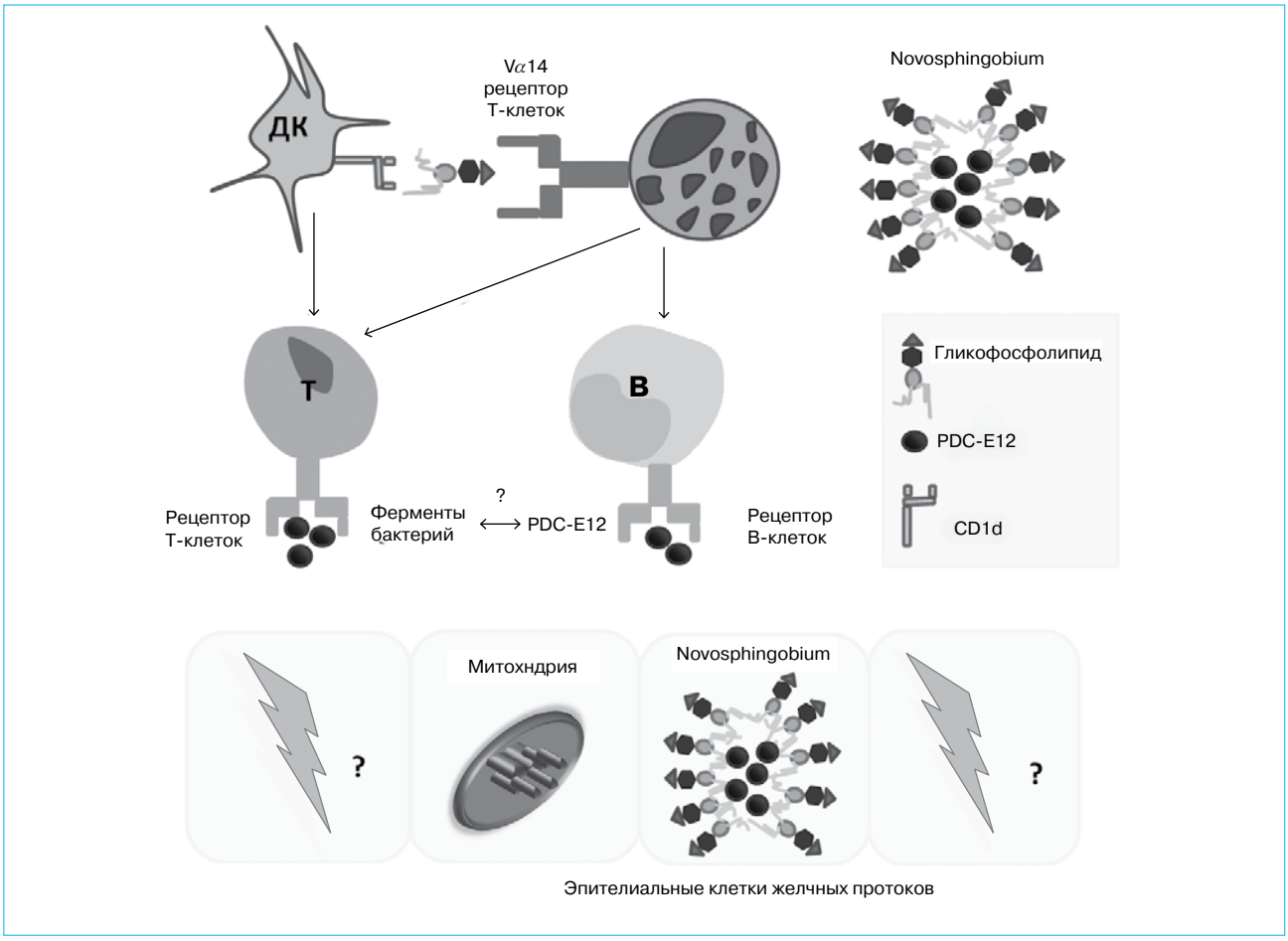
Еще одним возможным триггером ПБЦ выступают микобактериальные инфекции. L. Vilagut и соавт. в своей работе продемонстрировали перекрестную реактивность сыворотки крови больных ПБЦ в отношении лиофилизата *M. gordonae*, а также перекрестную реактивность белков теплового шока *M. gordonae* и антимитохондриальных антител человека. В другом исследовании зафиксирована реакция между сывороткой крови пациентов, больных туберкулезом, и Е2 субъединицей *пируватдегидрогеназного комплекса* (PDC-E2). Однако по результатам других опубликованных работ доказательств влияния микобактерий на риск развития ПБЦ не получено [43].

Среди возможных этиологических факторов ПБЦ следует также перечислить и некоторые вирусные инфекции. В отдельных исследованиях была установлена взаимосвязь между развитием ПБЦ и вирусом опухоли молочной железы мышей, но ее не удалось подтвердить в других работах [25].

Факты, свидетельствующие в пользу влияния *вируса Эпштейна–Барра* (EBV) на возникновение аутоиммунных заболеваний, включают высокую распространенность инфекции во всем мире, сохранение вируса в В-лимфоцитах организма-хозяина в течение всей жизни последнего, а также способность нарушать иммунный ответ и подавлять апоптоз. Большинство исследований, в которых предлагается рассматривать EBV в качестве триггерного фактора в развитии ПБЦ, основаны на данных о более высоких титрах антител к этому вирусу у пациентов с аутоиммунными заболеваниями по сравнению со здоровыми лицами [42]. Кроме того, у пациентов с аутоиммунными заболеваниями доля инфицированных EBV лимфоцитов, а также вирусная нагрузка выше, чем у здоровых лиц или пациентов, страдающих другими заболеваниями.

В некоторых исследованиях установлена взаимосвязь между инфекцией EBV и ПБЦ [9]. Так, A. Morshed и соавт. [30] показали, что содержание ДНК EBV в мононуклеарных клетках периферической крови было повышено у 61% пациентов с ПБЦ по сравнению с 19% больных АИГ, 14% пациентов с ЦП различной этиологии и 11% здоровых лиц. В биоптатах печени и образцах слюны, полученных от пациентов с ПБЦ, содержание ДНК EBV было также выше, чем у страдающих другими заболеваниями печени и у здоровых лиц.

В исследовании O. Barzilai и соавт. [13] было показано, что у пациентов с ПБЦ титр антител



Возможные механизмы индукции ПБЦ *N. aromaticivorans* посредством молекулярной мимикрии. NKT-клетки активируют аутореактивные В- и Т-лимфоциты, которые, в свою очередь, инициируют заболевание посредством перекрестного взаимодействия с PDC-E2. В настоящее время большинство исследований сосредоточено на изучении влияния обоих клеточных популяций на повреждение эпителиальных клеток желчных протоков. PDC-E2 — Е2 субъединица пируватдегидрогеназного комплекса [24].

класса G к EBV превышал одноименный показатель у здоровых лиц. Однако выявленные изменения были неспецифичными для ПБЦ, поскольку у пациентов с другими заболеваниями, такими как *системная красная волчанка* (СКВ), ревматоидный артрит, антифосфолипидный синдром, рассеянный склероз, полимиозит, системная склеродермия, синдром Шегрена, синдром Churg–Strauss и криоглобулинемия, также отмечались более высокие титры антител класса G по сравнению с контрольной группой.

Перекрестная реактивность между пептидами вируса и PDC-E2 была описана в исследовании D.P. Bogdanos и соавт. [14]. Исходя из результатов работы установлено сходство между последовательностью аминокислот в составе PDC-E2 и пептидов *E. coli*, *H. pylori*, *P. aeruginosa*, *H. influenza* и цитомегаловируса. Напротив, сходство между структурой PDC-E2 и пептидами вируса EBV не обнаружено.

Цель других исследований заключалась в определении перекрестной реактивности пептидов EBV и *гликопротеина 210* (gp 210). W. Xie и соавт. [44] продемонстрировали сходство между структурой двух эпитопов в составе gp 210 и двух эпитопов, синтезируемых EBV (UL37 и KITH).

Ряд исследований был посвещен оценке роли представителя условно-патогенной микрофлоры кишечника — убиквитарной альфа-протеобактерии *Novosporhingobium aromaticivorans* — в качестве возможного этиологического фактора ПБЦ. *N. aromaticivorans* отличается уникальностью строения клеточной стенки. Так, вместо *липополисахарида* (ЛПС), являющегося основным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, в состав клеточной стенки *N. aromaticivorans* входят гликосфинголипиды. NKT-клетки распознают гликосфинголипиды *N. aromaticivorans* и при отсутствии активации липополисахаридом клеток, экспрессирующих Toll-подобные рецепторы 4-го типа (TLR-4), иммунный ответ происходит в основном при участии механизмов иннантного иммунитета (см. рисунок) [6, 24]. Активация NKT-клеток глико-

фосфолипидами *N. aromaticivorans* в печени, где определяется наибольшее количество этих клеток и персистирует ДНК *N. aromaticivorans*, объясняет органоспецифичность поражения при ПБЦ. В дополнение NKT-клетки способны участвовать в осуществлении широкого диапазона эффекторных функций в отношении других клеток посредством экспрессии на своей поверхности рецепторных и лигандных молекул (FASL, CD40L и др.) и секреции медиаторов (перфорин, гранзим), содержащихся в клеточных гранулах. Эти медиаторы, в свою очередь, могут активировать или разрушать другие клетки (иммунные или паренхиматозные), находящиеся в печени [1].

По результатам исследования C. Selmi и соавт. [39], у пациентов с серонегативным вариантом ПБЦ в сыворотке крови обнаруживаются антитела к *N. aromaticivorans*. Это позволяет предположить, что развитие заболевания в большей степени связано с наличием антител к *N. aromaticivorans*, чем антител к PDC-E2. Антитела к *N. aromaticivorans* отличаются высокой специфичностью в диагностике ПБЦ и не определяются в сыворотке крови здоровых лиц. Как уже говорилось выше, *N. aromaticivorans* является представителем микрофлоры кишечника и, следовательно, возможна бактериальная транслокация. В ее основе в таких условиях может лежать генетическая предрасположенность.

Таким образом, генетическая предрасположенность к тому или иному заболеванию может отражать не только возможность развития иммунной реакции в отношении собственных антигенов, но и невозможность предотвратить распространение инфекции, вызванной грамотрицательными бактериями, которая у здоровых лиц не вызывает выраженных клинических симптомов вследствие недостатка ЛПС. В этом случае инфекция *N. aromaticivorans* может остаться нераспознанной.

Хотя в настоящее время ПБЦ не рассматривают в качестве инфекционного заболевания, персистирующая бактериальная инфекция может инициировать развитие заболевания. Данные, полученные на основании изучения животных моделей, и результаты клинических исследований у больных ПБЦ свидетельствуют в пользу высказанного выше предположения и рекомендуют проводить скрининг среди лиц, относящихся к группе высокого риска заболевания, например среди членов семей пациентов с ПБЦ. Кроме того, Jochen Mattner и Javid P. Mohammed [24] предлагают в качестве одного из новых терапевтических подходов у пациентов с ПБЦ без клинических симптомов заболевания, в крови которых определяются антитела к PDC-E2 и антигенам *N. aromaticivorans*, назначение антибиотиков. Особенно это касается препаратов, секретируемых с желчью, например β-лактамов.

Определение инфекционных агентов, способствующих возникновению или прогрессированию ПБЦ, позволит разработать новые подходы к лечению, а также предотвратить или замедлить прогрессирование заболевания [8].

Следует отметить, что ПБЦ, наряду с ПСХ, относится к группе аутоиммунных холангиопатий, которые имеют значимое социальное звучание ввиду тяжести клинического течения, высокой смертности и необходимости трансплантации печени. Холангиопатии в большинстве случаев неуклонно прогрессируют в направлении дуктопении, при которой исчезает более 50% междольковых желчных протоков и нарастают клинические симптомы холестатического синдрома.

Первичной мишенью, поражаемой при холангиопатиях, служат холангиоциты. Холангиоциты, выстилающие междольковые желчные протоки у больных ПБЦ, но не у здоровых лиц, экспрессируют два подтипа *эстрогеновых рецепторов* (ERα- и ERβ). Экспрессия ER различается в разные стадии болезни и коррелирует с маркёрами пролиферации (PCNA) и смерти (Tunel). Экспрессия ERα возрастает с 1% холангиоцитов при I стадии ПБЦ до 12% в стадии III, тогда как экспрессия ERβ оказывается стабильно высокой (50–65% холангиоцитов) на всех гистологических стадиях болезни. На стадии IV, когда достигается максимальная выраженность дуктопении, холангиоциты прекращают экспрессировать ERα. Одновременно наблюдается очень низкое отношение PCNA/Tunel. Это позволяет говорить о возможности возникновения относительной пролиферативной недостаточности холангиоцитов на финальной дуктопенической стадии ПБЦ, сопровождающейся исчезновением ERα. У мужчин экспрессия ERα значительно выше, чем у женщин, косвенно указывая на то, что доминирование женщин при ПБЦ и типичный постменопаузальный клинический дебют могут быть связаны с дефектом пролиферативного ответа холангиоцитов на эстрогены.

Таким образом, можно сделать заключение, что ER играют важную роль в регуляции функций холангиоцитов в процессе формирования и течения ПБЦ у человека [7].

Нельзя не упомянуть и о том, что в основе возникновения ПБЦ как холестатического заболевания лежит нарушение функционирования гепатобилиарных транспортных систем и их регуляции на клеточном и молекулярном уровнях. Установлено, что в патогенезе холестаза существенное значение имеют нарушения гепатобилиарного транспорта и гепатоцеллюлярная аккумуляция токсических холефильных соединений, вызывающая множественные нарушения экспрессии гепатоцеллюлярных белков-переносчиков.

В течение последних нескольких лет большинство транспортных белков, таких как транспор-

теры гепатобилиарных *желчных кислот* – ЖК (NTCP и BSEP), органических анионов (OATP2, MRP2, MRP3), органических катионов (MDR1) и фосфолипидов (MDR3), были клонированы из печени грызунов и человека, определены их функции *in vitro*. В ряде исследований было показано, что при ПБЦ I–II стадий экспрессия и локализация всех белков-переносчиков остаются неизмененными. Уровни мРНК переносчиков OATP2 и NTCP при ПБЦ III стадии оказались сниженными, тогда как уровни мРНК экспортных помп (BSEP) при ПБЦ I–III стадий и в контрольной группе не отличались. В другом исследовании с участием пациентов с ПБЦ III–IV стадий было обнаружено подавление экспрессии базолатеральных транспортных систем (NTCP, OATP2), при этом каналикулярные экспортирующие помпы ЖК и билирубина (BSEP, MRP2) остались неизмененными. В то же время отмечалась индукция каналикулярных MDR P-гликопротеинов (MDR1, MDR3) и базолатеральной экспортирующей помпы MRP3.

Хотя все вышеизложенные научные разработки вносят огромный вклад в понимание физиологии гепатобилиарных транспортных систем, их результаты достаточно противоречивы и оставляют многие важные вопросы неразрешенными. Более детальное изучение регуляции экспрессии транспортных генов может служить основой как для создания новых, более эффективных методов терапии, так и для выявления механизмов действия уже используемых лекарственных препаратов [32].

Новые биомаркёры ПБЦ

В качестве основного маркёра ПБЦ рассматривают АМА, особенно подтипа М2, поскольку чувствительность данного показателя при ПБЦ превышает 90% [25]. Антигенами для АМА являются компоненты комплекса дегидрогеназ 2-оксокислот (2-OADC), в том числе Е2 субъединица (дигидролипоамид ацетилтрансфераза) пируватдегидрогеназного комплекса (PDC-E2), Е2 субъединица комплекса дегидрогеназ 2-оксокислот с разветвленной цепью (BCOADC-E2), Е2 субъединица 2-оксоглутаратдегидрогеназы (OGDC-E2), а также белок, связывающий дигидролипоамиддегидрогеназу (E3BP), который является компонентом PDC [6, 26, 33]. К наиболее частым антигенам для АМА относят PDC-E2, который обнаруживается у 90% больных ПБЦ [6].

В то время как у некоторых пациентов определяются АМА, реагирующие только с PDC-E2, у большинства больных выявлены АМА, реагирующие одновременно и с OGDC-E2 или с BCOADC-E2; реактивность только в отношении OGDC-E2 или BCOADC-E2 наблюдается реже. АМА обнаруживаются также в желчи, слюне и моче больных ПБЦ, причем уровни АМА в указанных биологических жидкостях коррелируют с таковыми в сыворотке крови пациентов. Известно, что основные эпитопы, распознаваемые АМА, расположены в составе домена, содержащего липоевую кислоту [26, 33]. Интересным представляется тот факт, что у млекопитающих выделяют всего пять белков, содержащих липоевую кислоту, и четыре из них являются аутоантигенами при ПБЦ [38].

Во многих исследованиях показано, что АМА обладают высокой специфичностью в отношении ПБЦ и определяются в крови пациентов задолго до появления клинических симптомов и постановки диагноза [25]. Тем не менее, данные исследований последних лет оспаривают это утверждение, демонстрируя, что у 28 (40,9%) из 69 пациентов с острой печеночной недостаточностью по результатам иммуноблота в сыворотке определялись аутоантитела, реагирующие с основными митохондриальными антигенами (PDC-E2, BCOADC-E2 и OGDC-E2). Впоследствии в литературе были опубликованы сообщения о высокой частоте выявления АМА у пациентов с первичным синдромом Шегрена, склеродермией и АИГ [20]. Более того, взаимосвязь между титром АМА-М2, тяжестью течения заболевания, а также патофизиологическими аспектами ПБЦ не установлена [41].

Антинуклеарные антитела (ANA) представляют собой другой сывороточной маркёр ПБЦ и определяются у 50–70% пациентов [31]. Результаты недавно проведенных исследований показали корреляцию между наличием антител к gp210, входящему в состав комплекса ядерной поры, *антицентромерных антител* (АСА) и тяжестью течения заболевания, а также плохим прогнозом у пациентов с ПБЦ [11, 14]. Чувствительность аутоантител к gp210 при ПБЦ составляет 20–30% [15]. Тем не менее, ANA, аналогично АМА, определяются и в сыворотке крови пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями, а, кроме того, в достаточно большом проценте (1/20) у здоровых лиц. АСА считаются довольно специфичным маркёром ограниченной формы склеродермии, но могут быть обнаружены также у пациентов с СКВ, первичным синдромом Шегрена, ревматоидным артритом и при некоторых злокачественных новообразованиях, например раке молочной железы, неходжкинских лимфомах [20]. Следует отметить, что диагностическая значимость специфичных для ПБЦ ANA изучена недостаточно [15].

Таким образом, исследования в области методов диагностики и механизмов ПБЦ должны быть сосредоточены в первую очередь на выявлении новых биомаркёров [29].

В исследовании, выполненном Chao-Jun Hu и соавт. [17], с помощью технологии создания

микроматриц, составленных из белков, были выделены 6 новых протеинов, в том числе KLHL7, KLHL12, ZBTB2, HK1 изоформа I, HK1 изоформы II и EIF2C1, с чувствительностью в диагностике ПБЦ, по крайней мере, 15%.

KLHL7, KLHL12, ZBTB2 представляют собой ядерные белки, в структуре которых определяется один из двух доменов – BTB или POZ. Мотив BTB/POZ обнаруживается у представителей различных видов и рассматривается в качестве сохраненного в процессе эволюции фрагмента, обеспечивающего белок-белковое взаимодействие. Помимо домена BTB KLHL12 и KLHL7 содержат также шесть повторов Kelch мотива. В результате применения технологии SEREX было сделано заключение о том, что KLHL12 и KLHL7 выполняют роль антигенов и у пациентов с синдромом Шегрена, при этом чувствительность перечисленных белков в диагностике данного заболевания составляла 23 и 17% соответственно. Более того, надо сказать, что указанные белки не были обнаружены у пациентов с ревматоидным артритом или СКВ, а также у здоровых лиц [17].

Согласно данным, представленным в работе Hu Chao-Jun и соавт., включавшей большую группу пациентов с ПБЦ и другими аутоиммунными заболеваниями, чувствительность KLHL12 и KLHL7 в диагностике ПБЦ была довольно высокой – 40,3 и 35,1% соответственно, в связи с чем был сделан вывод о том, что эти белки могут расцениваться как новые биомаркёры ПБЦ.

ZBTB2, фактор транскрипции, относящийся к семейству POZ и Kruppel (лучше известному как POK), содержит 4 C2H2-подобных цинковых пальца. ZBTB2 регулирует функцию p53 посредством прямого взаимодействия с доменами p53, содержащими цинковые пальцы. Кроме того, ZBTB2 может подавлять транскрипцию p21 [17]. В этом же исследовании представлены убедительные доказательства того, что ZBTB2 является специфичным в отношении ПБЦ маркёром с чувствительностью и специфичностью в диагностики заболевания 11,8 и 99,7% соответственно. То, что в составе и ZBTB2, и KLHL12, и KLHL7 имеется домен BTB, позволяет сделать заключение о наличии в составе BTB общего для всех белков эпитопа, для выделения которого требуются дальнейшие исследования.

HK1 является членом семейства гексокиназ, которые участвуют в процессе фосфорилирования глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата. HK1 изоформы I локализуется на наружной мембране митохондрий в клетках тканей, которым для осуществления своих физиологических функций необходима глюкоза, например в клетках головного мозга, эритроцитах, тромбоцитах, лимфоцитах и фибробластах [17]. В соответствии с результатами исследования Hu Chao-Jun и соавт. две из четырех AMA+/M2– сывороток реагировали с HK1. Более того, в исследовании M. Gonzalez-Gronow и соавт. было показано, что HK1 изоформы I является аутоантигеном у детей, страдающих аутизмом, и аутоантитела к HK1 нарушают рост и индуцируют апоптоз клеток нейробластомы человека *in vitro*. По сравнению с HK1 изоформой I в составе HK1 изоформы II отсутствует N-терминальный домен, связывающий порины и отвечающий за взаимодействие с белками на наружной мембране митохондрий; поэтому изоформа II локализуется преимущественно в цитозоле [17].

Другим новым аутоантигеном, который был выявлен в сыворотке у 15,2% пациентов с ПБЦ, был назван эукариотический фактор инициации трансляции EIF2C1. Но этот фактор был также определен в крови у 15,6% пациентов с СКВ и 9,3% пациентов с АИГ, что не позволяет считать его специфичным в отношении ПБЦ.

С целью оценки возможной клинической значимости новых маркёров ПБЦ авторы работы провели корреляционный анализ и не обнаружили между наличием в крови у пациентов с ПБЦ большинства новых аутоантигенов и уже известных маркёров значимой корреляции. Тем не менее, чувствительность шести компонентов M2 в комбинации с шестью новыми аутоантигенами в диагностике ПБЦ увеличилась с 82,2 до 92,2%. Однако такой прием не привел к увеличению специфичности диагностических тестов, напротив, она уменьшилась с 89,7 до 73,5%.

На настоящий момент для постановки диагноза ПБЦ в клинических условиях наиболее часто применяются тесты с определением M2-аутоантител. Между тем отрицательные результаты таких тестов не позволяют исключить ПБЦ, и для верификации диагноза необходимы проведение биопсии печени и тщательная оценка клинических симптомов заболевания. Поэтому выявление новых биомаркёров ПБЦ и определение их у пациентов с отрицательными результатами тестов на M2-аутоантитела позволят уменьшить объем исследований и соответственно стоимость обследования таких больных. Например, у 47,8% пациентов с ПБЦ и отрицательными результатами тестов на M2-аутоантитела были обнаружены KLHL12 и гликопротеин gp210, при этом чувствительность указанных маркёров в диагностике ПБЦ составляла 90,4% и была сопоставима с таковой для M2-аутоантител (89,7%) [17].

Заключение

Генетические и иммунологические факторы, способствующие возникновению и прогрессированию ПБЦ, исследованы недостаточно. Более того, в настоящее время невозможно исключить одновременное влияние нескольких генетических факторов и факторов внешней среды, которые часто могут

различаться в разных географических регионах. Учитывая отсутствие взаимосвязи между определенными аллелями MHC и ПБЦ, а также низкую эффективность иммунодепрессантов в терапии заболевания, можно сделать вывод: аутоиммунные механизмы, по-видимому, представляют лишь один из компонентов патогенеза ПБЦ [17].

Одним из критериев диагноза ПБЦ является выявление в сыворотке крови пациента специфичных для заболевания AMA и/или ANA. Однако взаимосвязь между титром AMA-M2, тяжестью течения заболевания и патофизиологическими аспектами ПБЦ не установлена [40, 41], более того, диагностическая значимость специфичных для ПБЦ ANA изучена не в полной мере [15].

Таким образом, исследования в области методов диагностики и механизмов ПБЦ должны быть сосредоточены в первую очередь на выявлении новых биомаркёров [17].

Список литературы

1. Аутоиммунные заболевания печени в практике клинициста / Под ред. *Ивашкина В.Т., Буеверова А.О.* — М.: Изд. Дом «М-Вести», 2001. — 32 с.
1. Autoimmune liver diseases in clinician's practice / ed.: *Ivashkin V.T., Buyeverov A.O.* — M.: Publishing house «M-Vesti», 2001. — 32 p.
2. Аутоиммунные заболевания печени и перекрестный синдром / Ульрих Лейшнер: Пер. с нем. — *Шептулин А.А.* — М.: Анахарсис, 2005. — 54 с.
2. Autoimmune liver diseases and overlap syndrome / Ulrich Leuschner: transl. Germ. — *Sheptulin A.A.* — M.: Anaharsis, 2005. — 54 p.
3. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Под ред. *Ивашкина В.Т.* — 2-е изд. — М.: Изд. Дом «М-Вести», 2005. — 165 с.
3. Liver diseases and biliary tracts: Manual for physicians / ed.: *Ivashkin V.T.* — 2nd ed. - M.: Publishing house «M-Vesti», 2005. — 165 p.
4. *Ивашкин В.Т.* Иммунный гомеостаз и иммунные заболевания печени // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2009. — Т. 19, № 3. — С. 4–12.
4. *Ivashkin V.T.* Immunological homeostasis and immune liver diseases // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2009. — Vol. 19, N 3. — P. 4–12.
5. *Ивашкин В.Т.* Механизмы иммунной толерантности и патологии печени // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2009. — Т. 19, № 2. — С. 8–13.
5. *Ivashkin V.T.* Mechanisms of immune tolerance and liver disease // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2009. — Vol. 19, N 2. — P. 8–13.
6. *Ивашкин В.Т.* Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2008. — Т. 18, № 4. — С. 4–13.
6. *Ivashkin V.T.* Basic concepts and statements of fundamental immunology // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2008. — Vol. 18, N 4. — P. 4–13.
7. *Ивашкин В.Т.* Ядерные рецепторы и патология печени Часть 2-я // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2010. — Т. 20, № 4. — С. 7–15.
7. *Ivashkin V.T.* Nuclear receptors and liver disease the Part 2 // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2010. — Vol. 20, N 4. — P. 7–15.
8. *Кузнецова Е.Л., Широкова Е.Н.* Гепатобилиарные транспортеры (OATP2 и BSEP) в ткани печени пациентов с холестатическими заболеваниями печени на фоне проводимой терапии // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2007. — Т. 17, № 2. — С. 28–34.
8. *Kuznetsova Ye.L., Shirokova Ye.N.* Hepatobiliary transporters (OATP2 and BSEP) in liver tissue of patients with cholestatic liver diseases on treatment background // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2007. — Vol. 17, N 2. — P. 28–34.
9. Холестаз: Руководство для врачей / Под ред. *Ивашкина В.Т., Широковой Е.Н.* — М.: СИМК, 2012. — 37 с.
9. Cholestasis: Manual for physicians / ed.: *Ivashkin V.T., Shirokova Ye.N.* — M.: SIMK, 2012. — 37 p.
10. *Широкова Е.Н., Золотаревский В.Б.* Первичный билиарный цирроз // Болезни печени и желчевыводящих путей / Под ред. *Ивашкина В.Т.* — М.: Изд. Дом «М-Вести», 2002. — С. 190–201.
10. *Shirokova Ye.N., Zolotarevsky V.B.* Primary biliary cirrhosis // Liver diseases and biliary tracts / ed.: *Ivashkin V.T.* — M.: Publishing house «M-Vesti», 2002. — P. 190–201.
11. *Abdulkarim A.S., Petrovic L.M., Kim W.R.* et al. Primary biliary cirrhosis: an infectious disease caused by Chlamydia pneumonia? // J. Hepatol. — 2004. — Vol. 40, N 3. — P. 380–384.
12. *Barzilai O., Ram M., Shoenfeld Y.* Viral infection can induce the production of autoantibodies // Curr. Opin. Rheumatol. — 2007. — Vol. 19, N 6. — P. 636–43.
13. *Barzilai O., Sherer Y., Ram M.* et al. Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in autoimmune diseases: are they truly notorious? A preliminary report // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2007. — Vol. 1108 — P. 567–577.
14. *Bogdanos D.P., Baum H., Grasso A.* et al. Microbial mimics are major targets of cross reactivity with human pyruvate dehydrogense in primary biliary cirrhosis // J. Hepatol. — 2004. — Vol. 40, N 1. — P. 31–39.
15. *Bogdanos D.P., Komorowski L.* Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis // Clin. Chim. Acta. — 2011. — Vol. 412, N 7–8. — P. 502–512.
16. *Boomkens S.Y., de Rave S., Pot R.G.* et al. The role of Helicobacter spp. In the pathogenesis of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis // FEMS Immunol. Med. Microbiol. — 2005. — Vol. 44. — P. 221–225.
17. *Chao-Jun Hu, Guang Song, Wei Huang* et al. Identification of new autoantigens for primary biliary cirrhosis using human proteome microarrays // Mol. Cell. Proteomics. — 2012. — Vol. 11, N 9. — P. 669–680.
18. *Corpechot C., Chretien Y., Chazouilleres O., Poupon R.* Demographic, lifestyle, medical and familial factors associated with primary biliary cirrhosis // J. Hepatol. — 2010. — Vol. 53, N 1. — P. 62–69.
19. *Daniel S. Smyk, Eirini I. Rigopoulou, Luigi Muratori* et al. Smoking as a risk factor for autoimmune liver disease: what we can learn from primary biliary cirrhosis // Ann. Hepatol. — 2012. — Vol. 11, N 1. — P. 7–14.
20. *Fritzler M.J., Rattner J.B., Luft L.M.* et al. Historical perspectives on the discovery and elucidation of autoantibodies to centromere proteins (CENP) and the emerging importance of antibodies to CENP-F // Autoimmun. Rev. — 2011. — Vol. 10, N 4. — P. 194–200.
21. *Gershwin M.E., Mackay I.R.* The Causes of Primary Biliary Cirrhosis: Convenient and Inconvenient Truths // Hepatology. — 2008. — Vol. 47, N 2. — P. 737–745.
22. *Gershwin M.E., Selmi C., Worman H.J.* et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients // Hepatology. — 2005. — Vol. 42, N 6. — P.1194–1202.
23. *Howel D., Fischbacher C.M., Bhopal R.S.* et al. An exploratory population-based case-control study of primary biliary cirrhosis // Hepatology. — 2000. — Vol. 31. — P. 1055–1060.

24. *Jochen Mattner, Javid P. Mohammed.* Autoimmune disease triggered by infection with alphaproteobacteria // Expert. Rev. Clin. Immunol. – 2009. – Vol. 5, N 4. – P. 369–379.
25. *Kaplan M.M., Gershwin M.E.* Primary biliary cirrhosis // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 353, N 12. – P. 1261–1273.
26. *Kita H., Matsumura S., He X.S.* et al. Quantitative and functional analysis of PDC-E2-specific autoreactive cytotoxic T lymphocytes in primary biliary cirrhosis // J. Clin. Invest. – 2002. – Vol. 109. – P. 1231–1240.
27. *Kyung-Ah Kim, Sook-Hyang Jeong.* The diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis // Korean J. Hepatol. – 2011. – Vol. 17, N 3. – P. 173–179.
28. *Lindor K.D., Gershwin M.E., Poupon R.* et al. Primary biliary cirrhosis // Hepatology. – 2009. – Vol. 50, N 1. – P. 291–308.
29. *Mayo M.J.* Natural history of primary biliary cirrhosis // Clin. Liver Dis. – 2008. – Vol. 12. – N 2. – P. 277–288.
30. *Morshed A., Nishioka M., Saito I.* et al. Increased expression of Epstein-Barr virus in primary biliary cirrhosis patients // Gastroenterologia Japonica. – 1992. – Vol. 27, N 6. – P. 751–758.
31. *Muratori L., Granito A., Muratori P.* et al. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value // Clin. Liver Dis. – 2008. – Vol. 12. – P. 261–276.
32. *Nancy Agmon-Levin, Bat-sheva Porat Katz, Yehuda Shoenfeld.* Infection and primary biliary cirrhosis // IMAJ. – 2009. – Vol. 12. – P. 112–115.
33. *Oertelt S., Lian Z.X., Cheng C.M.* et al. Anti-mitochondrial antibodies and primary biliary cirrhosis in TGF-beta receptor II dominant-negative mice // J. Immunol. – 2006. – Vol. 177, N 3. – P. 1655–1660.
34. *Olafsson S., Gudjonsson H., Selmi C.* et al. Antimitochondrial antibodies and reactivity to N. aromaticivorans proteins in Icelandic patients with primary biliary cirrhosis and their relatives // Am. J. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 99, N 11. – P. 2143–2146.
35. *Pan Zhao, Yukun Han.* Low incidence of positive smooth muscle antibody and high incidence of isolated IgM elevation in Chinese patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis overlap syndrome: a retrospective study // BMC Gastroenterology. – 2012. – Vol. 12, N 1. – P. 1–4.
36. *Parikh-Patel A., Gold E.B., Worman H.* et al. Risk factors for primary biliary cirrhosis in a cohort of patients from the United States // Hepatology. – 2001. – Vol. 33, N 1. – P. 16–21.
37. *Prince M.I., Ducker S.J., James O.F.* Case-control study of risk factors for primary biliary cirrhosis in two United Kingdom populations // Gut. – 2010. – Vol. 59. – P. 508–12.
38. *Roman Riegera, M. Eric Gershwina.* The X and Why of xenobiotics in primary biliary cirrhosis // J. Autoimmun. – 2007. – Vol. 8, N 2–3. – P.76–84.
39. *Selmi C., Balkwill D.L., Invernizzi P.* et al. Patients with primary biliary cirrhosis react against a ubiquitous xenobiotic-metabolizing bacterium // Hepatology. – 2003. – Vol. 38. – P. 1250–1257.
40. *Selmi C., Invernizzi P., Zuin M.* et al. Genes and (auto) immunity in primary biliary cirrhosis // Genes Immun. – 2005. – Vol. 6. – P. 543–556.
41. *Selmi C., Zuin M., Gershwin M.E.* The unfinished business of primary biliary cirrhosis // J. Hepatol. – 2008. – Vol. 49, N 3. – P. 451–460.
42. *Toussirot É., Roudier J.* Epstein-Barr virus in autoimmune diseases // Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. – 2008. – Vol. 22, N 5. – P. 883–896.
43. *Vilagut L., Pares A., Vinas O.* et al. Antibodies to mycobacterial 65 kD heat shock protein cross-react with the main mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis // Eur. J. Clin. Invest. – 1997. – Vol. 27. – P. 667–672.
44. *Xie W., Snyder M.* Two short autoepitopes on the nuclear dot antigen are similar to epitopes encoded by the Epstein-Barr virus // PNAS. – 1995. – Vol. 92, N 5. – P. 1639–1643.