

# La diagnosi di laboratorio delle malattie autoimmuni delle vie biliari

N. Bizzaro

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

## Riassunto

Le malattie autoimmuni che interessano le vie biliari sono la cirrosi biliare primitiva (PBC) e la colangite sclerosante primaria (PSC). Mentre tuttavia per la PBC la patogenesi autoimmune è ampiamente riconosciuta, per la PSC è sicuramente in causa un meccanismo immunomediato ma la natura autoimmune non è ancora stata definitivamente accertata.

La PBC è una malattia colestatica cronica caratterizzata da una progressiva distruzione dei dotti biliari intraepatici, che può portare allo sviluppo di fibrosi e cirrosi, fino all'insufficienza epatica. Nella eziopatogenesi sembrano giocare un ruolo importante fattori sia immunologici sia genetici. La malattia colpisce soprattutto donne di media età, più della metà delle quali è asintomatica all'esordio, ma presenta alterazioni degli enzimi epatici, in particolare della fosfatasi alcalina e della gammaGT, riscontrati spesso in occasione di esami biochimici eseguiti per screening. Nell'altra metà dei pazienti, i sintomi iniziali sono rappresentati da prurito e/o da astenia, che possono precedere gli altri sintomi di mesi o di anni. In una fase successiva, si possono sviluppare tutte le caratteristiche cliniche e le complicanze della cirrosi epatica.

La positività degli anticorpi anti-mitocondri è un marcatore diagnostico precoce dotato di elevata speci-

ficità. L'identificazione della malattia nelle fasi iniziali è importante perché il trattamento con acido ursodesossicolico può fermarne la progressione ed estendere il periodo di sopravvivenza senza trapianto.

La PSC è anch'essa una malattia colestatica cronica ad andamento progressivo, caratterizzata da fibrosi infiammatoria dei dotti biliari intra ed extraepatici, con stenosi e occlusione dei dotti e sviluppo di cirrosi. A differenza della PBC, la malattia è prevalente nel sesso maschile ed è caratterizzata dal punto di vista clinico-sintomatologico da prurito e ittero ingravescenti con frequenti episodi di esacerbazione febbrile. La PSC è inoltre e caratteristicamente associata nel 70-80% dei casi a rettocolite ulcerosa.

Come nella PBC, al momento della diagnosi la metà circa dei pazienti è asintomatico e l'alterazione degli indici di colestasi può essere il primo segno della malattia. Non esiste attualmente un marcatore anticorpale; gli anticorpi anti-mitocondri sono tipicamente assenti ma possono essere presenti P-ANCA o altri anticorpi (ANA, ASMA fattore reumatoide) che però mancano sia di sensibilità che di specificità diagnostica. La diagnosi viene confermata attraverso esami strumentali come la pancreatocolangiografia per via endoscopica o in risonanza magnetica nucleare. Non si dispone al momento di una terapia medica e il trapianto di fegato è la sola opzione curativa.

## Summary

### The laboratory diagnosis of autoimmune diseases of the hepatobiliary tract

The autoimmune cholangiopathies comprehend chronic disorders of the intrahepatic (primary biliary cirrhosis, PBC) and of the intra- and extrahepatic (primary sclerosing cholangitis, PSC) biliary ducts. However, while PBC is a prototypic autoimmune disease, the inclusion of PSC among the autoimmune diseases is still controversial since criteria are only in part fulfilled and PSC should be more properly considered an immune-mediated disorder.

PBC is a chronic and progressive disease of unknown etio-

logy, characterized by inflammation and progressive destruction of the small-to-medium bile ducts, which leads to cholestasis. Cholestasis over a long period of time may cause scarring and cirrhosis. PBC is usually diagnosed in patients between the ages of 35 to 60 years and about 90% of patients are women. Environmental factors such as infections, may trigger the disease in genetically predisposed individuals. Due to widespread laboratory screening, more than 60% of newly diagnosed PBC patients now are asymptomatic. The key blood test abnormality in PBC is an elevated alkaline phosphatase and gamma glutamyl transpeptidase enzyme level. Other liver enzymes,

such as aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, may be either normal or only slightly elevated at the time of diagnosis. The presence of high-titer anti-mitochondrial antibodies is a distinctive feature of the disease. Ursodeoxycholic acid is the only accepted treatment for PBC.

PSC is a chronic cholestatic liver disease of unknown etiology characterized by inflammation and stenosis of the intrahepatic and extrahepatic biliary tree. The disease is usually progressive, leading to cirrhosis, portal hypertension, and liver failure. The diagnosis is based on a combination of clinical features and cholestatic biochemical profile, along with typical cholangiographic abnormalities, and confirmed by liver histology findings. Multiple autoanti-

bodies have been detected in the serum of PSC patients but none are sufficiently sensitive or specific to have clinical utility. However, the presence of P-ANCA is frequent and may be related to the close association of PSC with ulcerative colitis which is present in 70-80% of PSC patients.

Other antibodies, such as antinuclear, anti-smooth muscle, anticardiolipin and rheumatoid factor are less prevalent. Anti-mitochondrial antibodies are typically absent. There is no proven medical therapy leaving liver transplantation as the only option for end-stage PSC.

**Key-words:** primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, anti-mitochondrial antibodies, MIT3, Sp100, gp210, P-ANCA.

## Introduzione

La cirrosi biliare primitiva (PBC) e la colangite sclerosante primaria (PSC) sono malattie croniche infiammatorie, caratterizzate da un danno immunomediato a carico dei colangiociti. Mentre tuttavia la PBC è certamente una malattia a patogenesi autoimmune, per la PSC il meccanismo autoimmune è solo supposto ma non ancora chiaramente dimostrato. Tutte due le forme, a prescindere dalla patogenesi, possono evolvere in cirrosi epatica.

La diagnosi di queste malattie è complessa e necessita del contributo di diverse specialità mediche. Tra queste, il Laboratorio riveste un ruolo importante nella diagnosi precoce e nella corretta classificazione. La conoscenza del quadro clinico e dei principali parametri biochimici e immunologici consente al patologo di dare un significativo contributo alla diagnosi di queste malattie.

## Cirrosi biliare primitiva

La cirrosi biliare primitiva è una malattia colestatica cronica del fegato, nella quale le cellule epiteliali che rivestono i dotti biliari intraepatici di piccolo e medio calibro sono danneggiate con meccanismo immunomediato. La progressiva distruzione delle cellule epiteliali biliari conduce a fibrosi e cirrosi epatica. In realtà, a dispetto dell'eponimo, solo pochi pazienti evolvono in cirrosi; la maggior parte convive con un danno epatico di variabile entità<sup>1</sup>.

La malattia interessa prevalentemente le donne (rapporto donna/uomo: 9:1). L'età media di insorgenza è 50 anni, ma può variare tra i 20 e i 90 anni. I più aggiornati dati epidemiologici riportano un'incidenza annuale di 30 casi per milione abitanti, con una prevalenza di 400 soggetti per milione<sup>2</sup>.

La patogenesi è sicuramente multifattoriale e coinvolge fattori genetici e ambientali la cui interazione caratterizza non solo l'insorgenza ma anche il decorso della malattia.

Una predisposizione genetica all'autoimmunità nella PBC è stata associata con alleli dei loci MHC, anche se con differenze in diverse popolazioni: gli aplotipi DR3, DR8 e DR4 sono più frequenti nella popolazione bianca, mentre DR2 e DR8 sono più frequenti nella popolazione giapponese.

Il fatto poi che la PBC sia nettamente più prevalente nella popolazione femminile, così come avviene per la maggior parte delle malattie autoimmuni, suggerisce che pos-

sa essere coinvolta anche un'interazione genetica a carico del cromosoma X. L'importanza della componente genetica è inoltre confermata da un'elevata incidenza della malattia in ambito familiare e da una elevata concordanza nei gemelli monozigoti<sup>2</sup>.

Un significativo progresso nella definizione della PBC come malattia autoimmune è stata la scoperta della sua associazione specifica con anticorpi anti-mitochondri (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 subunità E2 del complesso piruvato deidrogenasi (PDC-E2)<sup>3</sup>.

Oltre agli autoanticorpi, la PBC è caratterizzata anche dalla presenza di cellule T e B autoreattive, rivolte contro l'antigene PDC-E2. L'indagine immunistochemica evidenzia infatti la presenza di linfociti T CD4 e CD8 negli spazi portali e periportali. Anche molecole di adesione come ICAM-1, che sono espresse nelle zone di danno epiteliale, possono partecipare alla patogenesi della PBC.

Per quanto riguarda i fattori ambientali, vi sono consistenti evidenze che nella patogenesi della malattia giochi un ruolo decisivo come fattore scatenante l'esposizione a sostanze chimiche o ad agenti microbici non ancora ben definiti, in grado di causare la rottura della tolleranza immunologica verso selfantigeni con meccanismo di somiglianza molecolare. Tra gli agenti infettivi responsabili di crossreattività con selfantigeni mitocondriali di volta in volta chiamati in causa, figurano *Escherichia coli*, *Helicobacter sp* e *Chlamydia pneumoniae*, e un retrovirus in grado di indurre l'espressione della subunità E2 del complesso della piruvato deidrogenasi da parte dei colangiociti.

L'ipotesi oggi prevalente è dunque che la PBC sia causata da modificazioni post-traslazionali di autoantigeni mitocondriali indotte da fattori ambientali, in individui geneticamente predisposti. Rimane tuttavia ancora da spiegare perché, pur essendo gli antigeni mitocondriali presenti in quasi tutte le cellule dell'organismo, la malattia si manifesta con danno ristretto alle sole cellule epato-biliari.

Dal punto di vista istologico, la tipica lesione della PBC è la colangite cronica non suppurativa dei dotti biliari di piccolo e medio calibro. Il fegato non è quasi mai interessato in maniera uniforme, e vengono riconosciuti quattro stadi di severità e progressione del danno epatico: lo stadio 1 è caratterizzato da flogosi degli spazi portali; lo stadio 2 da

un'estensione della flogosi al parenchima adiacente gli spazi portali; nello stadio 3 compare la fibrosi e infine, nello stadio 4, la cirrosi.

La diagnosi di PBC si basa sulla presenza di almeno due dei tre criteri seguenti: 1) aumento persistente (>6 mesi) della fosfatasi alcalina sierica, superiore a 1.5 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento; 2) AMA a titolo >1:40; 3) biopsia epatica con quadro istologico compatibile. La presenza di tutti tre i criteri è necessaria per una diagnosi di PBC definitiva, mentre se sono presenti solo due criteri la diagnosi di PBC è probabile.

E' importante sottolineare che il 5% circa dei soggetti con PBC è AMA negativo<sup>4</sup>. Se da un lato questo sottogruppo di pazienti pone ardui problemi diagnostici (ritardata o mancata diagnosi di PBC), i parametri clinici (età, sintomatologia, durata di malattia) e biochimici, il decorso e la risposta al trattamento dei pazienti AMA negativi non differiscono da quelli dei pazienti AMA positivi<sup>5</sup>.

I sintomi più comuni sono l'astenia e il prurito. All'esame obiettivo possono essere riscontrati iperpigmentazione cutanea, epatosplenomegalia e xantelasmi. La comparsa di ittero di solito corrisponde ad uno stadio avanzato della malattia, ma nel 20% dei casi può essere un segno precoce.

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. Nei pazienti AMA positivi asintomatici e con un profilo biochimico normale, la progressione è lenta. Di questi pazienti, il 40-60% diventa sintomatico entro 5-7 anni. Negli stadi avanzati, come conseguenza della prolungata colestasi, possono comparire malassorbimento, iperlipemia, acidosi tubulare e osteopenia. Possono inoltre svilupparsi le complicanze della cirrosi e dell'ipertensione portale: ascite, varici ed encefalopatia epatica. In generale, la sopravvivenza media dalla diagnosi è di 7 anni e mezzo per i pazienti sintomatici e di 16 anni per i soggetti asintomatici.

### **Alterazioni biochimiche nella PBC**

Le più importanti alterazioni biochimiche consistono in un aumento della fosfatasi alcalina e, più moderatamente, di gammaGT e transaminasi. Inizialmente la bilirubina è nella norma, per poi alzarsi con il progredire della malattia. 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. Anche le immunoglobuline sieriche, in particolare le IgM, sono caratteristicamente molto elevate.

### **Anticorpi anti-mitocondri (AMA)**

Gli AMA sono il marcatore immunosierologico più sensibile e più specifico di PBC, essendo riscontrabili ad alto titolo 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 M9. 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. L'antigene M2 consta in realtà di diversi autoantigeni che fanno parte del complesso strutturale dell'enzima 2-ossiacido-deidrogenasi<sup>3</sup>, a cui corrispondono differenti tipi anticorpali per lo più non cross-reagenti. Gli anticorpi rinvenibili con maggior frequenza sono quelli diretti contro la subunità E2 dell'enzima piruvato deidrogenasi (PDC-E2) e in particolare verso la subunità da 74 kDa (E2-acetiltransferasi) e con minor frequenza verso le subunità E1 $\alpha$  e E1 $\beta$ . Anticorpi verso la proteina X (56 kDa), che fa parte anch'essa del complesso PDC, crossreagiscono con i precedenti anticorpi probabilmente per la presenza di epitopi comuni, per cui la loro frequenza non è facilmente dimostrabile e la rilevanza diagnostica è scarsa. Altri due anticorpi con specificità per la subunità E2 da 52 kDa del *branched-chain* chetoacido deidrogenasi (BCOADC) e per la subunità E2 da 48 kDa del complesso ossiglutarico deidrogenasi (OGDC) sono rilevabili rispettivamente nella metà e nei due terzi dei pazienti con PBC. Tutte queste molecole hanno una struttura comune con residui di acido lipoico nell'estremità N-terminale.

Gli AMA sono rilevabili con il metodo di 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, di line immunoassay (LIA) o immunoenzimatici (ELISA).

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).

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 anticellule parietali gastriche che, per l'appunto, reagiscono solo con le cellule parietali. Inoltre, sempre su rene di ratto, ci possono essere positività fluoroscopiche che non devono essere confusi con gli AMA, quali i quadri dovuti alla presenza di anticorpi anti-LKM e anti-ribosomi. In questi casi è necessario osservare rispettivamente se vi è fluorescenza a livello del tessuto epatico e dello stomaco. Nel fegato gli AMA presentano un aspetto più grossolanamente granulare rispetto a quello degli anti-LKM in cui la fluorescenza è più fine e molto più intensa. Nello stomaco la positività da anticorpi anti-ribosomi provoca fluorescenza delle cellule principali ma non delle cellule parietali.

L'analisi contestuale di tutti tre i principali tessuti (rene, fegato e stomaco) consente in genere una corretta interpretazione del quadro sierologico.

Sulle cellule HEP-2 la presenza di anticorpi anti-mitocondri è caratterizzata da una fluorescenza citoplasmatica a granuli irregolari, con rinforzo in sede perinucleare. E' bene sottolineare come il riscontro di un quadro di fluorescenza citoplasmatica granulare possa suggerire la presen-

za di AMA ma non possa essere considerato specifico. In tutti i casi di fluorescenza citoplasmatica è perciò necessario confermare il sospetto diagnostico mediante l'utilizzo di metodi più specifici come ELISA o dot-blot che utilizzino l'antigene M2 come substrato. L'IFI su tessuto renale ed epatico non è un buon metodo di conferma perché vi sono sieri che risultano positivi (veri positivi) solo in ELISA o dot-blot e negativi su tessuti murini.

La maggior parte degli anticorpi anti-M2 appartiene alla classe IgG con una caratteristica restrizione per le IgG<sub>3</sub>, ma vi è un 13-20% di casi in cui essi sono esclusivamente di classe IgM. Nella ricerca degli AMA è perciò opportuno utilizzare coniugati anti-IgG e IgM per ottenere una migliore sensibilità diagnostica.

Né la concentrazione né l'isotipo degli AMA si associano alla gravità di malattia o ne predicono il decorso, per cui il monitoraggio in IFI nei soggetti con PBC non è ritenuto né utile né necessario.

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 attiva e, occasionalmente, nelle epatiti da farmaci (alotano, clorpromazina, sulfona-mide).

Diversi studi hanno dimostrato che gli AMA possono comparire durante la fase asintomatica di malattia e prima che vi siano segni biochimici di danno epatico. 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<sup>6</sup>.

### Anticorpi anti-MIT3

I tre principali epitopi immunodominanti riconosciuti dagli AMA (PDC-E2, BCOADC-E2 e OGDC-E2) sono stati di recente clonati e combinati in un unico test ELISA, il cui antigene è stato denominato MIT3<sup>7</sup>. I primi risultati indicano che la sensibilità diagnostica degli anticorpi anti-MIT3 determinati in ELISA è superiore a quella degli AMA con metodo IFI su tessuto renale e che la specificità è uguale (~98%). In effetti, l'impiego di antigeni ricombinanti multipli consente di evidenziare un 7-8% di soggetti con PBC che risultano AMA-negativi in IFI<sup>8</sup>. Oltre alla maggiore sensibilità diagnostica, il vantaggio del metodo ELISA con antigene MIT3 rispetto all'IFI è che è automatizzabile, riproducibile e il risultato può essere espresso in valore quantitativo continuo.

### 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 su cellule HEp-2 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, PML e *small ubiquitin-like modifier*).

Il pattern anti-lamina si caratterizza per la fluorescenza lineare della membrana nucleare, per lo più in assenza di positività del nucleo. Il pattern *multiple nuclear dots* è caratterizzato dalla fluorescenza di 5-20 punti di dimensioni variabili, distribuiti all'interno del nucleo ma non nel nucleo

lo. Il quadro non va confuso con quello anti-centromero per il minor numero di punti fluorescenti e perché le regioni cromosomiche delle cellule in metafase sono negative.

Molto recentemente, si sono resi disponibili alcuni metodi ELISA che utilizzano antigeni Sp100 e gp210 purificati per la rilevazione dei relativi anticorpi. Gli studi preliminari<sup>8-10</sup> hanno dimostrato che esiste una quota (1-3%) di pazienti con PBC AMA negativi in IFI e MIT3 negativi in ELISA, che è positiva solo per gp210 o per Sp100 e che la ricerca di questi anticorpi è in grado di aumentare la sensibilità diagnostica dei test immunologici per la diagnosi di PBC.

La positività per anticorpi anti-gp210 o anti-Sp100, che può essere sospettata osservando in IFI su cellule HEp-2 la fluorescenza della lamina nucleare o di tipo *nuclear dots*, dovrebbe essere sempre confermata impiegando metodi (dot-blot, LIA o ELISA) dotati di maggiore specificità analitica rispetto all'IFI.

### Anticorpi anti-centromero

All'incirca il 10% dei pazienti con PBC presenta anticorpi anti-centromero con specificità verso l'antigene CENP-B, associato con la sclerosi sistemica. Benché la sclerosi sistemica possa essere in qualche caso associata a PBC, nella maggior parte dei casi in cui si osserva la presenza di anticorpi anti-centromero, tale associazione non è presente e non si manifesta nel decorso della malattia. Il motivo per cui questi anticorpi siano presenti in un sottogruppo di pazienti con PBC che non svilupperanno mai manifestazioni cliniche di sclerosi sistemica non è noto. In ogni caso, il riscontro di anticorpi anti-centromero, oltre alla sclerosi sistemica, deve far sospettare la PBC e includerla nella diagnosi differenziale.

### Anticorpi anti-muscolo liscio

ASMA a basso titolo ( $\leq 1:40$ ) possono essere riscontrati nel 10-20% dei soggetti con PBC senza particolare significato clinico. Viceversa, la loro presenza ad alto titolo può essere indicativa della presenza di una sindrome overlap PBC-epatite autoimmune di tipo 1 che, a seconda dell'età della popolazione studiata e dei criteri diagnostici impiegati, ha una frequenza compresa tra il 10 e il 50%<sup>1</sup>.

### Colangite sclerosante primaria

La colangite sclerosante primaria (PSC) è una rara causa di affezione epatica cronica caratterizzata dalla infiammazione e dalla fibrosi obliterativa dei dotti biliari intra ed extra-epatici. Progressivamente la fibrosi si estende al tessuto epatico, seguita da cirrosi e infine da morte per insufficienza epatica.

In base ai pochi dati disponibili, la prevalenza della malattia per milione di persone è stimata tra i 2 casi in Spagna e i 130 casi negli USA con un picco di incidenza tra i 30 e i 40 anni<sup>1</sup>. Non ci sono dati certi per l'Italia. La malattia è prevalente nel sesso maschile.

Oltre all'interessamento dei dotti biliari di grosso calibro anche extraepatici, la PSC si distingue dalla PBC anche per la forte associazione con le malattie infiammatorie croniche intestinali, ovvero il morbo di Crohn e la rettocolite

ulcerosa (RCU). Circa l'80% dei casi di PSC si ritrova associata ad una delle due malattie intestinali, in misura molto più frequente con la RCU (questa associazione è otto volte più frequente di quella con il Crohn). Pertanto, sia che il sospetto diagnostico sia di PSC o di RCU o Crohn, va attentamente ricercata anche l'altra malattia, rispettivamente a carico dell'intestino o del fegato. Le principali differenze cliniche tra PSC e PBC sono illustrate in Tabella I.

La patogenesi della PSC non è chiara. Una predisposizione su base genetica è molto probabile dato che i parenti di primo grado di soggetti con PSC hanno un rischio 100 volte superiore di sviluppare la malattia rispetto alla popolazione generale. Inoltre, nei soggetti con PSC vi è un'aumentata prevalenza di alcuni aplotipi HLA, in particolare di *DRB1\*0301-DQB1\*0201*.

Probabilmente la relazione con la rettocolite ulcerosa è importante e forse decisiva nella genesi della PSC. Il danno iniziale ai dotti biliari potrebbe essere dovuto ad infezioni intestinali o all'assorbimento intestinale di prodotti del metabolismo batterico in soggetti geneticamente predisposti e con una mucosa intestinale alterata. Nei ratti da esperimento, una aumentata carica batterica intestinale porta allo sviluppo di PSC.

La visione più moderna è che si possa trattare di una malattia autoimmune, anche se atipica. Questa possibilità viene suggerita da diversi fattori: a) la condivisione di alcuni aplotipi HLA (B8 e DR3) con altre malattie autoimmuni; b) la presenza di numerosi autoanticorpi sierici, anche se nessuno specifico; c) la stretta associazione con le malattie infiammatorie autoimmuni dell'intestino; d) l'infiltrato linfocitario periportale. Di contro, la malattia è prevalente

nel sesso maschile e non risponde al trattamento immunosoppressore.

In fase iniziale, fino al 50% dei pazienti può essere asintomatico presentando solo un'alterazione dei parametri biochimici; nell'altra metà dei casi, i pazienti possono lamentare prurito diffuso, astenia, febbre di origine sconosciuta, ittero sclerale o perdita di peso. Alcuni pazienti possono invece già all'esordio presentare tutto il corredo sintomatologico proprio della malattia epatica cronica o della cirrosi. All'incirca il 50% dei pazienti ha epatomegalia e il 30% splenomegalia all'esordio.

Il decorso clinico non è univoco: alcuni pazienti rimangono asintomatici e senza complicazioni per molti anni; altri invece hanno decorso rapidamente evolutivo. La fase terminale è caratterizzata da una cirrosi scompensata con ipertensione portale, ascite e insufficienza epatica.

La diagnosi si basa sui segni biochimici di colestasi che sono in genere il primo segno della malattia nei soggetti asintomatici e sul riscontro di stenosi e allargamenti multifocali evidenziati mediante colangiopancreatografia per via endoscopica o in risonanza magnetica nucleare.

La diagnosi è anche supportata dal reperto biotipico epatico che mostra la proliferazione dei dotti biliari, la fibrosi periduttale, l'infiammazione e la scomparsa dei dotti biliari. Con il progredire della malattia, la fibrosi si estende dalle regioni portali e, alla fine, causa una cirrosi biliare.

#### Autoanticorpi nella PSC

Nel siero di pazienti con PSC si possono ritrovare numerosi anticorpi, nessuno dei quali è tuttavia dotato di sufficiente sensibilità e specificità per essere clinicamente utile.

**Tabella I.** Principali caratteristiche cliniche distintive della PBC e della PSC.

Aspetti clinici	PBC	PSC
Interessamento dotti biliari	piccolo calibro	piccolo-grande calibro
Sede	intraepatici	intra ed extraepatici
Sesso prevalente	90% donne	65% uomini
Età	30-60	20-40
Incidenza (casi per milione/anno)	30	10
Prevalenza (casi per milione)	400	130
Asintomatici alla diagnosi	60%	40%
Prurito all'esordio	80%	70%
Astenia all'esordio	70%	90%
Febbre all'esordio	1%	30%
Ittero all'esordio	10%	40%
Epatomegalia all'esordio	30%	50%
Splenomegalia all'esordio	25%	30%
Iperpigmentazione cutanea	50%	25%
Xantomi	15%	4%
Colangite batterica	assente	15%
Rettocolite ulcerosa	assente	80%
Sindrome secca	65%	<2%
Tiroiditi	>15%	<2%
Epatocarcinoma	raro	assente
Colangiocarcinoma	<1%	7-15%

**Tabella II.** Principali parametri biochimici e anticorpali nella PBC e nella PSC (*AMA*, anticorpi anti-mitocondri; *ANA*, anticorpi anti-nucleo; *MND*, multiple nuclear dots; *ANCA*, anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili; *ASMA*, anticorpi anti-muscolo liscio; *AIH*, epatite autoimmune).

Parametri biochimici	PBC	PSC
Fosfatasi alcalina	Aumento significativo nel 100% dei casi	Aumento significativo nel 100% dei casi
$\gamma$ GT	Marcato aumento stabile	Aumentata e fluttuante
Transaminasi	Normali (fase iniziale) o stabilmente aumentate	Normali (fase iniziale); fluttuanti
Albumina	Normale o leggermente diminuita negli stadi iniziali; cala progressivamente con il progredire del danno epatico	Normale o leggermente diminuita negli stadi iniziali; cala progressivamente con il progredire del danno epatico
Bilirubina	Aumento progressivo, prevalentemente di tipo coniugato	Aumento progressivo, prevalentemente di tipo coniugato
IgM	Aumentate nel 80-90%	Aumentate nel 50%
Colesterolo	Da moderato a notevole aumento	Da moderato a notevole aumento
Trigliceridi	Moderato aumento nelle fasi avanzate	Aumento marcato e persistente nelle fasi avanzate
Rame (siero/urine)	Aumentato	Aumentato
Ceruloplasmina	Aumentata nel 90% dei casi	Aumentata
Tempo di protrombina	Da normale a fortemente allungato a seconda del danno epatico	Da normale a fortemente allungato a seconda del danno epatico

**Parametri anticorpali**

AMA	90%	assenti
ANA	assenti	11%
ANA MND o rim-like	25-30%	assenti
ANCA	assenti	85% (P-ANCA)
ASMA	10-20% (overlap con AIH)	10-15%
Anti-centromero	10-15%	assenti

Gli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA) con pattern P atipico si ritrovano fino al 90% dei pazienti con PSC, probabilmente come segno della contestuale presenza di RCU. Anticorpi anti-nucleo (ANA) sono presenti all'incirca nel 11% dei casi e anticorpi anti-muscolo liscio (ASMA) nel 25%. Anche in questi casi, una sovrapposizione sia clinica che istologica con l'epatite autoimmune (overlap syndrome) è stata descritta. Diversamente dalla PBC, nella PSC gli anticorpi anti-mitocondri sono sempre negativi.

Altri anticorpi meno frequenti sono quelli anti-colon, anti-cardiolipina, anti-tireoperossidasi e il fattore reumatoide. Inoltre, il 25% circa dei soggetti con PSC ha almeno un'altra malattia autoimmune che non interessa il fegato o il colon, per cui è possibile riscontrare la presenza di altri autoanticorpi correlati alla patologia autoimmune associata. Esistono infine autoanticorpi rivolti verso antigeni di superficie delle cellule dell'epitelio biliare che però non vengono abitualmente ricercati nei laboratori clinici.

**Alterazioni biochimiche nella PSC**

I test di laboratorio evidenziano quasi sempre e perciò anche nei soggetti asintomatici un aumento consistente della fosfatasi alcalina, della gammaGT e, in minor misura, delle transaminasi. Come nella PBC, anche nella PSC i livelli di bilirubina sono normali nelle fasi iniziali e tendono progressivamente ad aumentare man mano che la malattia progredisce e aumenta il grado di occlusione dei dotti.

L'albumina, normale all'inizio, tende invece a diminuire col passare del tempo. Possono essere presenti anche aumentati livelli di rame plasmatico e urinario e di ceruloplasmina nel sangue. Ipergammaglobulinemia di tipo IgM è presente nel 50% dei casi. In Tabella II sono riassunte le principali caratteristiche biochimiche e anticorpali delle due malattie colestatiche.

Il rischio di sviluppare un colangiocarcinoma è molto maggiore nei soggetti con PSC rispetto alla popolazione generale, dal momento che si verifica nel 7-15% dei pazienti.

La terapia di supporto è indicata per i sintomi della colestasi cronica e per le complicanze della cirrosi. Le colangiti batteriche ricorrenti sono trattate, se necessario, con una terapia antibiotica. L'acido ursodesossicolico può ridurre il prurito e migliorare i parametri biochimici, ma non ha dimostrato di poter alterare la storia naturale della malattia. Il trapianto di fegato è la sola terapia risolutiva. La sopravvivenza è infatti molto buona, essendo del 90% a cinque anni e del 70% a dieci anni dal trapianto.

**Bibliografia**

1. Invernizzi P. Geoepidemiology of autoimmune liver diseases. *J Autoimmun* 2010; 34:J300-6.
2. 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.

3. 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.
4. Hirschfield GM, Heathcote EJ. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis. *Clin Liv Dis* 2008; 12:323-31.
5. Invernizzi P, Crosignani A, Battezzati PM, Covini G, De Valle G, Larghi A, et al. Comparison of the clinical features and clinical course of antimitochondrial antibody-positive and -negative primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1997; 25:1090-5.
6. 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.
7. Moteki S, Leung PSC, Coppel RL, Dickson ER, Kaplan MM, Munoz S, et al. Use of a designer triple expression hybrid clone for three different lipoyl domains for the detection of antimitochondrial autoantibodies. *Hepatology* 1996; 24:97-103.
8. Bizzaro N. La cirrosi biliare primitiva: aspetti clinici e diagnostici. *RIMeL/IJLaM* 2008; 4:152-7.
9. Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, et al. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:431-7.
10. Granito A, Muratori P, Muratori L, Pappas G, Cassani F, Worthington J, et al. Antinuclear antibodies giving the "multiple nuclear dots" or the "rim-like/membranous" patterns: diagnostic accuracy for primary biliary cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:1575-83.