



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

# Avaluació dels nous anticossos antihexocinasa 1 i anti-proteïna kelch-like 12 pel diagnòstic i pronòstic de la colangitis biliar primària

Anna Reig Garcia

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# Avaluació dels nous anticossos antihexocinasa 1 i anti-proteïna kelch-like 12 pel diagnòstic i pronòstic de la colangitis biliar primària.

**Memòria de la tesis doctoral presentada per** Anna Reig Garcia

Per optar al Grau de Doctor per la Universitat de Barcelona.

Dirigida per Albert Parés Darnaculleta, catedràtic de medicina de la Universitat de Barcelona.

Programa de Doctorat Medicina i Recerca Translacional Facultat de Medicina i Ciències de la Salut. Universitat de Barcelona.

Barcelona, agost 2021



**Albert Parés Darnaculleta** catedràtic de medicina de la Universitat de Barcelona i metge consultor sènior del servei d'hepatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona.

CERTIFICA  
Que la tesis doctoral

“Avaluació dels nous anticossos antihexocinasa 1 i anti-proteïna kelch-like 12 pel diagnòstic i pronòstic de la colangitis biliar primària.”

Presentada per Anna Reig Garcia per a optar al grau de Doctora, ha estat realitzada sota la seva direcció i que compleix tots els requisits necessaris per a ser defensada davant del tribunal corresponent.



Albert Parés Darnaculleta



Anna Reig Garcia

## AGRAÏMENTS

Al meu director de tesis que m'ha obert de bat a bat les portes al món de la investigació i de les malalties autoimmunitàries, amb el que he après molt i sense el que tot aquest període que plasmo en la tesis no hauria estat possible.

I would also like to express my gratitude to my coauthors from the Pomeranian Medicine University, Medical University of Warsaw, University of Calgary, University of Alberta, Hospital Universitario de Salamanca and specially from Innova Diagnostics and the immunology department from Hospital clinic. My sincere gratitude to Dr. Gary Norman, the completion of this study could not had been possible without his expertise.

El doctorat està format per dos articles, però el procés de recerca que reflecteix ha inclòs altres projectes no menys importants. La majoria d'ells han estat possibles gràcies al treball multicèntric i per tant a la col·laboració de molts altres investigadors, moltes gràcies també a tots ells.

En especial, un agraïment molt profund als meus pares que m'han ajudat i donat suport en tot moment en el doctorat i en la vida. També al meu germà que m'ha ajudat a valorar de forma objectiva cada moment i avançar, no per la inèrcia del pes dels costos enfonsats, sinó per elecció pròpia. I també al Jordi que s'ha esforçat a contagiar-me el seu optimisme i plaer per aprendre, sense el qual el pes de l'últim període del doctorat hagués estat molt més intens.

Gracias a Eira con quien los congresos tienen calidez además de ciencia. Moltes gràcies també al Pau, al Didac i als amics i amigues que sempre són a prop.

## ÍNDEX

Glossari	06
1. Enumeració d'articles que componen la tesi	09
2. Introducció	
2.1 Epidemiologia de la colangitis biliar primària	11
2.2 Factors que predisposen i possibles desencadenants de la malaltia	12
2.2.1 Factors genètics	12
2.2.2 Comorbiditats autoimmunes	12
2.2.3 Factors ambientals	13
2.3 Fisiopatologia i histologia	13
2.3.1 Immunobiologia i fisiopatogènia	13
2.3.2 Histologia	18
2.4 Diagnòstic i curs clínic	19
2.4.1 Diagnòstic	20
2.4.1.1 Autoanticossos	20
2.4.1.1.1 Antimitocondrials	20
2.4.1.1.2 Antinuclears específics	21
2.4.1.1.2.1 Anticossos anti-gp210	22
2.4.1.1.2.2 Anticossos anti-sp100	24
2.4.1.1.3 Nous anticossos	26
2.4.2 Progressió	27
2.4.2.1 Fase asimptomàtica	27
2.4.2.2 Fase simptomàtica	28
2.4.2.3 Fase tardana	31
2.5 Marcadors del pronòstic de la malaltia	33
2.5.1 Paràmetres analítics	33
2.5.2 Models matemàtics	34
2.5.3 Valor pronòstic en relació al tractament amb AUDC	35
2.5.4 Marcadors de fibrosis	38
2.6 Tractament	39
2.6.1 Tractament de primera línia: àcid ursodesoxicòlic	40
2.6.2 Tractament de segona línia: àcid obeticòlic	41

2.6.3	Tractaments no aprovats	43
2.6.3.1	Fibrats	43
2.6.3.1.1	Bezafibrat	43
2.6.3.1.2	Fenofibrat	44
2.6.3.2	Immunosupressors	45
2.6.3.2	Tractaments en desenvolupament	46
3.	JUSTIFICACIÓ I HIPÒTESIS	47
4.	OBJECTIUS	50
5.	MATERIAL, MÈTODES I RESULTATS	51
5.1	Primer article	51
5.1.1	Resum del article	51
5.1.1.1	Introducció	51
5.1.1.2	Mètodes	52
5.1.1.3	Resultats	52
5.1.2	Copia del estudi	54
5.2	Segon article	55
5.2.1	Resum del article	55
5.2.1.1	Introducció	55
5.2.1.2	Mètodes	56
5.2.1.3	Resultats	56
5.2.2	Copia del estudi	58
6.	DISCUSSIÓ	59
7.	CONCLUSIONS	67
7.1	Sumari de les conclusions	67
7.2	Conclusions finals	69
8.	BIBLIOGRAFIA	70
9.	ANNEXES	94
8.1	Publicacions científiques generades durant la tesis	94
8.2	Publicacions que han fet referència als articles objecte d'aquesta tesis	96

## GLOSSARI:

**ADN:** àcid desoxiribonucleic.

**ALT:** alanina aminotransferasa.

**AMA:** anticossos antimitocondrials.

**ANA:** anticossos antinuclears.

**ANOVA:** anàlisi de la variància (del anglès *analysis of variance*).

**Anti-gp210:** anticossos contra la glicoproteïna del porus nuclear 210.

**Anti-sp100:** anticossos contra l'autoantigen nuclear Sp100.

**Anti-sp140:** anticossos contra la proteïna del cos nuclear sp140.

**AOC:** àcid obeticòlic.

**AST:** aspartat-aminotransaminasa.

**AUDC:** àcid ursodesoxicòlic.

**BCN:** índex de resposta a AUDC.

**BCOAD:** complex de cadena ramificada 2-oxoàcid deshidrogenasa (de l'anglès *branched chain 2-oxo acid dehydrogenase complex*).

**CBP:** colangitis biliar primària.

**CEP:** colangitis esclerosant primària.

**Corba ROC:** representació de sensibilitat versus especificitat (del anglès *receiver operating characteristic*).

**Criteri Barcelona:** criteri de resposta de pacients amb CBP tractats amb UDCA definit com normalització de la FA o descens de la FA superior al 40% al any de tractament respecte al inici del tractament.

**Criteri Paris I:** criteri de resposta de pacients amb CBP tractats amb UDCA definit com a FA inferior a 3 LSN, AST menor a 2 LSN i la bilirubina igual o inferior a 1mg/dL al any de tractament.

**Criteri Paris II:** criteri de resposta de pacients amb CBP tractats amb UDCA definit com a FA i AST menors o iguals a 1.5 LSN i bilirubina normal al any de tractament.

**Criteri POISE:** criteri de resposta de pacients amb CBP tractats amb UDCA i AOC. Definit com a disminució de la fosfatasa superior a 15%, essent inferior a 1,67 vegades la normalitat addicionalment a la normalització de la bilirubina al any de tractament.

**Criteri Rotterdam:** criteri de resposta de pacients amb CBP tractats amb UDCA definit com a normalització de l'albumina i/o bilirubina al any de tractament .

**Criteri Toronto:** criteri de resposta de pacients amb CBP tractats amb UDCA definit com a FA als dos anys de tractament inferior o igual a 1.67 LSN.

**ELISA:** assaig d'unió immunoabsorció associada a un enzim (de l'anglès *enzyme-linked immunosorbent assay*).

**ET:** elastografia hepàtica transitòria transparietohepàtica.

**FA:** fosfatasa alcalina.

**FDA:** agència pública d'administració d'aliments i medicaments d'Estats Units d'Amèrica (del anglès *food and drug administration*).

**GGT:** gamma glutamil transpeptidasa.

**GLOBAL:** índex sorgit del grup internacional d'estudi de la CBP: *GLOBAL Pbc study group*.

**HAI:** hepatitis autoimmunitària.

**HDL:** lipoproteïnes d'alta densitat HDL (del anglès *High Density Lipoprotein*).

**HK1:** proteïna Hexocinasa 1.

**HLA:** antigen leucocitari humà.

**IgM:** Immunoglobulina M.

**Índex APRI:** índex fruit de dividir AST dividit pel número de plaquetes (del anglès *AST platelets ratio index*).

**Índex Mayo:** índex basat en una fórmula matemàtica que permet estimar supervivència lliure de trasplantament hepàtic dels pacients amb CBP segons criteris clínics i analítics.

**INR:** índex internacional normalitzada (de l'anglès *International Normalized Ratio*).

**IQR:** rang interquartílic (del anglès *interquartile range*).

**KLHL12:** proteïna Kelch-like 12.

**LDL:** lipoproteïnes de baixa densitat LDL (del anglès *Low Density Lipoprotein*).

**MELD:** model predictor de malaltia hepàtica en estadi terminal (del anglès *model of end-stage liver disease*).

**MHC:** receptor d'histocompatibilitat principal (de l'anglès *Major Histocompatibility Complex*).

**NK:** cèl·lules citocides naturals (de l'anglès *natural killer*).

**OGDC:** complex 2-oxoglutarat deshidrogenasa (de l'anglès *2-oxoglutarate deshydrogenase complex*).

**PDC:** complex piruvat deshidrogenasa (de l'anglès *Piruvat dehydrogenase complex*).



**PML:** proteïna de leucèmia promielocítica PML (de l'anglès *promyelocytic leukemia antigen*).

**PPARs:** receptors del peroxisoma activats per proliferació.

**RFX:** receptor farnesoid X.

**UK-PBC:** índex sorgit de la cohort multicèntrica del Regne Unit (*UK-PBC Research cohort*).

## 1. ENUMERACIÓ DELS ARTICLES QUE COMPONEN LA TESI

Tesi en format de compendi d'articles. La tesi consta de 6 objectius, per assolir-los s'han portat a terme dos estudis:

1. Norman G N, **Reig A**, Viñas O, Mahler M, Wunsch E, Milkiewicz P et al. The prevalence of anti-hexokinase-1 and anti-kelch-like 12 peptide antibodies in patients with primary biliary cholangitis is similar in Europe and North America: a large international, multi-center study. *Front. Immunol.* 2019, 10, 662-667. Factor d'impacte: 5,085, Quartil 1, àrea de coneixement: Immunology.

Objectius que motiven l'article:

- Analitzar i comparar la prevalença dels anticossos anti-KLHL12 i anti-HK1 en pacients afectes de colangitis biliar primària (CBP) en poblacions de diferents àmbits geogràfics: Barcelona, Calgary (Canadà), Edmonton (Canadà), Salamanca i Varsòvia (Polònia).
- Determinar la prevalença de pacients amb anticossos antimitocondrials negatius en les diferents poblacions. Determinar si la prevalença dels nous anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 és similar en la població seronegativa pels antimitocondrials.

2. **Reig A**, Norman GN, Garcia M, Shums Z, Ruiz-Gaspà S, Bentow C, et al. Novel Anti-Hexokinase 1 Antibodies Are Associated With Poor Prognosis in Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol.* 2020, 115 (10) 1634-1641. Factor d'impacte: 10,864, Quartil 1, àrea de coneixement: Gastroenterology and Hepatology.

Objectius que motiven aquest article:

- Avaluar en pacients amb CBP de Barcelona la prevalença dels nous anticossos en general i de forma específica en els pacients seronegatius pels antimitocondrials.

- Estudiar la prevalença dels anticossos específics anti-sp100 i anti-gp210 en pacients de Barcelona.
- Determinar si la presència dels anticossos antinuclears específics anti-sp100, anti-gp210, anti-HK1 o anti-KLHL12 s'associen a diferent forma de presentació de la malaltia i/o tenen valor pronòstic en la CBP.
- Definir si hi ha canvis en la positivitat dels anticossos antinuclears específics de la CBP o dels anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 durant el temps i si aquests canvis tenen implicació pronòstica o relació amb l'inici del tractament.

## 2. INTRODUCCIÓ

La colangitis biliar primària (CBP) és una malaltia hepàtica que es caracteritza per l'aparició de colangitis limfocítica i ductopènia que provoca colèstasis progressiva (1) podent arribar a desenvolupar cirrosi (2).

Va ser descrita inicialment el 1851 (3,4) i anomenada cirrosi biliar primària (5,4), no obstant recentment el diagnòstic precoç i tractament han canviat el pronòstic essent actualment infreqüent el desenvolupament de cirrosi, motiu pel que des de 2015 es va consensuar el canvi de nomenclatura a colangitis biliar primària (3).

### 2.1 Epidemiologia de la CBP

La incidència oscil·la entre 0.33 i 5.8 any per 100.000 habitants i la prevalença entre els 1.91 i 40.2 per 100.000 habitants. Existeix una important variabilitat segons l'àrea estudiada, clàssicament es considerava una malaltia primàriament nord-europea i nord-americana amb alta prevalença al Regne Unit i Canadà essent menys freqüent a Àsia (6). No obstant, estudis més recents situen la prevalença al sud d'Europa: Grècia (7) i Itàlia (8), i a Àsia: Japó (9) i sud de Xina (10) comparable a Regne Unit o Estats Units (11). La prevalença s'ha descrit inferior a Nova Zelanda (12), Corea del Sud (13) i Hong-Kong (14).

S'ha reportat un augment de la prevalença global (10-11,15), mentre que la incidència en alguns estudis és estable (16-18) suggerint que aquest augment de la prevalença podria estar en relació a la milloria del tractament i de l'esperança de vida; en d'altres estudis també la incidència mostra augment en els últims anys (19-20).

A Espanya, l'any 2018, la incidència es va estimar entorn a 0,5 i 3,9 per cada 100.000 habitants basat en un estudi seguint el mètode Delphi (21). Un estudi anterior realitzat a Catalunya reporta una prevalença de 19,5 per 100.000 habitants i una incidència de 1,72 el 2002 amb una tendència al increment d'ambdues (19).

## 2.2 Factors que predisposen i possibles desencadenants de la malaltia

### 2.2.1 Factors genètics

Estudis en bessons monozigots (22) i familiars de primer grau han mostrat associació familiar en la CBP (23-24) que posteriorment s'ha analitzat en estudis genètics.

La proteïna HLA (antigen leucocitari humà) és responsable de la presentació dels antígens al sistema immunitari i per tant clau en l'adquisició de tolerància i resposta immune a tumors i patògens (25-26). Múltiples variants d'aquesta proteïna han mostrat un augment o disminució del risc de desenvolupar CBP (27). En l'estudi realitzat en població del nostre medi l'al·lel DRw3 s'associava a un increment del risc (28). No obstant, variacions en les troballes entre investigacions de diferents països suggereixen que el rerefons genètic és altament variable entre diferents grups ètnics i poblacions (22).

La seqüenciació completa del genoma humà, ha donat lloc a estudis d'associació de genoma complet (GWA) que han identificat associacions de la CBP amb polimorfismes de la interleuquina 12 (29-30) i posteriorment variants de l'antigen leucocitari humà (HLA) DQB1 i DQA2 (31) així com gens implicats en la resposta innata i adaptativa emfatitzant entre d'altres la via de la diferenciació de les cèl·lules T i senyalització del interferó (28,32). No obstant, el risc individual conferit per aquests fenotips és de difícil interpretació i només permeten explicar menys del 20% dels casos familiars, suggerint la importància de factors epigenètics i del entorn (33).

### 2.2.2 Comorbiditats autoimmunes

És coneguda l'associació de la CBP a d'altres malalties autoimmunes principalment artritis reumatoide, síndrome de raynaud i Sjögren, malalties que son entre 6 i 20 vegades més freqüents en pacients amb CBP (34). Un estudi recent en el nostre medi descriu comorbiditats autoimmunitàries fins en un 40% dels pacients, essent aquestes principalment malaltia tiroïdal, síndrome de Raynaud, esclerodèrmia o CREST i síndrome de Sjögren observant-se una

tendència al llarg del temps a la disminució d'aquesta última (35). La presència d'aquestes comorbiditats no té implicació pronòstica (36-37) ni impacte en la resposta terapèutica al tractament de primera línia.

### 2.2.3 Factors ambientals

Es considera que en persones genèticament predisposades, alguns factors ambientals poden actuar com a desencadenants de la malaltia (38). La importància dels factors ambientals és evident, amb una gran variabilitat geogràfica en la prevalença, adoptant les poblacions migrades la prevalença de la zona d'acollida (39-40). També s'ha descrit un augment de la incidència en zones geogràfiques limitades en períodes concrets i amb variació estacional, fet que suggereix una relació amb causes ambientals (41-42). Alguns xenobiòtics sintètics en models animals s'han associat a la formació d'autoanticossos antimitocondrials, inclús amb desenvolupament de colangitis, no obstant, molècules similars no s'han pogut identificar en pacients (43).

Varis estudis han suggerit una relació entre l'aparició de la malaltia i l'exposició a derivats de químics (contaminants de l'aigua o volàtils, derivats de mines de carbó o antecedents de tabaquisme) (44) o productes bacterians (45-46) (infeccions d'orina de repetició (34,43,46) (47), exposició al bacteri escherichia coli (48), amb menys evidència a micobacteris (49), beta-retrovirus (50) o lactobacillus (51)). No obstant aquestes relacions no han estat confirmades ni s'ha establert una clara relació etiològica (38).

## 2.2 Fisiopatologia i histologia

### 2.3.1 Immunobiologia i fisiopatogènia

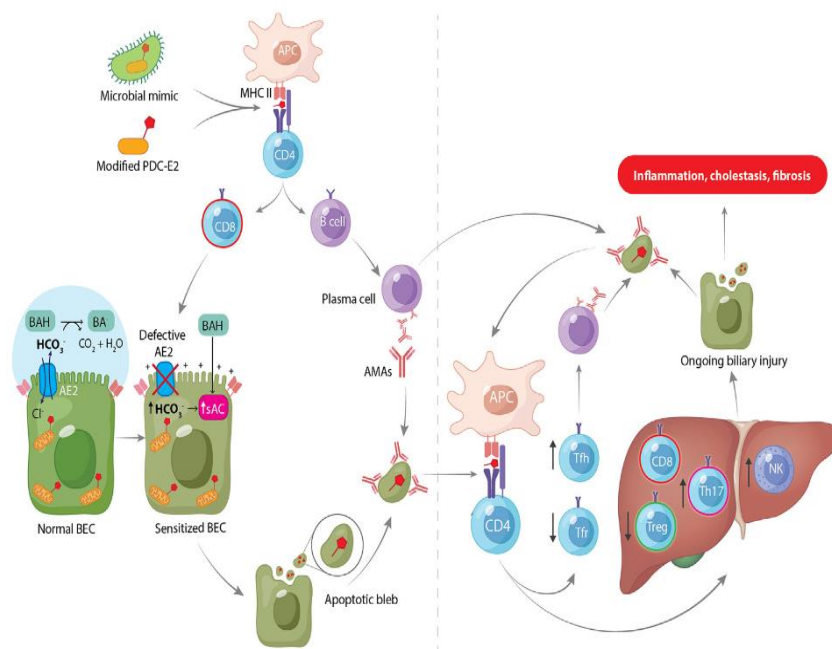
La fisiopatogènia de la CBP no és completament coneguda. Es considera una malaltia autoimmunitària donada la preponderància femenina, l'associació amb malalties

autoimmunitàries extrahepàtiques i la presència d'anticossos antimitocondrials en el 95% dels pacients.

Malgrat que la presència d'anticossos antimitocondrials sigui típic de la malaltia, no es considera que aquests siguin els desencadenants inicials de la resposta immunitària contra les cèl·lules biliars. Aquests anticossos reconeixen de forma específica dominis necessaris pel metabolisme energètic de la deshidrogenasa 2-oxoacid de la cadena respiratòria mitocondrial (E2-CPD), una molècula ubiqua en les cèl·lules del organisme. No obstant, l'activitat inflamatòria en la CBP es localitza únicament en les cèl·lules epitelials biliars. Addicionalment, hi ha individus amb aquests anticossos que no desenvolupen la malaltia, pel que probablement no són la causa única d'aquesta resposta. El fet que pacients amb CBP després de ser trasplantats de fetge desenvolupin novament la malaltia sobre un fetge sà, suggereix que no només els colangiòls estan implicats en el desenvolupament de la malaltia (52).

La teoria actualment més acceptada és que components extrínsecs podrien simular o modificar E2-CPD quan aquesta proteïna està conjugada a una molècula transportadora i activar els limfòcits CD40 al fetge (10). Aquests limfòcits activats produirien una cascada inflamatòria activant els limfòcits CD8 i limfòcits B. Segons la teoria "paraigua de bicarbonat", donat que els pacients amb CBP tenen disfunció del transportador de bicarbonat AE2, els seus colangiòcits tindrien menys bicarbonat protector essent més sensibles a la apoptosi. Aquests colangiòcits degut a la inflamació produïda i entrarien en apoptosi, produint un desequilibri entre l'activitat efectora i reguladora que mantindria la inflamació i colèstasi. La inflamació i colèstasi mantingudes en el temps activaria la fibrosi (53,54). (figura 1).

Aquesta teoria es basa en el fet que s'ha observat que els limfòcits T sensibilitzats capaços de reconèixer epítops molt similars a E2-CPD estan presents en els tractes portals en pacients amb CBP, suggerint la seva participació en el dany biliar (55-57). S'ha detectat específicament un augment del número de limfòcits CD8 i CD4 sensibilitzats contra E2-CPD en els nòduls limfàtics i hepàtics respecte en sang perifèrica i la seva presència s'ha demostrat independent de la positivitats dels anticossos antimitocondrials (58). L'aparició de forma independent als anticossos i la presència de CD8 predominantment en estadis precoços de la malaltia (59) apunta als CD4 i CD8 com l'inici de la reacció inflamatòria que posteriorment activarà els limfòcits B que sintetitzaran els anticossos típics de la malaltia (53).



**Figura 1.** La pèrdua de tolerància s'iniciaria amb components extrínsecs (bacterians per exemple) que transformarien o simularien PDC-E2 activant els limfòcits CD4 (55). Els limfòcits CD4 estimularien els limfòcits CD8 específics que produirien els anticossos típics de la malaltia i toxicitat sobre el colangiòl que en pacients amb el mecanisme de protecció de bicarbonat defectuós per disfunció de AE2 implicaria apoptosi. Aquesta apoptosi i la presència d'anticossos produiria una cascada inflamatòria hepàtica traduint-se en colèstasi i fibrosi (53).

La presència de granulomes en la histologia i l'augment de Immunoglobulina M (IgM) policlonal característiques de la malaltia suggereixen la implicació del sistema innat en la malaltia (60). Les cèl·lules citocides naturals o cèl·lules NK (de l'anglès *natural killer*) estan implicades en la malaltia amb un increment de la seva activitat citotòxica i presentant alta concentració hepàtica i en sang en pacients amb CBP respecte controls (60-61). Estudis *in vitro* han mostrat que aquestes cèl·lules NK a alta concentració són citotòxiques per les cèl·lules colangiòliars amb independència dels autoantígens. El dany en colangiòcits per part de les cèl·lules NK pot produir l'exposició de la molècula PDC-E2 als limfòcits T i B produint la generació d'autoanticossos específics (62).

La interleuquina IL-12 està relacionada amb el receptor cel·lular dels limfòcits CD4, i es creu que té un paper important en l'activació dels limfòcits CD4 i també del sistema innat (63-64).



Almenys tres gens relacionats amb IL-12 s'han relacionat amb PBC i la via d'aquesta interleuquina en models animals s'ha identificat clau pel desenvolupament de colangitis biliar (63). No obstant, la seva inhibició selectiva mitjançant l'anticòs monoclonal Ustekinumab ha mostrat només una milloria bioquímica discreta (65). També s'han descrit modificacions epigenètiques associades a aquesta via com la disminució de la metilació del promotor del lligand de CD40 en relació amb l'increment policlonal de immunoglobulina M (66).

A nivell dels colangiòcits s'ha descrit la implicació del equilibri clor bicarbonat en la progressió de malalties colestàtiques fibrosants. En persones sanes, les micel·les de fosfolípids i sals biliars així com el bicarbonat canalicular protegeix els colangiòls dels àcids biliars fortament hidrofòbics i tòxics. Aquest mecanisme s'ha anomenat "paraigua de bicarbonat" (50). El transportador biliar AE2 tindria rellevància ja que és el major transportador de Clor-bicarbonat que permet excretar bicarbonat al canalicle biliar i la seva disfunció en la CBP contribuiria a augmentar la sensibilitat del colangiòcit a l'apoptosi (5,66-67).

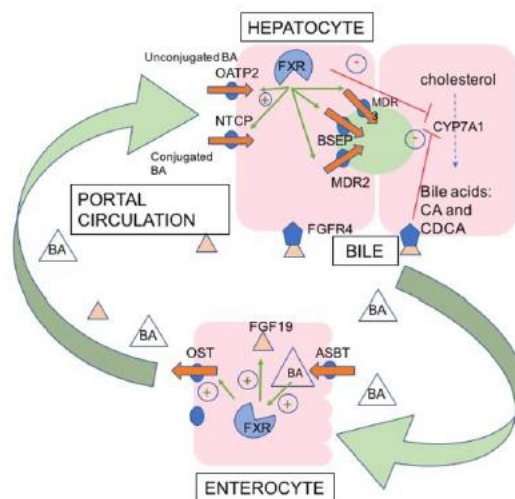
Recentment, estudis de microARN (àcid ribonucleic) han permès estudiar l'expressió gènica post transcripcional en diversos processos biològics. En la CBP s'ha identificat un augment de l'expressió del microARN miR-506 respecte a d'altres malalties colestàtiques que es relaciona amb una menor activitat i expressió de AE2 als colangiòls. Aquest microARN estimulat per citocines pro-inflamatòries estaria implicat en reduir l'expressió de AE2 (41-42). L'expressió defectiva d'AE2 seria clau en la sensibilització dels colangiòcits a la apoptosi (68-70). S'ha observat que el tractament de primera línia de la CBP, l'àcid ursodesoxicòlic (AUDC) augmenta l'expressió de AE2 disminuint la colèstasis (66-67,71).

Les cèl·lules epitelials biliars que han estat lesionades presenten signes de senescència. Aquest fenotip s'associa a presentació de citocines proinflamàtòries que mantindrien un microambient inflamatori, amb una desregulació de l'autofàgia i augment de l'estrès oxidatiu promovent la fibrosis i destrucció dels conductes biliars (72).

Adicionalment, la síntesis d'àcids biliars a nivell del hepatòcit té importància en el manteniment de la colèstasis i progressió de la malaltia. És coneguda la rellevància dels receptors nuclears implicats en el control del metabolisme lipídic: el receptor farnesoid X (RXR), la família de receptors del peroxisoma activats per proliferació (PPARs) i el receptor de

la vitamina D en la regulació de la síntesis i excreció de la sals biliars (73). Tot i que no s'ha establert una disfunció de RFX ni PPARs en la CBP, l'activació d'aquests receptors comporta una milloria no només de la colèstasis (74-75), sinó també una disminució de la fibrosis en RFX (76) essent el tractament de segona línia d'elecció i una diana prometedora per nous fàrmacs.

El receptor RFX està implicat en la interrelació entre el fetge i els enteròcits, essent present en l'hepatòcit i l'enteròcit. A nivell del hepatòcit funciona com a heterodímer amb PPARs però també amb altres receptors de la família com el receptor de la vitamina D. Està implicat en el control de la síntesis i secreció d'àcids biliars mitjançant una inhibició del enzim Cyp7a1 i activació dels transportadors ABCB11 i ABCB4 respectivament. Addicionalment, a nivell del enteròcit està implicat en induir la producció del factor de creixement fibroblast 19 (FGF19) que inhibeix la síntesis hepàtica de àcids biliars i provoca distensió vesicular (73,12) (Figura 2). També es creu implicat en el control del sobrecreixement bacterià intestinal induint gens implicats en la defensa de la mucosa intestinal contra la inflamació (77). El lligand proposat d'aquest receptor el farnesol no activa el receptor en les concentracions fisiològiques, sinó que son els àcids biliars hidrofòbics (potencialment tòxics per l'epiteli biliar) com l'àcid quenodesoxicòlic, citosòlic o desoxicòlic que activen aquest receptor disminuint l'absorció i síntesis de més àcids biliars hidrofòbics (78). El RFX és la diana del àcid obeticòlic tractament de segona línia de la CBP (74-75).



**Figura 2.** RFX està present en l'hepatòcit i l'enteròcit. A nivell del hepatòcit inhibeix Cyp7a1 disminuint la síntesis d'àcids biliars i activa múltiples transportadors d'àcids biliars que actuen estenen a llarg del canalicle biliar. A nivell del enteròcit activa el FGF19 que inhibeix la síntesis d'àcids biliars i activa transportadors d'àcids biliars al sinusoide per evitar l'acumulació tòxica al hepatòcit (79).

La família dels PPARs van ser inicialment descrits el 1990 i relacionats amb el metabolisme hepàtic. Aquests receptors formen part de la família de receptors nuclears retinoides. Funcionen com heterodímers amb els RXR (80).

Es coneixen en humans 3 isoformes dels receptors: la alfa, gamma i delta. El receptor alfa es localitza a fetge però també a múscul i ronyó. La forma delta té expressió generalitzada i la forma gamma s'expressa principalment al teixit gras, tot i que també en cèl·lules capaces d'emmagatzemar greix com els macròfags o cèl·lules estrellades d'altres òrgans incloent el fetge (79). S'han descrit efectes antiinflamatoris i antifibròtics d'aquesta última isoforma en models murins (81). Les isoformes alfa i delta estan implicades en el metabolisme dels àcids grassos i en la seva oxidació mitocondrial (46). Aquesta funció, en la isoforma alfa es realitza mitjançant l'activació de gens que codifiquen enzims metabolitzadors del grup del citocrom P450 entre els que destaca Cyp7a1 (82) i proteïnes de transport com ABCB4 (83). S'han postulat com a possibles tractaments de segona línia del bezafibrat (agonista gamma, delta i alfa) (84), el fenofibrat (agonista alfa) (85), Seladelpar (agonista delta) (86) i Elafiranor (agonista delta y alfa)(87).

### 2.3.2 Histologia

La lesió histològica característica és una colangitis crònica no supurativa crònica. L'infiltrat inflamatori està format principalment per limfòcits T, amb alguns limfòcits B, macròfags i eosinòfils. També es poden identificar granulomes epiteliais. Aquest infiltrat està localitzat predominantment a la membrana basal dels colangiòcits. Quan la inflamació periductal és intensa i s'acompanya de necrosis es defineix com a lesió ductal florida. La presència de dany biliar i agregats cel·lulars és un criteri major pel diagnòstic histològic de la malaltia (88,89).

La colèstasis és portal, freqüentment s'acompanya d'un infiltrat limfocitari i de necrosis dels hepatòcits en la zona periportal, definides com hepatitis d'interfase i necrosis fragmentada respectivament (90). La malaltia progressa amb inflamació, dipòsit de col·lagen i destrucció

progressiva dels conductes biliars. Es considera ductopènia la pèrdua de més del 50% dels conductes biliars (91).

Clàssicament per la classificació histològica de la CBP s'ha emprat el sistema de Ludwig amb 4 estadis histològics (92). Presenten estadi inicial pacients amb inflamació localitzada només a la tríada portal. El següent estadi es caracteritza per una reducció del número de conductes biliars amb una inflamació que s'estén més enllà de la tríada portal. L'estadi 3 es defineix per la presència de septes fibrosos adjacents a la tríada portal i finalment a l'estadi 4 la cirrosis està establerta (92,88). L'afectació hepàtica no és uniforme i fins i tot dins la mateixa biòpsia es poden solapar diferents estadis, en aquests casos, es considera l'estadi més avançat present en la biòpsia (93). S'ha demostrat una estreta correlació entre histologia i l'evolució natural de la malaltia (93), addicionalment la progressió histològica es veu reduïda amb tractament amb AUC (94).

En alguns pacients, no obstant, la ductopènia és severa i ràpidament progressiva en absència de fibrosi. Aquesta variant poc freqüent, es manifesta amb colèstasi intensa i menor resposta al tractament, pot aparèixer pèrdua de pes i prurit refractari en absència de cirrosis i la seva gravetat no es reflecteix en l'estadiatge de Ludwig (91).

Més recentment, s'han descrit mètodes d'estadificació histològica que tenen en consideració l'heterogeneïtat histològica. No obstant, tenen escàs valor en la pràctica clínica per la seva alta complexitat i variabilitat interobservador (95). Actualment la pràctica de biòpsia hepàtica és cada vegada menys freqüent i malgrat l'aparició d'índexs amb major simplicitat i concordança interobservador com la versió simplificada de l'escala de Nakamura (96) o l'índex FBI (97), el seu valor en la pràctica clínica no és evident (98).

## 2.4. Diagnòstic i curs clínic

### 2.4.1 Diagnòstic

El diagnòstic de la CBP s'estableix en pacients amb colèstasis bioquímica persistent (superior a 6 mesos) que presenten positivitat dels anticossos antimitocondrials o els antinuclears específics (anti-gp210 o anti-sp100), en absència d'altres etiologies.

En pacients amb comorbiditats hepàtiques, amb presentació atípica o que no presenten els anticossos específics, el diagnòstic s'estableix per biòpsia hepàtica (89,99). Es considera necessari per una correcta valoració histològica que la biòpsia contingui almenys 11 espais porta (89) o 10 conductes biliars (100). En el context oportú, pot ser diagnòstica la biòpsia hepàtica amb colangitis no supurativa, reforça el diagnòstic la ductopènia i/o inflamació septal i interlobular (89).

#### 2.4.1.1 Autoanticossos

##### 2.4.1.1.1 Anticossos antimitocondrials

Els anticossos antimitocondrials reconeixen de forma específica dominis del complex de la cadena respiratòria mitocondrial. Aquestes molècules són imprescindibles pel metabolisme energètic i són presents en totes les cèl·lules del organisme i altament conservades en les diferents espècies. Cada complex està format per 3 subunitats i la subunitat E2 és la més freqüent reconeguda pels anticossos. L'autoantigen més freqüent és la subunitat E2 del complex piruvat deshidrogenasa (PDC) localitzat a la membrana interna mitocondrial, però també pot reconèixer la subunitat E2 del 2-oxoglutarat deshidrogenasa (OGDC) o la E2 del complex de cadena ramificada 2-oxoàcid deshidrogenasa (BCOAD), entre d'altres (53).

En un 90-95% dels pacients es poden detectar aquests anticossos característics (88,101). Tot i que l'absència dels mateixos no implica diferències clíniques ni de resposta al tractament (102-103) sí que pot augmentar la dificultat de diagnòstic d'aquests pacients (103). En població

sana s'ha detectat aquest anticòs en menys de un 1% (104-105). Aquesta troballa és el preludi de la malaltia en menys d'una sisena part dels seropositius a 5 anys de seguiment (106-107). Els pacients seropositius sense CBP tot i absència de malaltia hepàtica, per causes que es desconeixen, podrien presentar pitjor pronòstic que la població estandarditzada (106).

#### 2.4.1.1.2 Anticossos nuclears específics

La presència d'anticossos antinuclears (ANA) específics en la CBP es va descriure el 1985, un 50% dels pacients amb CBP presenten ANA no obstant només un 25% presenten anticossos nuclears específics associats a la malaltia (107-108). Els patrons de immunofluorescència dels ANA associats a la CBP són el patró de puntejat nuclear múltiple (en anglès *Multiple Nuclear Dots*) (109) i el patró nuclear anular (en anglès *Rim Like Membranous*). La presència d'ANA amb aquests patrons de fluorescència es va relacionar amb major fibrosis i pitjor pronòstic (110).

La immunofluorescència indirecte realitzada en cèl·lules HEp-2 o variants és la tècnica d'elecció per la detecció dels anticossos antinuclears. No obstant, requereix de la valoració per personal expert, és laboriós i no exempt de subjectivitat. Per aquests motius, en els últims anys en la pràctica clínica la detecció d'anticossos dirigits a antígens específics ha substituït la immunofluorescència (111-114).

Varis anticossos s'han identificat en relació al patró puntejat nuclear múltiple, entre ells els principal són els dirigits contra l'autoantigen nuclear sp100 (anti-sp100) i contra la proteïna de leucèmia promielocítica PML (del nom en anglès *promyelocytic leukemia antigen*) i contra la proteïna del cos nuclear sp140 (anti-sp140). Es dona una alta correlació entre els 3 anticossos (111,115-116) essent el més freqüent anti-sp100 (117), probablement per aquest fet en la pràctica clínica normés es determina aquest últim.

El patró nuclear anular està format principalment pel anticòs anti-gp210 però també pels anticossos anti-nucleoporina p-62(118), antireceptor de laminina B (LBR) i antilaminina (A, B i C), aquest últims són específics però menys sensibles (119-121).

#### 2.4.1.1.2.1 anti-Gp210

El 1988 Lozano i posteriorment Lassoued van detectar que els anticossos de pacients amb CBP que mostraven el patró de fluorescència anular es dirigien principalment a una nuclear de 200 kDa (122). Posteriorment aquesta proteïna seria anomenada glicoproteïna del porus nuclear 210 (122-124). Aquesta glicoproteïna de localització exclusiva al embolcall nuclear és altament conservada a nivell evolutiu i imprescindible per la formació del porus nuclear (125). El porus nuclear es una estructura macromolecular formada per múltiples proteïnes que integrades en la doble membrana de l'embolcall nuclear regulen el flux de proteïnes i àcids nucleics entre el nucli i el citoplasma (124).

Varis estudis en diferents poblacions i períodes han avaluat la prevalença d'anticossos contra la glicoproteïna del porus nuclear 210 (anti-gp210) en pacients amb CBP. La prevalença es situa entre 4,7 i 26%, majoritàriament entre 22 i 26% (taula 1) (126-132).

Els canvis en la positivitat van ser avaluats per l'equip de Nakamura en 23 pacients anti-gp210 positius. Més del 50% d'aquests pacients van patir un viratge a seronegatiu després del tractament amb AUC. Els pacients que van presentar seronegativització tenien un comportament similar als seronegatiu (128). No obstant, estudis posteriors del mateix grup amb major número de pacients va mostrar una taxa molt inferior de variabilitat entre el 16 i 5% (129). En els treballs de Gatselis i Tana, no es van objectivar canvis significatius en els títols d'anticossos durant el seguiment (131-132).

La primera comparació entre la presentació clínica de la malaltia en pacients anti-gp210 positius respecte a negatiu és de 1990 en població francesa sense trobar diferències (126). El 1998 l'equip de Itoh, va evidenciar un impacte d'aquests anticossos en el pronòstic, presentant els seropositius major mortalitat i icterícia (127). Estudis posteriors també a Japó van confirmar major prevalença fibrosis, inflamació i ductopènia (129) amb augment del risc de fallada hepàtica i major mortalitat hepatoespecífica en pacients anti-gp210 positius (129) persistents en el temps (128). Analíticament aquests pacients presentaven nivells més elevats de fosfatasa alcalina (FA) i bilirubina (127) i menor albúmina i IgM (128). Estudis realitzats a Itàlia, Grècia i Espanya també van detectar alteracions analítiques associades a aquest anticòs: elevació de FA (130,133), de alanina aminotransferasa (ALT) (131), de IgM, gammaglobulines i

menor albúmina (133). No obstant no es van evidenciar diferències histològiques (111,131). Alguns d'aquests estudis van mostrar increment del índex pronòstic Mayo suggerint pitjor pronòstic (130,133) mentre que d'altres no van mostrar canvis significatius (131). En cap dels estudis europeus es va demostrar una implicació pronòstica (130-132). També el grup d'investigació d'Invernizzi, va relatar relació entre la presència anticossos anti-gp210 i/o anti-p62 i xifres de bilirubina inicial superior. En aquest estudi es va objectivar major inflamació histològica i superior percentatge de cirrosis i les seves complicacions associada a anti-gp210 (130). No obstant, l'impacte dels anticossos anti-p-62 avaluats conjuntament amb anti-gp210 és difícil d'interpretar (119).

**Taula 1.** Estudis sobre la prevalença i valor pronòstic dels anticossos anti-gp210 (126-132).

Primer autor	Lassoued	Itoh	Muratori	Nakamura	Nakamura	Bogdanos	Gastelis	Tana
<b>n</b>	150	113	96	71	276	332	110	27
<b>Procedència</b>	França	Japó	Itàlia i Espanya	Japó	Japó	Grècia i Espanya	Grècia i Espanya	EUA
<b>Període</b>	Abans de 1990	1977-1996	Abans de 2003	1982-2004	2003-2006	Abans de 2003	2001-2007	Abans de 2015
<b>Seguiment (anys)</b>		6	6 (3-10)	5,3 (4,6-6)	6 (1-11)	2	2,9 (IQR 3)	20 (6-30)
<b>Estadi III-IV</b>	47%	16%		37%	21%		22%	0% Estadi IV
<b>Prevalença</b>	27%	22,00%	16%	32%	26,10%	10,40%	4,50%	22%
<b>Bioquímica inicial segons positivitat anti-gp210</b>	similar	FA↑ i Br ↑	FA↑, GGT↑, Br ↑, Gglob ↑, IgM↑, album↓	IgM↑, album (↓)	no descrit	FA↑	ALT↑	no descrit
<b>Biòpsia</b>	similar	Similar	no descrit	↑fibrosis	↑fibrosis, inflamació i ductopènia	no descrit	similar	similar
<b>Índex pronòstics</b>	similar	no descrit	↑ Mayo	Mayo similar	no descrit	↑ Mayo	Mayo similar	no descrit
<b>Resposta a AUC</b>	no descrit	no descrit	no descrit	no descrit	no descrit	no descrit	similar	no descrit
<b>Cirrosis</b>	no descrit	no descrit	no descrit	similar	HTP similar	similar	similar	similar
<b>Pronòstic</b>	similar	↑ mortalitat i icterícia	no descrit	↑insuficiència hepàtica	↑insuficiència a hepàtica	similar	similar	similar

\* similar: no diferències estadístiques, No descrit: no consta en l'estudi citat. FA: fosfatasa alcalina, Br: bilirubina total, GGT gamma glutamil transpeptidasa, IgM immunoglobulina M, album albúmina, Gglob gamma globulines, ALT: alanina aminotransferasa, Mayo: índex pronòstic Mayo, HTP: avaluat risc de desenvolupar hipertensió portal i no cirrosis, IQR: rang interquartilic (del anglès *interquartile range*), ↑: significativament superior en pacients anti-gp210 positius respecte negatius, ↓: significativament inferior en pacients anticossos positius respecte negatius, (↓): No significativament inferior, però valor de p inferior a 0,01.



#### 2.4.1.1.2.2 anti-sp100

L'autoantigen nuclear sp100 així com PML constitueixen les principals proteïnes integrants dels cossos nuclears. Aquests complexos nuclears proteics observats en totes les cèl·lules eucariotes estan implicats en la transcripció (134). Tot i que la seva funció no és completament coneguda s'ha demostrat la seva implicació en autoimmunitat, resposta al estrès, activació transcripcional de gens, creixement cel·lular amb control de diferenciació i interacció viral (135).

L'autoantigen nuclear sp100 va ser el primer antigen caracteritzat bioquímicament per clonació d'àcid desoxiribonucleic (ADN) complementari (120,136). La seva seqüència és similar al domini que s'uneix a epítops del receptor d'histocompatibilitat principal MHC (de l'anglès Major Histocompatibility Complex) de classe I i a la transcriptasa d'alguns virus (120). Aquesta proteïna té múltiples isoformes segons la seva transcripció i assemblatge, principalment relacionades amb l'increment de l'expressió gènica i de la transcripció (120,137).

La prevalença dels anticossos dirigits contra sp100 (anti-sp100) es situa entre 9 i 27% dels pacients amb CBP (131-133,138-140) (Taula 2). La positivitat d'aquests anticossos s'ha relacionat amb major alteració analítica: bilirubina més elevada i temps de protrombina més prolongat (138) FA superior (131,133) i menor albúmina (131). Estudis inicials van reportar associació d'aquests anticossos a pacients de més edat (133) fet que no es va confirmar posteriorment (129,131,138). També s'ha descrit pitjor puntuació del índex pronòstic Mayo (139). En l'estudi de Rigopoulou es descriu major grau de fibrosis, però sense assolir un impacte pronòstic (138). L'associació amb una fibrosis elevada també s'observa en els estudis de Mytilinaiou i Züchner ambdós realitzats amb la valoració simultània de anti-PML i anti-sp100 (139-140). L'estudi posterior realitzat per Nakamura et al, va evidenciar canvis histològics i pronòstics en referència a anti-gp210 però no a anti-sp100 (129). L'equip de Gatselis tot i no determinar una relació entre la fibrosis la positivitat de anti-sp100 inicials, va evidenciar una correlació entre el descens dels nivells de anti-sp100 en context del tractament amb AUC i millor resposta a AUC, milloria del índex pronòstic Mayo i regressió del grau de fibrosis, sense evidenciar cap relació amb anti-gp210 (131). També Tana va descriure relació entre els canvis en el grau de fibrosis i els nivells d'anti-sp100 però no anti-gp210 (132).

**Taula 2.** Estudis sobre la prevalença i valor pronòstic dels anticossos anti-sp100 (131,133,138-140).

Primer autor	Muratori	Rigopoulou	Tana	Gatselis	Mytilinaiou	Züchner	Nakamura
<b>Anticossos estudiats</b>	anti-sp100	anti-sp100	anti-sp100	anti-sp100	anti-sp100 i/o PML o MND	anti-sp100 i/o PML	anti-sp100
<b>n</b>	96	44	27	110	170	170	276
<b>Procedència</b>	Itàlia i Espanya	Grècia	Estats Units	Grècia i Espanya	Grècia, Anglaterra i Alemanya	Canadà	Japó
<b>Seguiment (anys)</b>	no seguiment	no seguiment	20 (6-30)	2,9 (IQR3)	10	2	
<b>Cirrosis</b>	-	29%	0%	14%	21%	23%	<21%
<b>Prevalença</b>	27%	23%	22%	13%	21%	21%	9%
<b>Bioquímica inicial segons positivitat anti-sp100</b>	FA ↑	Br↑, TP ↑, album (↓)	no descrit	FA↑, igG ↑, album ↓	similar	similar	
<b>Biòpsia</b>	no avaluat	↑Fibrosis	similar		↑Fibrosis	similar	no descrit
<b>Índex pronòstics</b>	no descrit	no descrit	no descrit	similar	↑Mayo (anti-sp100)	no descrit	no descrit
<b>Resposta a AUCD</b>	no descrit	no descrit	no descrit	similar	no descrit	no descrit	similar
<b>Cirrosis</b>	no descrit	↑cirrosis	no descrit	similar	↑cirrosis	no descrit	no descrit
<b>Pronòstic</b>	no descrit	no descrit	no descrit	no descrit	no descrit	↑Pro-gressió fibrosis	similar
<b>Edat</b>	Edat↑	similar	similar	no descrit	Edat ↓	edat similar	similar
<b>Canvis en el temps</b>			nivells anti-sp100 associats a grau de fibrosis	nivells anti-sp100 associats a grau de fibrosis i índex Mayo i resposta a tractament			

\* similar: no diferències estadístiques, No descrit: no consta en l'estudi citat. FA: fosfatasa alcalina, Br: bilirrubina total, IgG: immunoglobulina G, album: albumina, TP: Temps de protrombina, Mayo: índex pronòstic Mayo, HTP: evaluat risc de desenvolupar hipertensió portal i no cirrosis, IQR: rang interquartílic (del anglès *interquartile range*), ↑: significativament superior en pacients anticossos positius respecte negatius, ↓: significativament inferior en pacients anticossos positius respecte negatius, (↓): No significativament inferior, però valor de p inferior a 0,01.

#### 2.4.1.1.3 nous anticossos

Les proteïnes hexocinasa 1 (HK1) i Kelch-like 12 (KLHL12) s'han identificat com a autoantígens de la CBP recentment mitjançant la anàlisi de perfils d'anticossos sèrics utilitzant xips proteics, dispositius creats artificialment que permeten l'exposició de milers de proteïnes humanes a un sèrum determinat. La major limitació d'aquests dispositius és l'elecció de les proteïnes exposades.

L'equip de Hu va emprar un xip fruit de la seqüenciació completa del genoma humà amb 17.000 proteïnes humanes (141) que es va testar en sèrums de 191 pacients amb CBP i en 321 controls (altres hepatopaties: hepatitis autoimmune i hepatitis B o C i malalties autoimmunes: artritis reumatoide, lupus i esclerosi sistèmica, així com controls sans). Es van identificar 23 proteïnes d'alta afinitat, que després d'afegir-hi 9 antígens (en coneguda relació amb CBP) es van testar de nou. És varen identificar 6 proteïnes com autoantígens altament sensibles i específics per a la detecció de pacients amb CBP entre elles la HK1 i KLHL12 (142).

L'equip de Norman, va creuar un xip proteic de 8000 proteïnes amb sèrums de 18 pacients amb CBP i 62 controls (afectes de malalties autoimmunes: lupus, Sjögren, amb càncer de colon i 12 controls) identificant les proteïnes HK1 i KLHL12. Es va confirmar per electrotransferència la presència de les proteïnes en una cohort de 100 pacients amb CBP a diferents estadis i 98 controls (colangitis esclerosant primària (CEP), fallada hepàtica aguda, 5 pacients sans). Addicionalment es van afegir com a controls 72 pacients amb esclerodèrmia i lupus, fixant l'especificitat en un 94-96%. Finalment es va testar per assaig d'unió immunoabsorció associada a un enzim ELISA (de l'anglès *enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) es van testar en 366 pacients així com 174 controls (CEP, hepatitis autoimmune, solapament d'ambdues, síndrome de Sjögren, malaltia inflamatòria intestinal, hepatitis C, B, hepatocarcinoma, sarcoïdosi i 80 pacients sans). En aquesta última fase els pacients eren de Canadà. Els anticossos contra KLHL12 (anti-KLHL12) van ser detectats en un 40% del total dels pacients, 35% dels pacients en AMA negatius. Els anticossos contra HK1 (anti-HK1) van ser detectats en un 45% dels pacients i en un 22% dels AMA negatius. La especificitat va ser de 96 i 97% respectivament (143).

Les hexocinases son enzims implicats en l'inici de la glicòlisis, transformant la glucosa en glucosa 6 fosfat, en els mamífers consten de 4 isoformes. La hexocinasa 1 pot trobar-se al citosol o unida a la membrana mitocondrial externa. Aquesta unió és dinàmica, depenent del estat metabòlic cel·lular (144) i podria conferir resistència a la apoptosi. Essent la seva activitat sobre-expressada en diferents cèl·lules cancerígenes (145).

La proteïna Kelch-like 12 està implicada el transport del reticle endoplasmàtic de l'aparell de Golgi a les vesícules, amb un paper destacat en l'exportació de col·lagen (146). No obstant, també està implicada en una via de modificació proteínica post-traducciona del receptor de dopamina (147).

#### 2.4.2 Progressió

La CBP clàssicament s'ha descrit d'afectació predominantment femenina (1:8- 1:10). En els últims anys tot i persistir la preponderància femenina, aquesta és menys acusada 1:3-5 (9,148). La causa d'aquest canvi és desconeguda. L'edat de presentació típica és entre els 50 i 70 anys (6,149), si bé estudis recents suggereixen un augment de l'edat en les últimes dècades (37,150).

Clàssicament el curs de la malaltia s'ha dividit en 3 períodes, una fase inicial asimptomàtica que pot durar uns 20 anys o més, seguit de una fase simptomàtica d'entre 5 i 10 anys i finalment una fase preterminal amb severa icterícia (151).

##### 2.4.2.1 Fase asimptomàtica

La fase asimptomàtica es caracteritza per elevació de la FA i la gamma glutamil transpeptidasa (GGT) (89) així com elevació policlonal dels nivells de immunoglobulina M (152). Addicionalment, degut a una colèstasi mantinguda, es pot observar un augment del colesterol total a expenses de lipoproteïnes d'alta densitat HDL (del anglès *High Density Lipoprotein*) i de lipoproteïnes de baixa densitat LDL (del anglès *Low Density Lipoprotein*) que disminueix quan

s'instaura la cirrosi. No obstant aquest increment del colesterol no s'ha mostrat en relació amb aterogènesi ni complicacions cardiovasculars (153). Ja en aquest període inicial, el percentatge d'osteoporosi està augmentat respecte a la població de referència (entorn a 30%) si bé a mesura que avança la malaltia aquest percentatge augment arribant al 44% en fases preterminals de la malaltia (154).

Actualment, aquesta és la fase principal en la que es realitza el diagnòstic de la malaltia (6). El percentatge de pacients asimptomàtics i amb alteració lleu analítica ha augmentat en els últims anys, possiblement degut a la generalització de les analítiques rutinàries (89,150). En el nostre medi durant el període de 2015 a 2017 més de 3 quartes parts dels pacients eren diagnosticats únicament per alteracions analítiques (37).

Varis estudis suggereixen que els pacients asimptomàtics presenten menor mortalitat de causa hepàtica respecte els simptomàtics (6) però alhora menor supervivència respecte la població de referència (149). No obstant, en un estudi més recent amb 422 pacients (la majoria asimptomàtics) seguits durant més de 7,4 anys, no es va evidenciar que el desenvolupament de símptomes tingués impacte en la supervivència. Els pacients asimptomàtics van presentar una mortalitat hepàtica de fins el 20% i la probabilitat de desenvolupar símptomes durant el seguiment va arribar al 95% en pacients amb seguiment prou llarg (20 anys) (149). En aquest context, les guies clíniques recomanen l'inici del tractament precoç en el moment del diagnòstic (89).

#### 2.4.2.2 Fase simptomàtica

El símptomes i signes típics de la CBP en fase simptomàtica són la pruija, astènia i xantelasma (89), en fases més tardanes de la malaltia apareix icterícia (155).

Es calcula que entre un 60 i 70% dels pacients presenten prurit (156). La fisiopatogènia d'aquest símptoma no és completament coneguda. La recaptació dels àcids biliars està augmentat en les malalties colestàsiques, i aquest increment d'àcids biliars (157) activaria els receptors de membrana específics com TGR5 en neurones sensibles, entre altres vies (158).

Adicionalment l'àcid lisofosfatidil també produiria prurit amb una alta correlació entre el prurit i l'enzim formador d'aquest metabòlit: l'autotaxina (159).

El tractament amb AUCD no té impacte sobre aquest símptoma. La resinolectiramina és el tractament normalment emprat com a primera línia. Tot i una resposta irregular i una evidència limitada. La rifampicina ha mostrat efectivitat i seguretat, però té risc d'hepatotoxicitat, el risc és baix però el mecanisme és idiosincràtic, i per tant, de difícil predicció. També la naltrexona s'ha mostrat efectiva, no obstant, amb efectes adversos que condicionen la tolerància. En estudis limitats la sertralina ha mostrat efectivitat en el tractament del prurit sense efectes adversos significatius (160). Recentment el bezafibrat s'ha descrit com a possible tractament del prurit amb molt bona tolerància (161).

L'astènia és un símptoma de la CBP de difícil avaluació que resulta altament incapacitant i que malgrat no està relacionada amb el grau histològic comporta un increment de la mortalitat relacionada amb complicacions hepàtiques i risc de trasplantament (162). Sovint associat amb deteriorament cognitiu i disfunció emocional, se'n postula una probable etiologia multifactorial amb múltiples vies relacionades (163). S'ha evidenciat relació entre la fatiga, els nivells de manganès en sang i els dipòsits d'aquesta substància al globus pàl·lid i ganglis basals cerebrals (164). Adicionalment s'ha descrit una disfunció autonòmica amb menor variabilitat en la freqüència cardíaca i menor resposta a la maniobra de Valsalva (165). També s'ha suggerit la relació de l'astènia amb augments de citocines i adipocines sanguínies com la leptina (166) i metabòlits de la progesterona com la alopregnalolona (167). Finalment, s'ha evidenciat en aquests pacients disfunció muscular perifèrica post exercici amb allargament del temps a recuperar el pH del múscul post exercici (168).

És rellevant l'alta variabilitat d'aquest símptoma segons la localització geogràfica. Un estudi recent amb 569 pacients, va mostrar una percepció molt superior de fatiga en la població d'Anglaterra respecte Japó i Itàlia, sent la població espanyola la menys afectada (169). Ni el tractament convencional amb AUCD, ni tractaments de segona línia com AOC ni el trasplantament no milloren aquest símptoma. S'ha suggerit benefici del tractament amb modafinil (163).

Un estudi realitzat en el nostre medi amb més de 1500 pacients avaluant la prevalença de símptomes de presentació va mostrar l'astènia com a principal símptoma d'aquests pacients seguit de la pruija amb una baixa prevalença d'icterícia i de xantomes i xantelasmes. L'avaluació dels símptomes segons l'any de diagnòstic va mostrar una menor prevalença de tots els símptomes en pacients amb diagnòstic entre 2017 i 2012 respecte a pacients amb diagnòstic previ. L'astènia va disminuir de 31 a 16%, la pruija de 34 a 12%, la icterícia de 3,5% a 0,9% i els xantomes i xantelasmes de 1,8 a 0% (37).

El risc de hepatocarcinoma està incrementant en la CBP fins a 18 vegades la població de referència segons un anàlisi multicèntric europeu de fins a 4565 pacients. En aquest estudi van presentar hepatocarcinoma 3,4 casos per 1000 pacients-any amb impacte en el pronòstic. El risc de desenvolupar hepatocarcinoma va ser més elevat en homes, en pacients sense resposta al tractament de primera línia i pacients amb trombocitopènia, no obstant el grau de fibrosis no va demostrar impacte (170). L'estudi del grup de Harada en una ampla cohort Japonesa (prop de 3000 pacients) suggereix que el risc de hepatocarcinoma seria superior en homes independentment del estadi histològic, mentre que en dones sobretot afectaria estadis de fibrosis avançada (171). Actualment les guies clíniques recomanen cribratge només en pacients amb cirrosis instaurada (89).

L'augment del risc de càncer en la CBP va ser avaluat en 17 estudis entre 1984 i 2011, recollits en un metaanàlisi del 2012. Es suggeria un augment del risc general de càncer en PBC, però excloent l'hepatocarcinoma, cap tipus de càncer presentava un augment significatiu excepte estomac i pàncreas. No obstant, dels 4 estudis valorant càncer de pàncrees i estomac només en un dels estudis amb gran nombre d'homes es suggeria un augment del risc de càncer de pàncreas i estomac (172). Més recentment, un estudi amb 758 pacients de Barcelona i Itàlia seguits durant 8 i 12 anys respectivament, va mostrar una incidència de malignitat extrahepàtica similar a la esperada per la població de referència, descrivint-se un increment únicament en relació amb la comorbiditat autoimmune i la cirrosis instaurada. Addicionalment la presència de malignitat no va mostrar impacte en la historia natural de la CBP (171). Les guies actuals no recomanen cap cribratge específic (89,173).

### 2.4.1.3 Fase tardana

Es va avaluar progressió histològica en 69 pacients majoritàriament tractats amb UDCA (96%) amb o sense símptomes. Mitjançant biòpsies seriades separades almenys 4 anys es va evidenciar que aproximadament la meitat dels pacients presentaven progressió (increment d'un estadi de fibrosis) i gairebé un 30% progressió ràpida (increment de dos estadis de fibrosis). La presència de menys de 50% de conductes biliars al inici del tractament o falta de resposta al AUC son factors predictors de ràpida progressió (91).

Analíticament quan s'instaura la cirrosis apareix hipoalbuminèmia i prolongació del temps de protrombina. En aquesta fase disminueixen els valors de colesterol mentre la resta de paràmetres bioquímics es mantenen estables, a mesura que disminueix el colesterol els xantomes poden desaparèixer (151).

La icterícia reflecteix un mal pronòstic i acostuma a presentar-se associada a signes de hipertensió portal degut a progressió a cirrosis (155). No obstant, la hipertensió portal es pot desenvolupar en absència de cirrosis de causa presinusoidal en relació a nòduls de regeneració o de causa desconeguda (174,175) i addicionalment alguns pacients amb la variant histològica ductopènica poden desenvolupar insuficiència hepàtica amb icterícia severa en absència de cirrosis i de hipertensió portal (176). El 1989 un estudi prospectiu de 265 pacients va identificar varius esofàgiques en menys de un terç dels pacients, la meitat d'aquests van presentar hemorràgia digestiva menys de 6 anys després (177). En l'era actual, ha canviat el perfil dels pacients amb CBP essent majoritàriament asimptomàtics i tractats de forma precoç.

En la conferència de hipertensió portal Baveno VI es va definir que pacients amb cirrosis però plaquetes superiors a  $150 \times 10^9$  cèl·lules/L i elastografia hepàtica inferior a 20kPa era improbable la descompensació en forma de hemorràgia digestiva alta, premissa que ha estat validada en estudis posteriors i que permet reduir les endoscòpies de cribratge de varius esofàgiques. No obstant, la prevalença de pacients amb CBP en aquests estudis és baixa (menor al 6%) (178). Dos estudis posteriors han valorat la prevalença de varius esofàgiques en 147 i 201 pacients amb CBP avaluant el valor predictiu dels criteris de Baveno VI. El primer estudi va evidenciar varius en un 67% però només indicació de tractament en un 13%, i el valor



predictiu negatiu de Baveno VI va ser excel·lent, permetent una detecció de tots els pacients amb varius de risc i evitant un 40% de gastroscòpies (179). En el segon estudi un 20% dels pacients presentava varius (no consta la mida) identificant-se per Baveno VI el 96%. Per tant, els criteris de Baveno VI permeten excloure correctament els pacients amb baix risc de presentar varius esofàgiques tributàries de tractament també en la CBP (179-180).

La descompensació en forma d'ascites i especialment d'encefalopatia hepàtica es produeix en estadis molt avançats de la malaltia indicant insuficiència hepàtica (181). És en aquests estadis finals, en que el prurit pot desaparèixer o disminuir (151).

Les indicacions de trasplantament en la CBP són similars a la resta d'etiologies. Es recomana valorar trasplantament en pacients amb puntuació de MELD (model predictor de malaltia hepàtica en estadi terminal en anglès *model of end-stage liver disease*) superior a 12 (182) o bilirubina superior a 5mg/dL. Addicionalment, el prurit refractari o encefalopatia persistent serien indicacions de trasplantament menys freqüents (98).

Tot i el tractament amb AUC fins un 2% dels pacients amb CBP al nostre medi requereix trasplantament. El temps de supervivència lliure de trasplantament són 28 anys des del diagnòstic (21). Tot i la disminució del número de trasplantaments de fetge per CBP a Europa en context probablement de inici més precoç i eficaç del tractament, encara un 4% dels trasplantaments hepàtics a Europa són per CBP (183).

La recurrència de la CBP post trasplantament és calcula entre el 17 i el 46% segons el protocol de seguiment post trasplantament. Els anticossos típics de la malaltia no desapareixen post trasplantament i el diagnòstic de la recidiva de la CBP s'estableix per biòpsia hepàtica. És rellevant l'expertesa del patòleg donada la seva similitud histològica respecte a manifestacions de rebuig, isquèmia o toxicitat. Tot i una elevada taxa de recidiva, fins fa poc es considerava lleu l'impacte clínic de la recidiva donada una pèrdua del implant menor al 6% (183). No obstant, un recent estudi multicèntric amb 785 pacients amb CBP trasplantats seguits durant una mitja de 7 anys, situa la prevalença de la recidiva al 50% als 15 anys, identificant un increment significatiu de pèrdua d'implant i de mortalitat global en aquests pacients. La supervivència mediana post trasplantament estimada és de 21 anys. S'han descrit com a

factors de risc per a la recidiva la colèstasis post trasplantament, l'edat baixa del receptor i la immunosupressió amb tacrolimus amb impacte pronòstic. Donada la milloria de la colèstasis amb AUCD en aquest context, es postula la instauració d'aquest tractament de forma precoç o inclús preventiu en pacients d'alt risc de recidiva (184).

## 2.5 Marcadors del pronòstic de la malaltia

### 2.5.1 Paràmetres analítics

El paper pronòstic de la bilirubina en la CBP és conegut des de 1979. Durant el seguiment de 55 pacients es va evidenciar que l'elevació mantinguda per sobre de 2mg/dL era predictor d'entrada al estadi terminal de la malaltia amb una esperança de vida de 4 anys. Aquesta disminuïa a menys d'un any i mig quan les xifres eren superiors a 10 mg/dL. El valor pronòstic de la bilirubina s'ha confirmat també en pacients tractats amb AUCD, observant en un estudi de 3529 pacients que l'elevació de la bilirubina a partir de 1,6 vegades la normalitat (LSN) s'associa amb molt mal pronòstic amb una supervivència lliure de trasplantament de 19 mesos. No obstant no es va identificar cap valor de tall més precoç amb capacitat pronòstica (185). Posteriorment s'ha determinat que l'increment del valor totals de la xifra de bilirubina, inclús dins els paràmetres de normalitat té impacte en el pronòstic (186).

En una cohort extensa multicèntrica de 4845 pacients ( sorgida del grup internacional d'estudi de la CBP: *GLOBAL Pbc study group*) seguits durant 7,3 anys, va confirmar l'impacte pronòstic del valor de bilirubina, afegint la FA com a marcador més precoç. L'ús combinat de la FA (essent el valor de tall més discriminant 2 vegades el límit superior de la normalitat LSN) i la bilirubina (essent la normalitat el valor de tall) augmentava el valor pronòstic d'ambdós paràmetres mentre la bilirubina es mantingués inferior a 3 vegades la normalitat. A partir de 3 vegades el LSN de bilirubina el valor de la FA no modificava el pronòstic.

En base a aquests dos paràmetres l'equip de Lammers va dividir els pacients en quatre grups pronòstics, combinant FA superior a  $> 2$  vegades LSN i normalitat de bilirubina. El valor pronòstic es mantenia per sexe, grup d'edat, tractament amb AUCD i estadi histològic (187).

En 2120 pacients seguits durant 5 anys, els nivells de GGT a l'any també van mostrar un valor pronòstic en fases inicials, essent el nivell de 3.2 LSN predictor de mortalitat hepàtica o trasplantament de fetge als 10 anys. Tot i una alta correlació amb la FA, el seu valor pronòstic era independent a valors baixos de FA (188).

### 2.5.2 Models matemàtics

El desenvolupament d'un model matemàtic per predir la supervivència individual dels pacients no és nova. El 1989 es va definir el índex Mayo, a partir de 312 pacients es va crear un model que mitjançant l'edat al diagnòstic, la bilirubina, l'albumina, el temps de protrombina i severitat dels edemes permetia establir una supervivència estimada lliure de trasplantament. Aquest model va ser validat en 106 pacients en el mateix estudi en pacients d'estats units (189). Posteriorment seria validat a Europa (190).

Amb l'aparició del tractament de la CBP, l'UDCA, el valor pronòstic del índex Mayo va ser avaluat novament. La correlació del pronòstic amb aquest índex va ser heterogènia. Mentre estudis a Canadà (111 pacients seguits durant 2 anys) i Estats Units (89 pacients seguits durant 4,6 anys) mostraven bona correlació en pacients tractats amb AUCD (191,192), la supervivència va ser significativament superior a la descrita pel model en una cohort de Barcelona (192 pacients seguits durant 7,5 anys) i de Paris (292 pacients seguits durant 6 anys).

El model del Regne Unit UK-PBC va sorgir d'un estudi multicèntric amb pacients del Regne Unit (*UK-PBC Research cohort*) on 3165 pacients tractats amb AUCD van ser avaluats durant 6,3 anys. Aquest índex va ser dissenyat per predir la supervivència lliure de trasplantament o complicació hepàtica (hemorràgia digestiva per varius, fallada hepàtica, hepatocarcinoma o increment significatiu de la bilirubina) de forma continua sense un valor de tall concret. Els paràmetres que l'integren són l'albumina i plaquetes al diagnòstic així com la FA, la bilirubina i les transaminases al any del inici del tractament amb AUCD (193).

Més recentment s'ha descrit l'índex GLOBE, creat i validat pel grup GLOBAL amb 4119 pacients seguits durant 7,8 anys per predir supervivència lliure de trasplantament. Formen part d'aquest índex l'edat al inici del AUCD, bilirubina, albúmina, FA i les plaquetes al any del inici de tractament, tots ells amb valor pronòstic independent. Valors a partir de 0.3 tindrien pitjor pronòstic, no obstant, segons l'edat del pacient, estan establerts valors de tall específics (194). Tot i ser un índex descrit per valorar supervivència lliure de trasplantament al any del inici del tractament amb AUCD, el seu pronòstic ha demostrat mantenir-se en qualsevol moment del seguiment aplicant els valors de tall específics per edat (195).

L'avaluació comparativa dels 3 models en 1100 pacients durant 7 anys de seguiment no va mostrar diferències significatives, amb una concordança d'entre el 0,68 i 0,8 dels tres índex i una variació entre 0,4 (GLOBE) i 2,5% (Mayo) de la supervivència lliure de trasplantament. El GLOBE tendia a una major capacitat discriminatòria sense ser significativament millor. En tots els casos la capacitat discriminatòria augmentava en pacients amb fibrosis grau 4 i bilirubina superior a 0.6mg/dL (196).

### 2.5.3 Valor pronòstic en relació al tractament amb AUCD

El 1987 l'AUCD va identificar-se com a possible tractament en la CBP en base a estudis on s'associava a una important milloria bioquímica. Estudis posteriors amb seguiment curt, van mostrar una milloria heterogènia en la supervivència.

El 2006, 192 pacients de la cohort de Barcelona tractats amb AUCD amb un seguiment de 7,5 anys van presentar una supervivència superior a la estimada per l'índex de Mayo. No obstant aquesta supervivència era inferior a la població de referència en els pacients sense normalització de la FA o que prestaven un descens de la FA inferior al 40% respecte al inici del tractament. Aquests paràmetres analítics s'establirien com a criteri de resposta al tractament que posteriorment seria anomenat criteri Barcelona. Es consideren pacients amb resposta a AUCD segons el criteri Barcelona aquells pacients amb normalització de la FA o que presenten més de un 40% de descens de la mateixa al any de tractament amb AUCD. Els pacients amb resposta presentaven una supervivència similar a la població de referència, mentre que aquells

pacients sense resposta presentaven una supervivència era estadísticament inferior però superior a la predita per l'índex Mayo (197).

Varis estudis han analitzat altres criteris bioquímics que permetessin diferenciar aquells pacients amb excel·lent pronòstic després del tractament dels pacients amb persistència de risc de progressió i per tant, amb possibilitat de presentar descompensació o mortalitat hepàtica.

Posteriorment un estudi realitzat a França amb 292 pacients seguits durant 6,1 anys va identificar com a paràmetres amb millor valor discriminant la FA inferior a 3 LSN, l'aspartat-aminotransferasa (AST) menor a 2 LSN i la bilirubina igual o inferior a 1mg/dL al any de tractament amb AUDC. Aquest criteri de resposta va ser anomenat Paris I, en aquest estudi els pacients amb resposta a AUDC presentaven pitjor supervivència que la població de referència, no obstant els pacients sense resposta presentaven similar pronòstic al descrit per l'índex de Mayo. Les diferències entre ambdós estudis es van suggerir en relació al diferent percentatge de pacients cirròtics 9% en l'estudi de Parés (197) i 17% en el de Corpechot. (198).

Als Països Baixos es va portar a terme un estudi amb 375 pacients i un seguiment de 9,7 anys. Els pacients d'aquest estudi es van dividir en 3 grups segons l'albúmina i bilirubina inicials: afectació lleu, mitja i greu. El grup de CBP lleu (amb albúmina i bilirubina normals al inici del tractament) que van presentar una evolució similar a la població de referència sense diferències entre pacients amb resposta i no resposta a AUDC al any pels criteris Paris I, Barcelona i millor pronòstic al predit per l'índex Mayo. El grup amb afectació mitja (albúmina o bilirubina alterades al inici del tractament) i amb afectació greu (albúmina i bilirubina alterades al inici del tractament) presentaven un pronòstic similar al predit per l'índex Mayo i només el criteri Paris I i la normalització de l'albúmina i/o bilirubina al any del tractament (de forma independent al Paris I) perdien un diferent pronòstic cada subgrup. En base a aquestes troballes, es va definir el criteri Rotterdam que identificava com a pacients amb resposta a AUDC aquells pacients amb normalització de l'albúmina i/o bilirubina al any de tractament (199).

Un nou estudi va analitzar la relació entre els paràmetres analítics de resposta al tractament i la progressió histològica en 69 pacients. En aquests pacients en tractament amb AUCD es va avaluar l'evolució histològica, mitjançant la realització de dues biòpsies hepàtiques amb un interval de 9,4 anys. Es va definir progressió com l'augment de un estadi de fibrosis succeint en un 50% dels pacients avaluats. Un 30% va presentar fibrosis de ràpida instauració amb augment de dos estadis. Es va analitzar l'impacte dels paràmetres analítics al inici, al any i als dos anys de tractament sense que cap paràmetre bioquímic al any fos significatiu en l'anàlisi multivariat, només la FA als dos anys de tractament superior a 1.67 LSN identificava als pacients amb ràpida progressió. La disminució de la FA a valors inferiors a 1,67 LSN als 2 anys del tractament es va definir com a criteri Toronto. Aquest estudi també va valorar els criteris Barcelona i Paris I, aquests índex permetien identificar els pacients amb ràpida progressió però amb una sensibilitat baixa pel criteri Barcelona i molt baixa especificitat per ambdós criteris (91).

Finalment es va valorar en la cohort francesa (165 pacients) a 7,1 anys de tractament, els 4 factors de resposta a AUCD avaluant addicionalment a mortalitat o trasplantament el desenvolupament de cirrosis o descompensació de la mateixa. Només els criteris de resposta Paris I i Toronto van discriminar pacients que posteriorment presentarien descompensació. No obstant, cap dels 4 paràmetres era capaç de predir descompensació en el subgrup de pacients amb CBP inicial (bilirubina i albúmina inicialment normals), motiu pel que es va crear el criteri resposta Paris II aplicant punts de talls més estrictes: FA i AST menors o iguals a 1.5 LSN i bilirubina normal amb capacitat per predir mala evolució en aquest subgrup de pacients. Cal destacar que, aplicant els 5 índexs a llarg terme en la població general, la sensibilitat de Paris II era inferior a la resta d'índexs, suggerint la seva aplicació només en estadis inicials (200).

Actualment no hi ha un criteri unificat per determinar els pacients amb resposta a AUCD, si bé la guia europea recomana emprar el criteri Paris II al any de tractament (89).

Estudis posteriors han valorat l'aplicació dels índex de resposta a AUCD als 3 i 6 mesos a fi de permetre una identificació precoç dels pacients amb alt risc de complicacions. Es va analitzar 187 pacients seguit durant 5,8 anys, l'aplicació dels índex de resposta va mostrar similar sensibilitat i especificitat a 6 mesos pels criteris Paris I, Barcelona i Toronto, similars amb escàs

impacte en el valor predictiu positiu i negatiu. Excepte el criteri de Rotterdam que no va permetre diferenciar pronòstics diferents abans dels 12 mesos. No obstant, el fet de testar als 3 mesos va augmentar el valor predictiu positiu i negatiu, augmentant la selecció de pacients amb bon pronòstic però perdent la capacitat per seleccionar pacients en risc de progressió (201). El valor discriminant d'aquests índex a 3 mesos va ser valorat per un estudi amb 95 pacients. La sensibilitat va ser similar, la capacitat de discriminació avaluada mitjançant l'àrea sota la corba ROC (representació de sensibilitat versus especificitat, del anglès *Receiver Operating Characteristic*) va ser superior a 0,7 en tots els casos, indicant una correcta discriminació. No obstant l'especificitat va disminuir, identificant erròniament com a pacients sense resposta part de pacients que sí presentarien resposta als 12 mesos de tractament. Aquests pacients amb falsa no resposta presentaven FA menor a 1,5 LSN, bilirubina normal i estadi histològic I (202).

#### 2.5.4 Marcadors de fibrosi

S'ha suggerit que el valor pronòstic de la fibrosi i hipertensió portal, podria predir supervivència lliure de trasplantament de forma independent a la resposta al tractament i a la bioquímica hepàtica (203). En aquest context es testar l'índex APRI (AST dividit per plaquetes, del anglès *AST platelets ratio index*) conegut marcador indirecte de hipertensió portal (204) com a predictor de supervivència lliure de trasplantament en 386 pacients amb posterior validació dels resultats en 629 pacients. Es va comprovar que la resposta al tractament i l'índex APRI basal i /o al any del tractament mantenien valor pronòstic de forma independent.

L'ús combinat de la resposta a tractament i l'APRI amb un valor de tall de 0.54 va permetre classificar els pacients en 3 grups de supervivència estadísticament diferents, identificant per tant, un subgrup de pacients que tot i resposta al tractament persistien amb risc de mal pronòstic (203).

La mesura de la rigidesa hepàtica mitjançant elastografia transitòria transparietohepàtica (ET) ha modificat el maneig de les malalties hepàtiques permetent la detecció precoç de fibrosi i seguiment evolutiu de la mateixa evitant els riscos de mètodes invasius com la biòpsia

hepàtica. Segons l'etiologia de la malaltia hepàtica i l'aparell emprat són diferents els valors de tall suggestius de fibrosis (205). Per la CBP un primer estudi amb 73 pacients va relacionar valors de ET superiors a 7,3 kPa amb fibrosis grau 2 o més, mentre que valors superiors a 17,3 kPa amb cirrosis (206).

Aquests resultats es van ampliar amb una cohort prospectiva de 103 pacients amb biòpsia, identificant el valor de tall de 8.8 kPa per fibrosis grau 2 o superior i de 16,9 kPa per cirrosis amb una sensibilitat i especificitat superior al 90%. Addicionalment, es va avaluar la capacitat dels marcadors de fibrosis APRI o Fib-4 per detectar fibrosis o cirrosis essent inferiors a la ET. En 150 pacients addicionals seguits durant 5 anys (2,3 des de l'última ET) es va testar l'impacte pronòstic del valor basal de ET i dels canvis. Canvis superiors a 2,1 KPa anuals i valors basals d'ET de 9,6 kPa es van associar a mal pronòstic (207).

En conclusió, la resposta al tractament, l'electrografia hepàtica i índex pronòstics com el GLOBE ens permeten una valoració de forma complementària per a predir aquells pacients amb més alt risc de progressió.

## 2.6 Tractament

### 2.6.1 Tractament de primera línia: Ursodesoxicòlic

AUDC és un àcid biliar que forma part dels components de la bilis humana. Administrat oralment és absorbit al intestí prim, captat per la circulació enterohepàtica i secretat a la circulació biliar augmentant el percentatge d'aquest àcid a la bilis fins en un 50%. La colèstasi pot disminuir-ne l'absorció (208). S'han descrit varis mecanismes d'acció, i actualment es creu que és clau el seu paper protector dels colangiòcits de la toxicitat dels àcids biliars hidrofòbics. La conjugació d'aquests àcids biliars hidrofòbics i la modulació de micel·les riques amb fosfolípids protegiria la membrana dels colangiòcits dels pacients amb CBP més sensibles a l'apoptosi per una menor concentració de bicarbonat. També estimula la secreció biliar mitjançant l'activació de l'expressió de transportadors i facilitant-ne la inserció en la membrana (209).



Diferents estudis amb entre 2 i 3 anys de seguiment, van demostrar que AUCD a dosis entre 13 i 16 mg/Kg/dia s'associava a disminució de la bilirubina, FA, GGT, transaminases, colesterol i immunoglobulina M (210) vers placebo (211-214). Addicionalment també es va descriure milloria de l'índex pronòstic Mayo (211), reducció de símptomes (213) i milloria histològica sobretot quan s'iniciava en estadis inicials (212-215). No obstant, no es va evidenciar milloria en el pronòstic (210-215). La combinació d'aquests i d'estudis en metaanàlisi va objectivar impacte pronòstic però només en malaltia moderada o greu (216) sense impacte en la supervivència. No obstant, tots ells estaven basats en un temps de seguiment curt i en alguns les dosis de AUCD eren insuficients (217-220).

Recentment s'ha validat l'impacte pronòstic de AUCD en una cohort de 3902 pacients amb CBP seguits durant 7,8 anys. El tractament s'associava a una milloria significativa de la supervivència lliure de transplantament. Aquest benefici era independent de l'estadi histològic al inici del tractament i de variables clíniques i analítiques. Addicionalment es va objectivar benefici en la supervivència (predita per l'índex GLOBE) també en pacients sense resposta complerta al tractament o en pacients amb dosis insuficients. Ambdós grups, no obstant, presentaven pitjor pronòstic respecte als pacients tractats dosis plena i amb resposta bioquímica complerta respectivament (221).

Es considera que el percentatge de pacients sense una resposta complerta oscil·la entre un 24 i un 52% dels totals, segons el índex de resposta emprat. Aquests pacients es poden beneficiar de tractament de segona línia (197-200).

#### 2.6.2 Tractament de segona línia: Àcid obeticòlic

L'àcid obeticòlic (AOC) és l'únic tractament aprovat per la CBP sense resposta o amb intolerància a AUCD. Les guies clíniques europees recomanen iniciar tractament amb 5 mg augmentant a 10 mg segons tolerància i efectivitat a partir dels 6 mesos de tractament (89). Aquestes dosis s'han d'ajustar en pacients amb cirrosi (79).

AOC sorgeix de la modificació sintètica del àcid quenodesoxicòlic per augmentar l'activitat agonista del receptor FRX de forma selectiva (78). Aquest receptor, com s'ha explicat en el

capítol de fisiopatogènia, esdevé clau en la protecció del colangiòcit vers els àcids biliars hidrofòbics regulant la síntesis i excreció d'àcids biliars al hepatòcit (12,78, 222).

L'efectivitat de AOC en la CBP es va descriure inicialment en un estudi de fase II. L'addició de AOC al tractament amb AUDC en 124 pacients amb fosfatasa superior a 1,5 els valors normals es va associar a una reducció significativa de FA als 3 mesos respecte placebo. Aquesta reducció del 25% respecte placebo, s'associava a disminució de transaminases i GGT (74).

L'efecte beneficiós es va confirmar en un estudi de fase III amb 216 pacients que es van assignar de forma aleatòria a rebre placebo o tractament a dosis entre 5 i 10mg. Aquests pacients presentaven nivells de FA superiors a 1,67 vegades la normalitat i bilirubina elevada (menor a 2 vegades la normalitat) tot i tractament durant un any amb AUDC (93%) o eren intolerants al tractament. Menys de un 20% presentaven ET suggestiva de cirrosis. El criteri de resposta va ser anomenat criteri POISE: disminució de la fosfatasa superior a 15%, essent inferior a 1,67 vegades la normalitat addicionalment a la normalització de la bilirubina. Entre un 46% i 47% dels pacients tractats amb AOC van assolir resposta al tractament al any respecte un 10% del grup amb placebo. Addicionalment, els pacients amb tractament presentaven major disminució de la FA, bilirubina, GGT, transaminases i IgM (75). Aquest benefici es va mantenir en un seguiment mitjà de 4 anys, en què 197 pacients van ser tractats amb una dosis mitja de 8,5mg/dL assolint el criteri de resposta en un 51%. La FA mitjana va disminuir progressivament fins als 30 mesos mantenint-se en el límit de la normalitat a 48 mesos, mentre que GGT i les transaminases es van mantenir estables a partir dels 12 mesos (223). A nivell de fibrosis no es va evidenciar canvis en els valors de la elastografia a 12 mesos (75) no obstant, als 3 anys de tractament es va apreciar milloria histològica en la fibrosis i pèrdua de conductes biliars (71-76%) i reducció de l'àrea de col·lagen (76). El tractament no va millorar els símptomes (75-76).

També en monoteràpia es va evidenciar milloria, en 59 pacients sense tractament amb AUDC assignats aleatòriament a AOC (10mg o 50mg/dia) o placebo. Els pacients tractats van presentar una milloria significativa de FA a 3 mesos així com milloria dels nivells de IgM, GGT i transaminases respecte placebo. No obstant un 75% dels pacients persistien amb FA alterada a 3 mesos de tractament amb 10mg/d de AOC (224).

S'han descrit pocs efectes adversos en relació a AOC. El més comú és el prurit de caràcter dosi-dependent (56% en els pacients a dosis inicial de 5mg i 58% en dosis de 10mg/d (75). El percentatge de pacients amb pruriti va ser similar en l'estudi a 3 anys (77%) (225). Addicionalment es va evidenciar una disminució de les lipoproteïnes HDL amb increment de les LDL sense impacte en els triglicèrids (75,225). La implicació cardiovascular d'aquest fet és desconeguda. El setembre de 2017 es va reportar un avís de seguretat medicamentosa de la FDA ( agència pública d'administració d'aliments i medicaments d'Estats Units d'Amèrica del anglès *Food and drug administration*) per casos de dany hepàtic sever en pacients en tractament amb AOC. Actualment, estudis en curs estan avaluant aquest fàrmac en pacients amb cirrosi evolucionada i es recomana ajust de dosis en cirrosi grau B o C en la classificació de Child Pugh (226-227) a 5-10mg/setmanals (79,228).

Estudis en vida real (Espanya 86 pacients i Canadà 64 pacients) han confirmat milloria de la FA, transaminases, GGT i IgM. Addicionalment, han objectivat una milloria del índex pronòstic GLOBE amb bona tolerància i escassos efectes adversos, principalment prurit (10% en la cohort espanyola i 41% en la canadenca). No obstant, menys de la meitat (30% en la cohort espanyola a 12 mesos i 43% en la canadenca a 19 mesos) va assolir el criteri POISE (fosfatasa superior a 15%, essent inferior a 1,67 vegades la normalitat addicionalment a la normalització de la bilirubina) i menys d'un terç (3,5% a 12 mesos en cohort espanyola i 28% a 19 mesos en la canadenca) va normalitzar completament la FA (229-230) persistent, per tant, en risc de desenvolupar progressió de la malaltia (187).

Si bé en ambdós estudis la majoria de pacients van ser tractats amb 5mg/dL i per tant possiblement hi hauria possibilitat d'augmentar la resposta amb un increment de dosis, persisteix la necessitat de nous tractaments.

## 2.6.3 Tractaments no aprovats

### 2.6.3.1 Fibrats

Els fibrats són agonistes del receptor PPARs. Com ja s'ha explicat en l'apartat de fisiopatogènia, aquesta família de receptors té diferents isoformes. La variabilitat entre estudis amb fibrats diversos, probablement es deu a l'activació de diferents isoformes segons el tipus de fibrat.

En les últimes dècades varis estudis han suggerit el benefici dels fibrats (principalment fenofibrat i bezafibrat aprovats per la dislipèmia) en la CBP millorant la colèstasis, transaminases i IgM (59) (231-241). No obstant abans de 2018 eren sense grup control i la majoria en cohorts petites o de curt seguiment (242).

#### 2.6.3.1.1 Bezafibrat

El bezafibrat és un agonista de les isoformes gamma, delta i alfa (84). En el nostre medi es va realitzar un estudi en 30 pacients sense resposta a AUDC o FA elevada que van ser tractats amb bezafibrat a 400 mg/dia. Es va evidenciar milloria bioquímica així com milloria de la pruija en aquests pacients (161).

El 2018 es va presentar un estudi doble cec aleatoritzat en 100 pacients amb CBP tractats amb AUDC sense resposta a 6 mesos segons el criteri Paris II. Es va avaluar com a criteri de resposta la normalització de la FA, la bilirubina, les transaminases, albúmina i la coagulació mitjançant l'índex internacional normalitzat INR (de l'anglès *International Normalized Ratio*) a 24 mesos de tractament. Un 31 % dels pacients tractats van presentar resposta mentre que cap va respondre en el grup placebo. Es va observar una disminució significativa de la FA, la bilirubina i transaminases amb el tractament. L'ET va disminuir un 15% en el grup de tractament respecte un 20% de increment en el grup placebo. La taxa general d'efectes adversos reportada va ser similar en tractament (86%) respecte placebo (90%). Van presentar efectes adversos greus fins un 9% dels pacients en tractament principalment increment de transaminases (que van resoldre al suspendre el tractament) i increment de creatinina (85).

Un recent estudi retrospectiu japonès va comparar de 746 pacients tractats amb bezafibrat i AUCD, respecte 3162 amb tractament exclusiu amb AUCD durant un seguiment de 4,4-5,1 anys. Es va evidenciar un increment significatiu de la supervivència lliure de trasplantament en els pacients tractats. Es va dividir als pacients segons el risc de progressió al inici del tractament persistint el benefici en la supervivència (223).

De forma similar que inclús en pacients sense resposta a AUCD aquest tractament millora supervivència, el bezafibrat millora factors associats a pronòstic inclús en pacients que no presenten una resposta complerta (243). Aquests pacients sense resposta, no obstant, presenten progressió de la malaltia (244). S'ha suggerit en pacients sense resposta complerta a AUCD ni a un primer fàrmac de segona línia, el triple tractament amb AOC i fibrats podria ser l'aproximació òptima (243).

S'ha valorat en 58 pacients el tractament combinat amb AOC i fibrats durant una mediana de 11 mesos amb disminució de la FA, GGT, transaminases i bilirubina (245). En el nostre medi el tractament combinat en 15 pacients durant 11 mesos també es va associar a milloria de FA, GGT, transaminases presentant addicionalment un descens del índex pronòstic GLOBE , suggerint milloria pronòstica (230).

#### 2.6.3.1.2 Fenofibrat

El fenofibrat és un agonista de PPAR alfa (85). Els estudis principals amb aquest fàrmac són retrospectius o amb escàs seguiment (242).

Es va comparar l'evolució lliure de trasplantament de 46 pacients tractats amb AUCD i fenofibrat (145 mg/d) durant una mediana de 11 mesos respecte a 74 pacients en monoteràpia amb AUCD. Tot i similar presentació entre els dos grups, els pacients tractats amb fibrats van presentar una tendència a major supervivència lliure de descompensacions o mortalitat ( $p= 0,006$ ) (246). No obstant aquest resultats no es van confirmar en un estudi posterior en 23 pacients tractats amb 200 mg/dia de fenofibrat durant 21 mesos, on malgrat un descens significatiu de la FA, l'índex pronòstic UK-PBC no van presentar milloria significativa (247).

S'ha reportat hipertransaminasèmia severa o hiperbilirubinèmia en un 6-9% dels pacients tractats amb fenofibrat amb remissió de la mateixa després de parar el tractament. També s'ha reportat elevació de la creatinina (246-247). En un estudi retrospectiu al nostre medi valorant pacients tractats addicionalment a AUCD amb AOC, fenofibrat o bezafibrat la majoria d'efectes adversos considerats en relació al tractament i greus o que requerissin parar el tractament van produir-se en pacients tractats amb fenofibrat: 11,8% respecte a 3,4% dels altres dos règims. Els pacients tractats amb fenofibrat (n: 51) van presentar un cas de hipertransaminasèmia, disfunció renal, miàlgies, astènia i neutropènia respectivament (244).

### 2.6.3.2 Immunosupressors

Donat que la CBP és considerada una malaltia autoimmunitària, varis immunosupressors s'han avaluat en el decurs dels anys. Han mostrat benefici limitat rituximab (dirigit contra CD20 actuant selectivament contra les cèl·lules B) i ustekinumab (contra IL-12). Ambdós anticossos monoclonals van mostrar en estudis oberts en pocs pacients (14 i 20 respectivament) milloria discreta de la fosfatasa (16 i 12% respectivament) a 6 i 7 mesos (81). La budesonida històricament s'ha postulat com possible tractament des segona línia. S'han portat a terme recentment 3 estudis amb aleatorització. Els dos primers, realitzats en pacients no seleccionats segons resposta a AUCD, van mostrar amb dosis de 6 mg/dia una milloria histològica i reducció de fosfatasa, transaminases i IgM. El tercer realitzat en 62 pacients no cirròtics sense resposta a AUCD (22 amb placebo i 40 tractats a dosis de 9mg/dia) va mostrar milloria analítica i van assolir en major proporció els criteris de resposta POISE. No obstant, no es va apreciar milloria histològica a 3 anys que era l'objectiu del estudi. Cal destacar que la taxa d'efectes adversos greus va ser superior en el grup de la budesonida (23 i 9%) a expenses principalment de hipocortisolemia, cataractes, hipertensió i osteopènia (248).

### 2.6.3.3 Tractaments en desenvolupament

Agonistes de diferents isoformes dels receptors PAAR també han estat avaluats en la CBP. Seldelapar (agonista de la isoforma delta) va ser inicialment valorat vers placebo en un estudi aleatoritzat amb 41 pacients sense resposta a AUCD. El tractament es va associar a disminució significativa de la FA, més d'un 12% dels pacients van normalitzar fosfatasa als 3 mesos. No obstant, l'estudi es va interrompre per hipertransaminasèmia severa en 3 pacients en tractament amb 200mg/d (86). Posteriorment es va testar a dosis entre 5 i 10mg/dia vers placebo en 112 pacients sense resposta a AUCD. Als 3 mesos de tractament un 57-78% dels tractats (segons dosis) havien assolit el criteri POISE versus 12% en placebo. No es va detectar hipertransaminasèmia i els efectes adversos no van ser superiors al grup placebo. Està pendent un estudi fase III (249). Elafiranor (agonista de la isoforma delta y alfa) (87) ha mostrat resultats prometedors en un estudi aleatoritzat respecte a placebo a 3 mesos en pacients sense resposta a AUCD. Un 67 i 79% (segons dosis) dels pacients tractats van complir el criteri POISE versus 6,7% en el grup placebo. No es va referir prurit entre els participants ni efectes adversos greus (250).

Actualment en múltiples assajos clínics s'estan testant diferents mecanismes per a tractar pacients sense resposta a primera línia. Són potencials tractaments tropifexor (un agonista no esteroïdal de FRX) que ha mostrat descens de GGT. Anàlegs de la proteïna FGF19 ha mostrat milloria de la FA però amb una alta taxa de diarrea com efecte advers. L'àcid nor-ursodesoxicòlic és fruit de la modificació sintètica de UDCA reduint un grup metil de la cadena lateral. Aquesta modificació permet major capacitat per activar els canals secretors de bicarbonat dels colangíols.

És probable que en un futur pròxim múltiples molècules amb diferent mecanisme d'acció formin part de les eines terapèutiques pel tractament de la CBP, és per tant d'especial importància definir quins pacients presenten en risc de progressió i quins són els tractaments més òptims (81).

### 3. JUSTIFICACIO I HIPÒTESIS

La prevalença de la CBP ha incrementat globalment (10,11,15-20,75). Addicionalment, estudis recents apunten que la prevalença al sud d'Europa és similar a altres zones tradicionalment descrites d'alta incidència com el Regne Unit o Nord Amèrica (7,8,19). Recentment han aparegut nous tractaments per a la CBP possibilitant el rescat de pacients sense resposta al tractament de primera línia (74,93,224-225). No obstant, el benefici del tractament és menor en fases avançades (192) i en registres de causes de trasplantament hepàtic recents no és infreqüent la CBP (183). En aquest escenari, la identificació i diagnòstic precoç dels pacients amb CBP en el nostre medi és clau, així com identificar els pacients amb risc de progressió.

La biòpsia hepàtica és un procediment cada vegada menys acceptat pels pacients, amb risc de complicacions i amb un cost elevat pel sistema sanitari (251). Actualment el diagnòstic de la malaltia es pot realitzar sense biòpsia, segons les guies clíniques internacionals, en pacients amb colèstasis i anticossos antimitocondrials o altres anticossos específics com anti-sp100 o anti-gp210. Però encara hi ha pacients seronegatius que requereixen biòpsia pel diagnòstic (89).

Recentment, s'han descrit dos nous anticossos amb alta especificitat per la CBP: antihexocinasa 1 (HK1) i anti-proteïna kelch-like 12 (KLHL12). Aquests anticossos poden permetre el diagnòstic sense biòpsia hepàtica en els pacients amb CBP sense els anticossos específics tradicionals. Aquest fet, facilitaria el diagnòstic i podria contribuir a que fos més precoç i per tant avançar l'inici del tractament. No obstant, els nous anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12, no s'han estudiat en població europea ni s'ha avaluat la seva persistència en el temps o relació amb els anticossos antinuclears altament específics per la CBP anti-gp210 i anti-sp100. Donada l'alta variabilitat genètica i diferent curs clínic de la malaltia segons els grups ètnics i poblacionals, per poder utilitzar aquests nous anticossos de forma rutinària en pacients del nostre medi és important determinar la seva prevalença. Especialment és important en els pacients seronegatius per els anticossos antimitocondrials i determinar si aporten un valor addicional als anticossos antinuclears específics emprats actualment en pacients seronegatius pels anticossos antimitocondrials.



Diferents estudis realitzats en períodes i poblacions diverses, han referit prevalences molt discordants (4,7 i 27%) dels anticossos anti-gp210 (115,126-132). La prevalença dels anticossos anti-sp100 tot es situa entorn a una quarta part dels malalts (127,131,138-140).

Adicionalment, varis estudis han relacionat la presència de anti-gp210 a major colèstasis (127-130), hipertransaminasèmia (127,131) i menor albúmina (128,133). Adicionalment en estudis realitzats en població japonesa s'ha descrit hepatitis d'interfase i inflamació lobular més greu (129) amb augment del risc de insuficiència hepàtica (127-129). A Europa els estudis són heterogenis, tot i pràcticament universal alteració analítica al diagnòstic (133,171,173), l'índex pronòstic Mayo relacionat amb pitjor pronòstic s'ha reportat elevat en dos estudis (133,171) i sense increment significatiu en altres dos (126,173). No s'ha evidenciat més afectació histològica ni un pitjor pronòstic (126,130,168,173), i estudis recents a Europa i a Estats Units d'Amèrica no evidencien implicació pronòstica de la presència d'anticossos anti-gp210 (131,174).

La positivitat dels anticossos anti-sp100 s'ha relacionat amb major alteració analítica (131,138) i impacte en l'índex pronòstic Mayo (139). No obstant la implicació histològica és controvertida (129,138) i l'impacte pronòstic no s'ha demostrat.

El mecanisme pel qual els anticossos anti-gp210 i anti-sp100 es podrien tenir implicació pronòstica no és conegut. I tot i suggerir-se com a marcador precoç també s'ha suggerit la seva aparició com a reflex de l'activació crònica del sistema immune en fases tardanes de la malaltia (115). En qualsevol cas, el fet de poder identificar sense proves addicionals, pacients amb alt risc de progressió en la CBP permetria ajustar el maneig i possiblement plantejar avaluació precoç de tractaments de segona línia (201) motiu pel que és interessant conèixer en la nostra població la prevalença i valor pronòstic d'aquests anticossos antinuclears específics.

Cap estudi ha valorat les implicacions pronòstiques de la presència de anti-HK1 i/o anti-KLHL12. Però la nostra hipòtesis és que tant els anticossos nuclears específics com els nous anticossos podrien tenir un valor pronòstic en la CBP.

Un altre tema en debat dels anticossos antinuclears específics de la CBP és la persistència en el temps i implicacions pronòstiques d'aquesta. Pocs estudis han analitzat la persistència en el

temps dels antinuclears específics, amb prevalences de positivització de anti-gp210 molt diverses (128-129) i absència de canvis significatius en els nivells d'anti-sp100 (131-132). Addicionalment, s'ha atribuït una pitjor resposta al tractament, elevació dels índexs pronòstics major fibrosis (131) a la positivització de anti-sp100; i major supervivència lliure de trasplantament (128) en relació a la negativització de anti-gp210.

La persistència en el temps dels nous anticossos no és coneguda. En base a la variabilitat dels antinuclears descrita en anteriors estudis, els nous anticossos podrien tenir una taxa de variabilitat similar, menor a una cinquena part amb probable implicació pronòstica de la seroconversió.

En resum, la prevalença dels anticossos específics anti-gp210 i anti-sp100 és variable i la seva fluctuació en el temps poc estudiada, tot i suggerir-se que la seva presència i positivització podria implicar un pitjor pronòstic en la CBP. La prevalença dels nous anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 és desconeguda fora d'Estats Units i Canadà i la seva fluctuació en el temps o implicacions pronòstiques no han estat estudiades.

La hipòtesis d'aquest treball és que els anticossos anti-gp210 i anti-sp100 en la nostra població i període actual seria la mediana de la descrita en els estudis anteriors situant-se entorn als 20% i de anti-sp100 entorn a una quarta part dels malalts. La positivitat d'ambdós antinuclears específics i la seva positivització tindria un impacte negatiu en la supervivència lliure de complicacions hepàtiques o trasplantament.

Respecte a la prevalença dels nous anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 podria ser similar en el nostre medi a la referida en l'estudi descriptiu, entorn a un 40% i també relacionada amb un pitjor pronòstic de la malaltia hepàtica.

#### 4. OBJETIUS

- Analitzar i comparar la prevalença dels anticossos anti-KLHL12 i anti-HK1 en pacients afectes de colangitis biliar primària (CBP) en poblacions de diferents àmbits geogràfics: Barcelona, Calgary (Canadà), Edmonton (Canadà), Salamanca i Varsòvia (Polònia).
- Determinar la prevalença de pacients amb anticossos antimitocondrials negatius en les diferents poblacions. Determinar si la prevalença dels nous anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 és similar en la població seronegativa pels antimitocondrials.
- Avaluar en pacients amb CBP de Barcelona la prevalença dels nous anticossos en general i de forma específica en els pacients seronegatius pels antimitocondrials.
- Estudiar la prevalença dels anticossos específics anti-sp100 i anti-gp210 en pacients de Barcelona.
- Determinar si la presència dels anticossos antinuclears específics anti-sp100, anti-gp210, anti-HK1 o anti-KLHL12 s'associen a diferent forma de presentació de la malaltia i/o tenen valor pronòstic en la CBP.
- Definir si hi ha canvis en la positivitat dels anticossos antinuclears específics de la CBP o dels anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 durant el temps i si aquests canvis tenen implicació pronòstica o relació amb l'inici del tractament.

## 5. MATERIAL, MÈTODES I RESULTATS

### 5.1 Primer article

“The Prevalence of Anti-Hexokinase-1 and Anti-Kelch-Like 12 Peptide Antibodies in Patients With Primary Biliary Cholangitis Is Similar in Europe and North America: A Large International, Multi-Center Study.”

#### 5.1.1. Resum del article

Estudi multicèntric extens internacional: La prevalença dels anticossos antihexocinasa 1 i anti-proteïna Kelch-like 12 en pacients amb colangitis biliar primària és similar a Europa i Nord Amèrica.

##### 5.1.1.1 Introducció

En el diagnòstic de la CBP és cabdal la detecció dels anticossos antimitocondrials (AMA). Fins en un 15% dels pacients són seronegatius per aquests anticossos. La detecció dels AMA mitjançant la tècnica MIT3 (que incorpora els 3 epítops principals) augmenta la sensibilitat d'aquests anticossos, així com l'ús dels anticossos antinuclears anti-sp100, anti-gp210 altament específics per la malaltia. No obstant, persisteix un percentatge de pacients seronegatius que requereixen biòpsia pel diagnòstic. Els anticossos contra la proteïna kelch-like 12 (KLHL12) i contra la hexocinasa 1 s'han identificat recentment com a nous marcadors de CBP per la seva alta especificitat (96-97%). En la cohort d'estudi de 366 pacients la positivitat d'aquests anticossos va ser de 40% per anti-KLHL12 i 45% per anti-HK1, mentre que en pacients seronegatius pels AMA la seva seroprevalença va ser de 53 i 42% respectivament. La prevalença d'aquests nous anticossos no ha estat testada fora del estudi descriptiu inicial. Per aquest motiu, l'objectiu d'aquest estudi és avaluar i comparar la prevalença en sèrums de pacients de diferents zones d'Europa i Canadà.

#### 5.1.1.2 Mètodes

Es van analitzar 487 pacients amb CBP documentada diagnosticada segons les guies de europees. Van participar centres de referència en CBP de Barcelona, Salamanca, Calgary (Canadà), Edmonton (Canadà) i Varsòvia (Polònia). Es va testar la presència dels autoanticossos contra HK1 i contra el pèptid KLHL12 mitjançant ELISA i els anticossos antimitocondrials AMA per la tècnica MIT3. Es va testar la especificitat comparant els resultats amb 127 sèrums de pacient sense CBP amb CEP (n=41), hepatitis autoimmunitària HAI (n=20), solapament entre CEP i HAI (n=12), malalties infeccioses (n=20), càncer de colon (n=14) i controls sans (n=20). Les diferències entre les 5 cohorts es van analitzar mitjançant la anàlisi de la variància (ANOVA) utilitzant la prova de Kruskal-Wallis i entre cohorts específiques utilitzant el test t de doble cua de Mann-Whitney per no paramètrics. Es va considerar significants valors de P inferiors a 0.05.

#### 5.1.1.3 Resultats

La prevalença de anti-HK1 per les diferents poblacions va ser de 36,6-52,4% i de anti-KLHL12 de 22-33%, essent similars entre les 5 poblacions.

La freqüència de pacients seronegatius pels anticossos antimitocondrials va ser diferent en les diferents poblacions: Calgary 7,2%, Barcelona 12,9%, Edmonton 16,3%, Salamanca 23,8% i Varsòvia 36,6% ;  $p=0,002$ . En conseqüència, es van estratificar segons positivitat dels anticossos antimitocondrials.

En antimitocondrials positius considerant tota la població els anticossos anti-HK1 van ser positius en un 45,7% amb una especificitat de 94,5% mentre anti-KLHL12 van ser positius en un 24,9% amb una especificitat de 95,3 %.

En antimitocondrials negatius la positivitat general va ser de 24,7% per HK1 estadísticament inferior a AMA positius. La prevalença va ser diferent segons les poblacions essent de 11,8-

40%. Per anti-KLHL12 la positivitat general va ser de 19,2% similar entre AMA positius i negatius. La prevalença va ser diferent segons les poblacions 10,3-80%.

Analitzant ambdós nous anticossos pel diagnòstic de pacients seronegatius per els AMA es van detectar un 38,4% de pacients, amb una especificitat del 91,3%. La combinatòria dels dos nous anticossos va incrementar la sensibilitat del diagnòstic serològic de 85% a 90,8%.



# The Prevalence of Anti-Hexokinase-1 and Anti-Kelch-Like 12 Peptide Antibodies in Patients With Primary Biliary Cholangitis Is Similar in Europe and North America: A Large International, Multi-Center Study

Gary L. Norman<sup>1\*</sup>, Anna Reig<sup>2</sup>, Odette Viñas<sup>3</sup>, Michael Mahler<sup>1</sup>, Ewa Wunsch<sup>4</sup>, Piotr Milkiewicz<sup>4,5</sup>, Mark G. Swain<sup>6</sup>, Andrew Mason<sup>7</sup>, Laura M. Stinton<sup>6</sup>, Maria Belen Aparicio<sup>8</sup>, Maria Jose Aldegunde<sup>8</sup>, Marvin J. Fritzler<sup>6</sup> and Albert Parés<sup>2</sup>

OPEN ACCESS

## 5.2 Segon article

“Novel Anti-Hexokinase 1 Antibodies Are Associated With Poor Prognosis in Patients With Primary Biliary Cholangitis.”

### 5.2.1 Resum del article

Els nous anticossos antihexocinasa 1 estan associats a mal pronòstic en pacients amb colangitis biliar primària.

#### 5.2.1.1 Introducció

Els anticossos específics són claus en el diagnòstic de la CBP, podent-se realitzar el diagnòstic en el 90% dels pacients mitjançant la detecció dels AMA. En els pacients seronegatius per aquests anticossos, la detecció dels anticossos antinuclears anti-gp210 i anti-sp100 també pot permetre el diagnòstic serològic. Addicionalment, en diversos estudis s’ha descrit una implicació pronòstica d’aquests dos anticossos. Els anti-gp210 s’ha relacionat amb major colèstasis i alteració analítica, així com hepatitis de interfase més greu i major taxa d’insuficiència hepàtica, mentre que anti-sp100 s’ha relacionat amb major prevalença de cirrosis, elevació de FA però no s’ha demostrat un clar impacte en la supervivència.

Recentment s’han identificat dos anticossos específics de la CBP dirigits contra anti-HK1 i anti-KLHL12 amb alta especificitat pel diagnòstic de la malaltia. No obstant no s’ha avaluat la seva implicació pronòstica ni s’ha estudiat la variació de prevalença al llarg del temps.

Aquest estudi analitza l’evolució en la prevalença dels anticossos al llarg del temps i el seu impacte en la presentació, resposta al tractament i pronòstic.



### 5.2.1.2 Mètodes

S'han avaluat 254 pacients amb CBP del Hospital Clínic de Barcelona diagnosticats entre 1981 i 2015. Un 4,3% van presentar solapament amb hepatitis autoimmune. Es va valorar la presentació analítica al diagnòstic, comorbiditats autoimmunes, resposta al tractament, índex pronòstic GLOBE i l'índex UK-CBP. Durant una mediana de seguiment de 14 (IQR 8) anys es va valorar la seva evolució valorant descompensació hepàtica, desenvolupament de hepatocarcinoma, trasplantament hepàtic o mortalitat. La causa de mort es va categoritzar en relacionada amb la malaltia hepàtica o sense relació.

Es van analitzar per ELISA els anticossos anti-HK1, anti-KLHL12, anti-sp100, anti-gp210 i AMA (MIT3) al inici de la malaltia (mediana de 4 anys del diagnòstic). En 169 pacients es van realitzar una nova determinació addicional i en 49 dues determinacions addicionals. El temps entre la primera i última determinació van ser de 8 anys.

Es van valorar les diferències categòriques mitjançant khi quadrat i les quantitatives mitjançant t de Student en comparacions de dos grups i ANOVA en comparacions de més de dues categories. La supervivència lliure de trasplantament o mort de causa hepàtica i temps fins la descompensació es va analitzar mitjançant corbes de Kaplan-Meier i la comparació mitjançant el test de Breslow.

### 5.2.1.3 Resultats

Els anticossos anti-HK1 van ser positius en un 46% els anti-KLHL12 en un 23%. Els AMA van ser positius en un 94% i anti-sp100 en un 26% i anti-gp210 en un 21%. En els 16 pacients seronegatius per AMA el 37% van presentar un dels dos nous anticossos. Dels 10 pacients seronegatius per AMA i pels antinuclears específics per la CBP un 40% va presentar algun dels nous anticossos.

La variació en el temps de HK1 va ser de 13% i de anti-KLHL12 5%, anti-sp100 3% i anti-gp210 3%. Principalment els pacients seronegatius van desenvolupar els anticossos, essent molt poc freqüent que pacients inicialment amb anticossos esdevinguessin seronegatius durant el

seguiment. Els pacients testats abans i després del tractament amb AUCD no van presentar variació superior als testats en les dues ocasions després d'instaurar el tractament.

Els canvis serològics no van relacionar-se amb una diferent presentació o pronòstic excepte en el cas de anti-sp100. 4 pacients inicialment seronegatius per aquest anticòs i posteriorment seropositius van presentar major taxa de cirrosis i menor supervivència lliure de trasplantament i mort en relació amb la malaltia hepàtica que els pacients persistentment positius o seronegatius.

No es van apreciar diferències clíniques, analítiques, de resposta a tractament ni pronòstiques en relació a anti-KLHL12. Els pacients anti-HK1 positius van presentar major bilirubina al diagnòstic, menor resposta a AUCD segons el criteri Toronto. Els índex pronòstic van ser similars. També van presentar menor supervivència lliure de descompensació hepàtica i menor supervivència lliure de trasplantament o mortalitat de causa hepàtica. La mortalitat general va ser similar.

Els pacients anti-sp100 positius van presentar major taxa de solapament amb hepatitis autoimmune, sense altres diferències en la presentació ni resposta al tractament. Els malats anti-sp100 positius tenien major taxa de mal pronòstic segons l'índex GLOBE. També van presentar menor supervivència lliure de descompensació hepàtica i supervivència lliure de trasplantament o mortalitat en relació amb la malaltia hepàtica. La mortalitat general va ser similar. En contraposició, els pacients anti-gp210 positius van presentar al diagnòstic major hipertransaminasèmia i nivells de immunoglobulina M però una similar resposta al tractament, similars índexs pronòstic i una evolució sense diferències respecte a pacients anti-gp210 negatius.

## Novel Anti–Hexokinase 1 Antibodies Are Associated With Poor Prognosis in Patients With Primary Biliary Cholangitis

Anna Reig, MD<sup>1</sup>, Gary L. Norman, PhD<sup>2</sup>, Mila Garcia, MD<sup>3</sup>, Zakera Shums, MS<sup>2</sup>, Silvia Ruiz-Gaspà, PhD<sup>1</sup>, Chelsea Bentow, BS<sup>2</sup>, Michael Mahler, PhD<sup>2</sup>, Maria A. Romera, RN<sup>3</sup>, Odette Vinas, MD<sup>3</sup> and Albert Pares, MD, PhD<sup>1</sup>

## 5. DISCUSSIÓ

La prevalença dels anticossos anti-KLHL12 i de HK1 va ser similar a les cohorts de Barcelona, Salamanca, Calgary (Canadà), Edmonton (Canadà) i Varsòvia (Polònia). Aquest fet recolza emprar aquests anticossos en la pràctica clínica també a Europa.

La prevalença general de anti-HK1 va ser de dos cinquens i de anti-KLHL12 superior a un quart sense diferències entre les 5 poblacions. Aquestes prevalences es situarien a nivells superiors als anticossos antinuclears que actualment utilitzem en el diagnòstic de la CBP seronegativa (116,127). En gairebé un 40% dels pacients seronegatius pels anticossos convencionals els nous anticossos haurien permès el diagnòstic sense biòpsia.

La importància d'aquests anticossos rau principalment en els pacients seronegatius pels anticossos antimitocondrials. Cal destacar que en aquest estudi, la taxa de seronegatius és molt alta tot i emprar anticossos MIT3 amb alta afinitat donat el seu reconeixement dels diferents components de E2 (PDC, BCOAC i OGDC). Amb aquesta tècnica, la positivitat dels anticossos antimitocondrials en pacients amb CBP és calculada superior al 90% (252), mentre que en aquest estudi ha estat del 85%. Són rellevants les diferències entre els centres. Excepte Calgary la resta de centres tenen una prevalença de positius pels AMA menor al 90% i en el cas de Polònia proper al 65%. Aquestes troballes es podrien explicar per les característiques dels hospitals participants. Tots els centres de referència en malalties hepàtiques i concretament en CBP, segons l'estructura de derivació de pacients del seu sistema de salut, són més o menys receptors d'aquells pacients de més difícil diagnòstic i en conseqüència enriquits de pacients seronegatius.

Un 38,4% dels pacients seronegatius pels antimitocondrials van presentar positivitat per algun dels nous anticossos.

Les seroprevalences de anti-HK1 i anti-KLHL12 en seronegatius per AMA es van distribuir de forma diferent segons les poblacions. Aquesta dispersió podria explicar-se pel baix número de pacients AMA negatius. Si bé les diferències entre dues de les cohorts amb més número de

pacients (Edmonton i Barcelona) no van ser significatives, es requereixen més estudis per poder afirmar que la prevalença dels nous anticossos és similar en pacients AMA negatius de diferents zones geogràfiques.

En el conjunt de pacients AMA negatius la sensibilitat dels anticossos anti-KLHL12 va ser similar respecte a AMA positius, però la sensibilitat dels anticossos anti-HK1 va ser menor. Malgrat ésser menys sensible, l'ús d'aquests anticossos van permetre augmentar la sensibilitat del diagnòstic amb un baix impacte en la especificitat. És destacable el fet que més de la meitat dels falsos positius dels anticossos anti-HK1 es van donar en hepatitis autoimmunitària. Els anticossos anti-HK1 es van identificar en un estudi amb microxips proteics on es comparava la capacitat dels diferents anticossos per d'identificar pacients amb CBP respecte a controls. Pacients amb hepatitis immunitària formaven part dels controls pel que caldria esperar baixa prevalença d'aquests anticossos en pacients amb HAI (143). El significat d'aquesta positivitat podria ser valorada en estudis dirigits.

Una altra dada a tenir en compte en AMA negatius és el solapament entre els dos anticossos, és a dir, si l'ús de anti-HK1 o anti-KLHL12 aïllat pot permetre el diagnòstic de pacients seronegatius o és superior el diagnòstic amb la determinació d'ambdós anticossos. Donat que la presència dels dos anticossos de forma simultània és molt baix, l'ús combinat dels dos aporta sensibilitat en el diagnòstic.

Un estudi posterior realitzat en 192 pacients a Xina (253) han mostrat prevalença global en AMA negatius similar a la descrita en aquest estudi, essent del 33,3% en anti-HK1 i de 22,2% en anti-KLHL12. Confirmant també un augment de la sensibilitat en la detecció de la malaltia del 76% al 83%.

El segon estudi, realitzat en una cohort extensa (254 pacients) en el nostre medi va confirmar una alta prevalença dels nous anticossos. Anti-KLHL12 van ser positius en gairebé la meitat dels pacients i anti-HK1 en més de una quarta part. No hi va haver relació entre la positivitat dels antinuclears específics i els nous anticossos.

En els pacients seronegatius per els anticossos antimitocondrials anti-HK1 i/o anti-KLHL12 van ser positius en un gairebé un 40%. En els pacients seronegatius per tots els anticossos específics clàssics de la CBP, que actualment requereixen biòpsia hepàtica pel diagnòstic, un 40% van ser positius per algun dels nous anticossos. Cap pacient AMA negatiu va presentar simultàniament els dos nous anticossos suggerint que l'ús d'ambdós nous anticossos simultàniament augmenta la sensibilitat respecte a l'ús d'un d'ells de forma aïllada. Tot i que són dades molt positives, la baixa prevalença de pacients seronegatius pels anticossos típics de la malaltia, requereix que aquestes troballes siguin validades en cohorts amb major número de pacients seronegatius pels AMA.

La prevalença de anti-sp100 en la població del estudi objecte d'aquesta tesis, va ser similar a estudis realitzats a Espanya i Itàlia (133), Grècia (138) o EUA (132) i superior a Japó (129), en concordança amb l'emplaçament geogràfic. La prevalença d'anti-gp210, va ser superior a la descrita prèviament en estudis amb pacients de Grècia, Itàlia i Espanya (que destacava per ser inferior a la resta de països) però, similar a la prevalença descrita a Japó o estats units (115,126-132).

Aquest és el primer estudi en determinar la taxa de seroconversió dels pacients amb anticossos anti-KLHL12 i anti-HK1. Els canvis en anti-KLHL12 van ser escassos 5% suggerint estabilitat en el temps. Anti-HK1 es va modificar en un 13% principalment cap a positiu, no obstant aquestes modificacions no es van associar a canvis en el pronòstic.

En referència als antimitocondrials del 7% seronegatius inicialment, més de la meitat dels pacients presentar seroconversió al llarg del temps el temps. No obstant considerant que el temps mig entre la primera i última determinació va ser de 7,7 anys, probablement l'aplicació pràctica en el diagnòstic de la malaltia és escassa.

Hi ha poques dades en referència als canvis dels anticossos antinuclears específics al llarg del temps. Inicialment l'equip de Nakamura va definir fins un 56% de negativització en 23 pacients anti-gp210 positius en context d'inici del tractament, aquests pacients que negativitzaven es comportaven de forma similar als pacients seronegatius per anti-gp210 (128). Posteriors

estudis del mateix grup amb una mostra superior (170) van mostrar una variabilitat del 16% en seropositius i menor a 5% en seronegatiu, també en context d'inici de tractament (129). Estudis posteriors en anti-sp100 han observat canvis menors al 3% (131) sense assolir variacions significatives durant el seguiment (131, 174). No obstant, els pacients amb augment dels títols de anti-sp100 (no de anti-gp210) presentaven menor taxa de resposta a AUDC (131).

En aquest estudi la variabilitat d'ambdós anticossos (anti-gp210 i anti-sp100) va ser només del 3,2%, aquesta baixa taxa podria estar relacionat amb el fet que en menys de un 15% la primera detecció es va realitzar abans del inici del tractament moment. No obstant, el percentatge de canvi no va superior en aquest subgrup de pacients testats abans i després del tractament (131). El fet que en aquest estudi amb llarg seguiment el viratge sigui principalment cap a positiu i associat a mal pronòstic, suggereix que els anticossos anti-sp100 podrien reflectir progressió de la malaltia.

En la mateixa direcció del que es suggeria en l'estudi de Gastelis, on la resposta al tractament amb UDCA s'associava a disminució dels títols de sp100; en l'estudi actual l'augment dels nivells de anti-sp100 es va associar a major percentatge cirrosis al diagnòstic (131). El present estudi també suggereix un pitjor pronòstic d'aquests pacients respecte als inicialment seropositius i d'aquells persistentment seronegatiu. La seroconversió de anti-sp100 podria ser una eina addicional per a identificar pacients amb risc de mal pronòstic a curt termini i per tant candidats als que valorar tractament de segona línia. No obstant, el baix número de pacients amb seroconversió i el biaix que implica treballar amb dades retrospectives, obliga a valorar les troballes amb cura i confirmar-les en estudis prospectius.

En referència al valor pronòstic dels anticossos específics de CBP, aquest article explora per primera vegada la relació entre els nous anticossos anti-HK1 i anti-KLHL12 i la presentació i pronòstic de la malaltia.

La seropositivitat dels anticossos anti-HK1 es va relacionar amb nivells superiors de bilirubina total, així com menor taxa de resposta a AUDC segons el criteri Toronto. Tot i que els índex pronòstics GLOBE i UK no van mostrar diferències, el pronòstic d'aquests pacients va ser pitjor,

presentant menor supervivència lliure de descompensacions així com de trasplantament o mortalitat relacionada amb la malaltia hepàtica. Els anticossos anti-HK1 podrien ser un marcador addicional als índex pronòstic per identificar pacient amb alt risc de progressió i per tant candidats a valorar tractaments de segona línia. No obstant, destaca absència de implicació en la mortalitat total. Aquest fet es podria explicar per l'edat de la població que va patir defunció de causa extra hepàtica (mediana de 84 anys) amb elevat risc de mortalitat general fet que dificulta assolir diferències significatives. En qualsevol cas, donat que es tracta d'un estudi retrospectiu pot existir biaix, motiu pel que les troballes requereixen verificació.

En contraposició, els anticossos anti-KLHL12 no es van relacionar amb diferent presentació ni evolució.

Posterior a la publicació d'aquest estudi, s'han determinat els nous anticossos en 192 malalts xinesos. Simultàniament a la detecció dels anticossos es va testar el perfil hepàtic evidenciant-se una correlació entre la positivitat de anti-HK1 o anti-KLHL12 i nivells elevats d'aspartat-aminotransferasa (AST), la FA i la GGT (253). Donada la implicació pronòstica de l'alteració dels citats paràmetres analítics (188,187,254) l'estudi recolzaria les troballes descrites en el present article tot i que la valoració dels dos anticossos només de forma convidada dificulta la comparació directe dels dos estudis.

Aquests nous anticossos com a marcadors de la malaltia i predictors de pronòstic han estat objecte d'un recent editorial a la revista de publicació, posant en rellevància el seu possible impacte clínic, però també la necessitat de confirmar aquestes troballes en altres estudis prospectius (255). També ha donat lloc a una carta on Granito i coautors posen en rellevància els anticossos i proposa ampliar la seva determinació a d'altres cohorts d'àrees geogràfiques diferents (256).

En referència als antinuclears específics de la malaltia, aquest estudi recolza el valor pronòstic de anti-sp100 suggerit en anteriors estudis (138-140). Els pacients anti-sp100 seropositius presentaven pitjor pronòstic amb menor supervivència lliure de descompensacions hepàtiques així com menor supervivència lliure de trasplantament o mortalitat en relació a la malaltia hepàtica. Cal destacar que la mortalitat global dels pacients anti-sp100 positius, no va ser



superior, probablement per l'edat avançada general de la població com s'ha explicat anteriorment pels anti-HK1 positius.

El percentatge de pacients amb índex pronòstic GLOBE per edat desfavorable va ser superior en seropositius per aquest anticòs, en concordança a estudis previs on l'índex pronòstic de Mayo era més elevat en pacients anti-sp100 positius (139). No obstant, altres articles referien també alteracions bioquímiques amb factor pronòstic (elevació de bilirubina, fosfatasa) (131,133,138) que no s'han apreciat en el present estudi. Tampoc es van apreciar diferències en la fibrosis en la biòpsia inicial o en l'edat de presentació, descrites en d'altres estudis (133,139), o taxa de resposta a AUC que poguessin predir el mal pronòstic en el moment del diagnòstic. Aquest fet podria estar en relació amb el baix percentatge de pacients amb malaltia avançada al diagnòstic, que junt amb la persistència de anti-sp100 al llarg del temps, suggereix el valor d'aquest anticòs no únicament com a signe de malaltia avançada sinó com a possible marcador precoç de pacients amb alt risc de progressió.

Un tema a destacar, és la relació de anti-sp100 amb major tendència a presentar síndrome de solapament. S'ha reportat pitjor pronòstic dels pacients amb CBP que desenvolupen síndrome de solapament, motiu pel que es va revalorar la implicació pronòstica de anti-sp100 exclouent aquests pacients i va persistir de forma significativa el risc de mal pronòstic. No s'ha reportat en estudis previs aquesta associació, no obstant, la taxa de pacients amb síndrome de solapament era baixa en la majoria d'estudis o bé eren exclosos. Cal destacar, no obstant, que els anticossos anti-sp100 es poden presentar en hepatitis autoimmune entre un 2-20% segons els diferents estudis (129,139,187). Donat l'escàs número de pacients amb aquesta patologia al estudi (11) serà interessant validar aquestes troballes en estudis amb més prevalença de síndrome de solapament.

L'elevació d'índex pronòstics com el Mayo i/o paràmetres amb valor pronòstic com la FA i la bilirubina s'ha reportat associada a pacients seropositius per anti-gp210 de forma irregular. S'ha descrit associació en tres estudis (128, 130, 133) i sense relació significativa en altres dos (129, 131).

En el present estudi la presència de anti-gp210 es va relacionar amb transaminases més elevades al diagnòstic en consonància amb altres estudis (131) i de nivells superiors de immunoglobulina M (85,121). No obstant, no es va apreciar, en aquests pacients elevació de paràmetres amb valor pronòstic com la FA, GGT o bilirubina ni cap relació entre els índex GLOBE ni UK. Tampoc es va evidenciar un relació amb la resposta a tractament amb AUDC.

Tot i que diferents estudis, principalment en població Japonesa, han reportat una associació de la presència de anti-gp210 a un pitjor pronòstic (127-129), en el present estudi no es va detectar relació entre anti-gp210 i el pronòstic, en concordança amb d'altres estudis del sud d'Europa (126,130-131).

Posterior a la publicació del estudi objecte de la meva tesis, el 2021 s'ha publicat un anàlisis retrospectiu de 499 pacients amb CBP del Regne Unit que identifica relació de anti-gp210 amb major taxa de fibrosis elevada (detectada per elastografia), d'alteració de la bioquímica hepàtica (transaminases i bilirubina), del índex pronòstic GLOBE i pitjor resposta a AUDC. En concordança, el pronòstic d'aquests pacients era inferior i s'identificava la positivitat de anti-gp210 com una variable independent de mal pronòstic. Per contra, anti-sp100 s'associava únicament a una taxa superior de Hipertransaminasèmia i FA alterada al diagnòstic però no presentava un pitjor pronòstic (257).

Un factor que podria explicar aquestes diferències és la variabilitat geogràfica, els estudis que reportaven una relació de anti-gp210 amb pronòstic o histologia eren principalment realitzats amb població japonesa (127-129), sense evidenciar-se relació histològica (126,131) en estudis europeus. De fet, dos estudis recents al sud d' Europa i EUA suggereixen relació entre la fluctuació dels nivells dels anti-sp100 amb la histologia que no es produeix per anti-gp210 (128-129).

S'ha descrit diferent probabilitat de descompensació i supervivència segons la latitud Europea essent més agressiva la malaltia al nord d'Europa (258). Qüestions genètiques, però sobretot ambientals i d'estil de vida, podrien explicar les diferències de comportament de la malaltia i explicar en part les diferències entre els resultats.

Adicionalment, cal destacar la gran diferència en la fibrosis al diagnòstic entre les diferents poblacions. Mentre la població del estudi objecte d'aquesta tesi només un 7% dels pacients presentaven grau histològic III-IV, la prevalença de fibrosis significativa era de 16-37% en els estudis japonesos (127-129) i es relatava entre un 23 i un 31% de pacients amb evidència de hipertensió portal en l'estudi de Regne Unit en el moment de presentació (257). La taxa de resposta als tractament i evolució és marcadament diferent segons l'estat de fibrosis. En pacients evolucionats la implicació de anti-gp210 podria ser superior, mentre que anti-sp100 podria tenir implicació en estadis més inicials de la malaltia. En qualsevol cas, són necessàries valoracions prospectives del valor pronòstic d'aquests anticossos.

## 7. CONCLUSIONS

### 7.1. Sumari de les conclusions

- La prevalença dels anticossos anti-Hk1 i anti-KLHL12 va ser de: 37,9 i 23,2% respectivament en 224 malalts de CBP de Barcelona, 50,5 i 25,8% en 97 pacients de Calgary, 45,2 i 23,1% en 104 pacients d'Edmonton, 36,6 i 21,9% en 41 pacients de Varsòvia, 52,4 i 33,3% en 21 pacients de Salamanca. Essent similar en les 5 poblacions.
- La prevalença dels nous anticossos en els 73 pacients seronegatius pels AMA va ser de 24,7% per anti-HK1 i 19,2% per anti-KLHL12. La prevalença dels anti-HK1 en aquest subgrup va ser inferior a la dels pacients amb AMA positius, mentre que pels anti-KLHL12 va ser similar.
- En les 5 poblacions la prevalença dels anticossos antimitocondrials va ser diferent (7,2-36,6%).
- La prevalença de anti-HK1 i anti-KLHL12 en AMA negatius va ser diferent en les 5 poblacions amb valors entre 11,8 i 40% per anti-HK1 i entre 10,3 i 80% per anti-KLHL12. Només un 5,4% van presentar anti-Hk1 i anti-KLHL12 simultàniament en absència d'AMA.
- L'aplicació dels nous anticossos va permetre identificar pacients amb CBP en un 38,4% de seronegatius per AMA amb una disminució de la especificitat a 91,3%. La combinatòria dels 3 anticossos (AMA, anti-KLHL12 i anti-HK1) va incrementar la sensibilitat del diagnòstic serològic de 85% a 90,8%.
- Els anticossos anti-HK1 van ser positius en un 46% i els anti-KLHL12 en un 23% en 254 malalts de CBP de Barcelona. Van presentar anti-sp100 en un 26% i anti-gp210 en un 21%.

- Un 6% dels 254 pacients van ser seronegatius pels AMA, aquest 16 pacients el 37% dels pacients van presentar un dels dos nous anticossos. 10 pacients van ser seronegatius per AMA i els antinuclears, aquests pacients un 40% van presentar anti-KLHL12 o anti-HK1, cap pacient AMA negatiu va presentar simultàniament anti-HK1 i anti-KLHL12.
- Es van determinar seriadament els anticossos en 218 malalts durant 8 anys. Anti-HK1 va modificar-se en un 13% i anti-KLHL12 en un 5%, anti-sp100 i anti-gp210 en un 3%. Principalment cap a positiu en tots els casos.
- Els pocs pacients (4) inicialment seronegatius que van presentar anti-sp100 positiu durant el seguiment van presentar menor supervivència lliure de trasplantament o mortalitat de causa hepàtica. Els altres canvis en la serologia no es van relacionar amb diferent evolució o pronòstic.
- No es van apreciar diferències clíniques, analítiques, de resposta a tractament ni pronòstiques en relació a anti-KLHL12. Els pacients anti-HK1 positius van ser diagnosticats amb una bilirubina superior però similars índex pronòstic, van presentar menor resposta a AUCD als dos anys segons el criteri Toronto.
- Els pacients anti-sp100 positius van presentar major taxa de solapament amb hepatitis autoimmune, sense altres diferències en la presentació ni resposta al tractament. El índex pronòstic GLOBE per edat tenia més taxa de mal pronòstic en anti-sp100 positius. Els pacients anti-gp210 positius van presentar al diagnòstic major Hipertransaminassèmia i nivells de immunoglobulina M.
- Es va valorar la taxa de descompensació hepàtica i mortalitat de causa hepàtica o trasplantament a 14 (IQR 8) anys. Els pacients anti-HK1 positius i els anti-sp100 van presentar menor supervivència lliure de descompensació hepàtica i lliure de mortalitat trasplantament o mortalitat en relació a la malaltia hepàtica. La supervivència general va ser similar. La presència de anti-KLHL12 o anti-gp210 no es va relacionar amb diferent pronòstic.

## 7.2 Conclusions finals

Els nous anticossos anti-HK1 estan presents entre una tercera part i la meitat dels pacients amb CBP mentre que els anti-KLHL12 entre una cinquena part i un terç. Essent similar en les cohorts de Barcelona, Polònia i Canadà. En pacients seronegatius la prevalença d'alguns dels dos anticossos és propera al 40%.

L'alta prevalença d'aquests anticossos, fa que puguin esdevenir una eina útil en el maneig dels pacients amb CBP permetent el diagnòstic serològic de pacients sense els anticossos antimitocondrials.

Addicionalment anti-HK1 podria permetre identificar pacients amb risc de progressió, de forma similar a anti-sp100 que ha mostrat impacte pronòstic en aquest estudi.

Destaca l'absència d'implicació pronòstica de anti-gp210 en el nostre medi, on la taxa de fibrosis al diagnòstic és especialment baixa. Tot i que aquest fet es podria ser degut a variabilitat poblacional i al fet que la majoria de pacients presentaven poca fibrosis al diagnòstic, s'ha de confirmar en nous estudis.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Kim WR, Lindor KD, Locke GR 3rd, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology*. 2000;119(6):1631-1636.
2. Lindor KD, Bowlus CL, Boyer J, Levy C, Mayo M. Primary Biliary Cholangitis: 2018 Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2019;69(1):394-419.
3. Beuers U, Gershwin ME, Gish RG, et al. Changing nomenclature for PBC: From 'cirrhosis' to 'cholangitis'. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39(5):e57-e59.
4. Hanot V. Étude sur une forme de cirrhose hypertrophique du foie [cirrhose hypertrophique avec ictère chronique]. Paris:JB Baillière; 1876.
5. Addison T, Gull W. On a certain affection of the skin-vitiligoidea a plana, b tuberosa. *Guy's Hospital Reports*. 1851;7:265-76.
6. Boonstra K, Beuers U, Ponsioen CY. Epidemiology of primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis: a systematic review. *J Hepatol*. 2012;56(5):1181-1188. doi:10.1016/j.jhep.2011.10.025
7. Gatselis NK, Zachou K, Lygoura V, et al. Geoepidemiology, clinical manifestations and outcome of primary biliary cholangitis in Greece. *Eur J Intern Med*. 2017;42:81-88.
8. Marzioni M, Bassanelli C, Ripellino C, Urbinati D, Alvaro D. Epidemiology of primary biliary cholangitis in Italy: Evidence from a real-world database. *Dig Liver Dis*. 2019;51(5):724-729.
9. Tanaka A, Mori M, Matsumoto K, et al. Increase trend in the prevalence and male-to-female ratio of primary biliary cholangitis, autoimmune hepatitis, and primary sclerosing cholangitis in Japan. *Hepatol Res* 2019;49:881-889
10. Liu H, Liu Y, Wang L, et al. Prevalence of primary biliary cirrhosis in adults referring hospital for annual health check-up in Southern China. *BMC Gastroenterol* 2010;10:100. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
11. Tanaka A. PBC: No Longer a Western Disease?. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021;16(6):227-230. Published 2021 Jan 13. doi:10.1002/cld.903

12. Ngu JH, Gearry RB, Wright AJ, et al. Low incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis in Canterbury, New Zealand: A population-based study. *Hepatol Int* 2012;6:796-800. [PubMed] [Google Scholar]
13. Kim KA, Ki M, Choi HY, et al. Population-based epidemiology of primary biliary cirrhosis in South Korea. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43:154-162. [PubMed] [Google Scholar]
14. Cheung KS, Seto WK, Fung J, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cholangitis in the Chinese: A territory-based study in Hong Kong between 2000 and 2015. *Clin Transl Gastroenterol* 2017;8:e116. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
15. French J, van der Mei I, Simpson S Jr, et al. Increasing prevalence of primary biliary cholangitis in Victoria, Australia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020;35(4):673-679.
16. Lu M, Zhou Y, Haller IV, et al. Increasing Prevalence of Primary Biliary Cholangitis and Reduced Mortality With Treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(8):1342-1350
17. Myers RP, Shaheen AA, Fong A, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a Canadian health region: a population-based study. *Hepatology*. 2009;50(6):1884-1892.
18. Marschall HU, Henriksson I, Lindberg S, et al. Incidence, prevalence, and outcome of primary biliary cholangitis in a nationwide Swedish population-based cohort. *Sci Rep*. 2019;9(1):11525.
19. Pla X, Vergara M, Gil M, et al. Incidence, prevalence and clinical course of primary biliary cirrhosis in a Spanish community. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007;19(10):859-64. DOI: 10.1097/MEG.0b013e328277594a
20. Boonstra K, Kunst AE, Stadhouders PH, et al. Rising incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis: a large population-based study. *Liver Int*. 2014;34(6):e31-e38.
21. Parés A, Albillos A, Andrade RJ, et al. Primary biliary cholangitis in Spain. Results of a Delphi study of epidemiology, diagnosis, follow-up and treatment. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018;110(10):641-649.
22. Selmi C, Mayo MJ, Bach N, et al. Primary biliary cirrhosis in monozygotic and dizygotic twins: genetics, epigenetics, and environment. *Gastroenterology*. 2004;127(2):485-492.



23. Jones DE, Watt FE, Metcalf JV, Bassendine MF, James OF. Familial primary biliary cirrhosis reassessed: a geographically-based population study. *J Hepatol.* 1999;30(3):402-407.
24. Tanaka A, Borchers AT, Ishibashi H, et al. Genetic and familial considerations of primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(1):8-15.
25. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000;343(11):702-709.
26. Klein J, Sato A. The HLA system. Second of two parts [published correction appears in *N Engl J Med* 2000 Nov 16;343(20):1504]. *N Engl J Med.* 2000;343(11):782-786.
27. Ercilla G, Parés A, Arriaga F, et al. Primary biliary cirrhosis associated with DLA-DRw3. *Tissue Antigens.* 1979:449-452.
28. Invernizzi P. Human leukocyte antigen in primary biliary cirrhosis: an old story now reviving. *Hepatology.* 2011;54(2):714-723.
29. Hirschfield GM, Liu X, Xu C, et al. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants *N Engl J Med.* 2009;360(24):2544-2555.
30. Liu X, Invernizzi P, Lu Y, et al. Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet.* 2010;42(8):658-660.
31. Mells GF, Floyd JA, Morley KI, et al. Genome-wide association study identifies 12 new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis [published correction appears in *Nat Genet.* 2011 Nov;43(11):1164. Richardson,Paul [added]; Nasr, Ikram [added]; Aspinal, Richard [added]]. *Nat Genet.* 2011;43(4):329-332
32. Poupon R, Ping C, Chrétien Y, et al. Genetic factors of susceptibility and of severity in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2008;49(6):1038-1045.
33. Liu JZ, Almarri MA, Gaffney DJ, et al. Dense fine-mapping study identifies new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis. *Nat Genet.* 2012;44(10):1137-1141.
34. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology.* 2005;42(5):1194-1202
35. Bogdanos DP, Vergani D. Bacteria and primary biliary cirrhosis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2009;36(1):30-39.

36. Floreani A, Franceschet I, Cazzagon N, et al. Extrahepatic autoimmune conditions associated with primary biliary cirrhosis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2015;48(2-3):192-197.
37. Reig A, Llovet AP, Romero-Gómez M, et al. Primary biliary cholangitis in Spain: fewer symptoms and milder disease at presentation but similar therapeutic response over the years. *J Hepatol*. 2018;68(S1):218-219.
38. Haydon GH, Neuberger J. PBC: an infectious disease?. *Gut*. 2000;47(4):586-588.
39. Watson RG, Angus PW, Dewar M, Goss B, Sewell RB, Smallwood RA. Low prevalence of primary biliary cirrhosis in Victoria, Australia. Melbourne Liver Group. *Gut*. 1995;36(6):927-930.
40. Anand AC, Elias E, Neuberger JM. End-stage primary biliary cirrhosis in a first generation migrant south Asian population. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1996;8(7):663-666.
41. McNally RJ, Ducker S, James OF. Are transient environmental agents involved in the cause of primary biliary cirrhosis? Evidence from space-time clustering analysis. *Hepatology*. 2009;50(4):1169-1174.
42. McNally RJ, James PW, Ducker S, James OF. Seasonal variation in the patient diagnosis of primary biliary cirrhosis: further evidence for an environmental component to etiology. *Hepatology*. 2011;54(6):2099-2103.
43. Gershwin ME, Mackay IR. The causes of primary biliary cirrhosis: Convenient and inconvenient truths. *Hepatology*. 2008;47(2):737-745.
44. Selmi C, Gershwin ME. The role of environmental factors in primary biliary cirrhosis. *Trends Immunol*. 2009;30(8):415-420.
45. Probert PM, Leitch AC, Dunn MP, et al. Identification of a xenobiotic as a potential environmental trigger in primary biliary cholangitis. *J Hepatol*. 2018;69(5):1123-1135.
46. Selmi C, Balkwill DL, Invernizzi P, et al. Patients with primary biliary cirrhosis react against a ubiquitous xenobiotic-metabolizing bacterium. *Hepatology*. 2003;38(5):1250-1257.
47. Lammert C, Nguyen DL, Juran BD, et al. Questionnaire based assessment of risk factors for primary biliary cirrhosis. *Dig Liver Dis*. 2013;45(7):589-594.
48. Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H, Hayashida K, Niho Y. HLA DRB4 0101-restricted immunodominant T cell autoepitope of pyruvate dehydrogenase complex in primary

- biliary cirrhosis: evidence of molecular mimicry in human autoimmune diseases. *J Exp Med.* 1995;181(5):1835-1845
49. Vilagut L, Parés A, Viñas O, Vila J, Jiménez de Anta MT, Rodés J. 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 Aug;27(8):667-72.
  50. Xu L, Shen Z, Guo L, et al. Does a betaretrovirus infection trigger primary biliary cirrhosis?. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(14):8454-8459.
  51. Bogdanos DP, Baum H, Okamoto M, et al. Primary biliary cirrhosis is characterized by IgG3 antibodies cross-reactive with the major mitochondrial autoepitope and its *Lactobacillus* mimic. *Hepatology.* 2005;42(2):458-465.
  52. Kumagi T, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis. *Orphanet J Rare Dis.* 2008;3:1. Published 2008 Jan 23.
  53. Gulamhusein AF, Hirschfield GM. Pathophysiology of primary biliary cholangitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2018;34-35:17-25.
  54. Beuers U, Hohenester S, de Buy Wenniger LJ, Kremer AE, Jansen PL, Elferink RP. The biliary HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> umbrella: a unifying hypothesis on pathogenetic and therapeutic aspects of fibrosing cholangiopathies. *Hepatology.* 2010;52(4):1489-1496.
  55. Selmi C, Mackay IR, Gershwin ME. The autoimmunity of primary biliary cirrhosis and the clonal selection theory. *Immunol Cell Biol.* 2011;89(1):70-80
  56. Kita H, Lian ZX, Van de Water J, et al. Identification of HLA-A2-restricted CD8(+) cytotoxic T cell responses in primary biliary cirrhosis: T cell activation is augmented by immune complexes cross-presented by dendritic cells. *J Exp Med.* 2002;195(1):113-123.
  57. Lleo A, Shimoda S, Ishibashi H, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis: apotopes and epitopes. *J Gastroenterol.* 2011;46 Suppl 1:29-38.
  58. Kita H, Matsumura S, He XS, et al. Quantitative and functional analysis of PDC-E2-specific autoreactive cytotoxic T lymphocytes in primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest.* 2002;109(9):1231-1240.
  59. Honda A, Ikegami T, Nakamuta M, et al. Anticholestatic effects of bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis treated with ursodeoxycholic acid. *Hepatology.* 2013;57(5):1931-1941

60. Selmi C, Lleo A, Pasini S, Zuin M, Gershwin ME. Innate immunity and primary biliary cirrhosis. *Curr Mol Med*. 2009;9(1):45-51.
61. Chuang YH, Lian ZX, Tsuneyama K, et al. Increased killing activity and decreased cytokine production in NK cells in patients with primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun*. 2006;26(4):232-240.
62. Shimoda S, Hisamoto S, Harada K, et al. Natural killer cells regulate T cell immune responses in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2015;62(6):1817-1827
63. Lleo A, Gershwin ME, Mantovani A, Invernizzi P. Towards common denominators in primary biliary cirrhosis: the role of IL-12. *J Hepatol*. 2012;56(3):731-733.
64. Wang L, Wang FS, Chang C, Gershwin ME. Breach of tolerance: primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis*. 2014;34(3):297-317.
65. Hirschfield GM, Gershwin ME, Strauss R, et al. Ustekinumab for patients with primary biliary cholangitis who have an inadequate response to ursodeoxycholic acid: A proof-of-concept study. *Hepatology*. 2016;64(1):189-199.
66. Lleo A, Liao J, Invernizzi P, et al. Immunoglobulin M levels inversely correlate with CD40 ligand promoter methylation in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2012;55(1):153-160.
67. Melero S, Spirlì C, Zsemberly A, et al. Defective regulation of cholangiocyte Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger activities in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2002;35(6):1513-1521.
68. Banales JM, Sáez E, Uriz M, et al. Up-regulation of microRNA 506 leads to decreased Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> anion exchanger 2 expression in biliary epithelium of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2012;56(2):687-697.
69. Erice O, Munoz-Garrido P, Vaquero J, et al. MicroRNA-506 promotes primary biliary cholangitis-like features in cholangiocytes and immune activation. *Hepatology*. 2018;67(4):1420-1440.
70. Rodrigues PM, Perugorria MJ, Santos-Laso A, Bujanda L, Beuers U, Banales JM. Primary biliary cholangitis: A tale of epigenetically-induced secretory failure?. *J Hepatol*. 2018;69(6):1371-1383.
71. Medina JF. Role of the anion exchanger 2 in the pathogenesis and treatment of primary biliary cirrhosis. *Dig Dis*. 2011;29(1):103-112.

72. Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Modulation of the microenvironment by senescent biliary epithelial cells may be involved in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2010;53(2):318-325.
73. Trauner M, Halilbasic E. Nuclear receptors as new perspective for the management of liver diseases. *Gastroenterology.* 2011;140(4): 1120-1125. B256
74. Hirschfield GM, Mason A, Luketic V, et al. Efficacy of obeticholic acid in patients with primary biliary cirrhosis and inadequate response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology.* 2015;148(4):751-61.e8.
75. Nevens F, Andreone P, Mazzella G, et al. A Placebo-Controlled Trial of Obeticholic Acid in Primary Biliary Cholangitis. *N Engl J Med.* 2016;375(7):631-643.
76. Bowlus CL, Pockros PJ, Kremer AE, et al. Long-Term Obeticholic Acid Therapy Improves Histological Endpoints in Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(5):1170-1178.e6
77. Inagaki T, Moschetta A, Lee YK, et al. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(10):3920-3925.
78. Pellicciari R, Fiorucci S, Camaioni E, et al. 6 $\alpha$ -ethyl-chenodeoxycholic acid (6-ECDCA), a potent and selective FXR agonist endowed with anticholestatic activity. *J Med Chem.*
79. Levy C. Evolving role of obeticholic acid in primary biliary cholangitis. *Hepatology.* 2018;67(5):1666-1668.
80. Kersten S, Stienstra R. The role and regulation of the peroxisome proliferator activated receptor alpha in human liver. *Biochimie.* 2017;136:75-84.
81. Corpechot C, Poupon R, Chazouillères O. New treatments/targets for primary biliary cholangitis. *JHEP Rep.* 2019;1(3):203-213.
82. Thomas M, Burk O, Klumpp B, et al. Direct transcriptional regulation of human hepatic cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) by peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ ). *Mol Pharmacol.* 2013;83(3):709-718.
83. Xie C, Takahashi S, Brocker CN, et al. Hepatocyte peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  regulates bile acid synthesis and transport. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019;1864(10):1396-1411.

84. Corpechot C, Chazouillères O, Rousseau A, et al. A Placebo-Controlled Trial of Bezafibrate in Primary Biliary Cholangitis. *N Engl J Med*. 2018;378(23):2171-2181.
85. Cheung AC, Lapointe-Shaw L, Kowgier M, et al. Combined ursodeoxycholic acid (UDCA) and fenofibrate in primary biliary cholangitis patients with incomplete UDCA response may improve outcomes. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(2):283-293.
86. Jones D, Boudes PF, Swain MG, et al. Seladelpar (MBX-8025), a selective PPAR- $\delta$  agonist, in patients with primary biliary cholangitis with an inadequate response to ursodeoxycholic acid: a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2, proof-of-concept study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017;2(10):716-726.
87. Schattenberg JM, Pares A, Kowdley KV, et al. A randomized placebo-controlled trial of elafibranor in patients with primary biliary cholangitis and incomplete response to UDCA [published online ahead of print, 2021 Jan 20]. *J Hepatol*. 2021;S0168-8278(21)00022-2.
88. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 2005;353(12):1261-1273.
89. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol*. 2017;67(1):145-172.
90. Hadziyannis S, Scheuer PJ, Feizi T, Naccarato R, Doniach D, Sherlock S. Immunological and histological studies in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol*. 1970;23(2):95-98.
91. Kumagi T, Guindi M, Fischer SE, et al. Baseline ductopenia and treatment response predict long-term histological progression in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(10):2186-2194.
92. 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(2):103-112.
93. Roll J, Boyer JL, Barry D, Klatskin G. The prognostic importance of clinical and histologic features in asymptomatic and symptomatic primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 1983;308(1):1-7.
94. Corpechot C, Carrat F, Bonnard AM, Poupon RE, Poupon R. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on liver fibrosis progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2000;32(6):1196-1199.

95. Hiramatsu K, Aoyama H, Zen Y, Aishima S, Kitagawa S, Nakanuma Y. Proposal of a new staging and grading system of the liver for primary biliary cirrhosis. *Histopathology*. 2006;49(5):466-478.
96. Wendum D, Boëlle PY, Bedossa P, et al. Primary biliary cirrhosis: proposal for a new simple histological scoring system. *Liver Int*. 2015;35(2):652-659.
97. Nakanuma Y, Zen Y, Harada K, et al. Application of a new histological staging and grading system for primary biliary cirrhosis to liver biopsy specimens: Interobserver agreement. *Pathol Int*. 2010;60(3):167-174.
98. Gulamhusein AF, Hansen BE. Beyond Biochemical Responses, Use of Histologic Staging to Predict Outcomes of Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(5):1033-1035.
99. Zein CO, Angulo P, Lindor KD. When is liver biopsy needed in the diagnosis of primary biliary cirrhosis?. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2003;1(2):89-95.
100. Chazouillères O, Housset C. Intrahepatic cholestasis. In: Rodés J, editor. *Textbook of hepatology: from basic science to clinical practice*. Oxford: Blackwell; 2007. p. 1481–1500.
101. Klatskin G, Kantor FS. Mitochondrial antibody in primary biliary cirrhosis and other diseases. *Ann Intern Med*. 1972;77(4):533-541.
102. Liu B, Shi XH, Zhang FC, Zhang W, Gao LX. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis: a subset of primary biliary cirrhosis. *Liver Int*. 2008;28(2):233-239.
103. Hirschfield GM, Heathcote EJ. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2008;12(2):323-ix.
104. Shibata M, Onozuka Y, Morizane T, et al. Prevalence of antimitochondrial antibody in Japanese corporate workers in Kanagawa prefecture. *J Gastroenterol*. 2004;39(3):255-259.
105. Mattalia A, Quaranta S, Leung PS, et al. Characterization of antimitochondrial antibodies in health adults. *Hepatology*. 1998;27(3):656-661.
106. Dahlqvist G, Gaouar F, Carrat F, et al. Large-scale characterization study of patients with antimitochondrial antibodies but nonestablished primary biliary cholangitis. *Hepatology*. 2017;65(1):152-163.

107. Zandanell S, Strasser M, Feldman A, et al. Low rate of new-onset primary biliary cholangitis in a cohort of anti-mitochondrial antibody-positive subjects over six years of follow-up. *J Intern Med.* 2020;287(4):395-404.
108. Ruffatti A, Arslan P, Floreani A, et al. Nuclear membrane-staining antinuclear antibody in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol.* 1985;5(5):357-361. doi:10.1007/BF00918255
109. Berg PA, Klein R. Immunology of primary biliary cirrhosis. *Baillieres Clin Gastroenterol.* 1987;1(3):675-706.
110. Rigopoulou EI, Davies ET, Pares A, et al. Prevalence and clinical significance of isotype specific antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Gut.* 2005;54(4):528-532.
111. Szostecki C, Guldner HH, Will H. Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 1997;17(1):71-78.
112. Sinclair D, Saas M, Williams D, et al. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. *Clin Lab.* 2007;53(3-4):183-191.
113. American College of Rheumatology. American College of Rheumatology Position Statement: Methodology of testing for antinuclear antibodies. Aproved 2011.
114. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(1):17-23.
115. Invernizzi P, Podda M, Battezzati PM, et al. Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2001;34(3):366-372.
116. Wichmann I, Montes-Cano MA, Respaldiza N, et al. Clinical significance of anti-multiple nuclear dots/Sp100 autoantibodies. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38(9):996-999.
117. Granito A, Yang WH, Muratori L, et al. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(1):125-131.
118. Bauer A, Habior A. Detection of Autoantibodies Against Nucleoporin p62 in Sera of Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Ann Lab Med.* 2019;39(3):291-298.



119. Nickowitz RE, Wozniak RW, Schaffner F, Worman HJ. Autoantibodies against integral membrane proteins of the nuclear envelope in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1994;106(1):193-199.
120. Sternsdorf T, Grötzinger T, Jensen K, et al. Nuclear dots: actors on many stages. *Immunobiology*. 1997;198(1-3):307-331.
121. Tsangaridou E, Polioudaki H, Sfakianaki R, et al. Differential detection of nuclear envelope autoantibodies in primary biliary cirrhosis using routine and alternative methods. *BMC Gastroenterol*. 2010;10:28.
122. Lassoued K, Guilly MN, Andre C, et al. Autoantibodies to 200 kD polypeptide(s) of the nuclear envelope: a new serologic marker of primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol*. 1988;74(2):283-288.
123. Lozano F, Parés A, Borche L, et al. Autoantibodies against nuclear envelope-associated proteins in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1988;8(4):930-938.
124. Courvalin JC, Lassoued K, Bartnik E, Blobel G, Wozniak RW. The 210-kD nuclear envelope polypeptide recognized by human autoantibodies in primary biliary cirrhosis is the major glycoprotein of the nuclear pore. *J Clin Invest*. 1990;86(1):279-285.
125. Cohen M, Feinstein N, Wilson KL, Gruenbaum Y. Nuclear pore protein gp210 is essential for viability in HeLa cells and *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell*. 2003;14(10):4230-4237.
126. Lassoued K, Brenard R, Degos F, et al. Antinuclear antibodies directed to a 200-kilodalton polypeptide of the nuclear envelope in primary biliary cirrhosis. A clinical and immunological study of a series of 150 patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1990;99(1):181-186.
127. Itoh S, Ichida T, Yoshida T, et al. Autoantibodies against a 210 kDa glycoprotein of the nuclear pore complex as a prognostic marker in patients with primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998;13(3):257-265.
128. Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, et al. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2005;42(3):386-392.
129. Nakamura M, Kondo H, Mori T, et al. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007;45(1):118-127.

130. Bogdanos DP, Liaskos C, Pares A, et al. Anti-gp210 antibody mirrors disease severity in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007;45(6):1583-1584.
131. Gatselis NK, Zachou K, Norman GL, et al. Clinical significance of the fluctuation of primary biliary cirrhosis-related autoantibodies during the course of the disease. *Autoimmunity*. 2013;46(7):471-479.
132. Tana MM, Shums Z, Milo J, et al. The Significance of Autoantibody Changes Over Time in Primary Biliary Cirrhosis. *Am J Clin Pathol*. 2015;144(4):601-606.
133. Muratori P, Muratori L, Ferrari R, et al. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2003;98(2):431-437.
134. Seeler JS, Marchio A, Losson R, et al. Common properties of nuclear body protein SP100 and TIF1alpha chromatin factor: role of SUMO modification. *Mol Cell Biol*. 2001;21(10):3314-3324.
135. Collados Rodríguez M. The Fate of Speckled Protein 100 (Sp100) During Herpesviruses Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;10:607526.
136. Szostecki C, Krippner H, Penner E, et al. Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100). *Clin Exp Immunol*. 1987;68(1):108-116.
137. Guldner HH, Szostecki C, Schröder P, et al. Splice variants of the nuclear dot-associated Sp100 protein contain homologies to HMG-1 and a human nuclear phosphoprotein-box motif. *J Cell Sci*. 1999;112 ( Pt 5):733-747.
138. Rigopoulou EI, Dalekos GN. Anti-sp100 antibodies in primary biliary cirrhosis. *Scand J Gastroenterol*. 2004;39(4):406-407.
139. Mytilinaïou MG, Meyer W, Scheper T, et al. Diagnostic and clinical utility of antibodies against the nuclear body promyelocytic leukaemia and Sp100 antigens in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Chim Acta*. 2012;413(15-16):1211-1216.
140. Züchner D, Sternsdorf T, Szostecki C, Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Will H. Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1997;26(5):1123-1130.
141. Zhu H, Bilgin M, Bangham R, Hall D, Casamayor A, Bertone P, Lan N, Jansen R, Bidlingmaier S, Houfek T, Mitchell T, Miller P, Dean RA, Gerstein M, Snyder M. Global

- analysis of protein activities using proteome chips. *Science*. 2001 Sep 14;293(5537):2101-5.
142. Hu CJ, Song G, Huang W, et al. Identification of new autoantigens for primary biliary cirrhosis using human proteome microarrays. *Mol Cell Proteomics*. 2012;11(9):669-680.
  143. Norman GL, Yang CY, Ostendorff HP, et al. Anti-kelch-like 12 and anti-hexokinase 1: novel autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Liver Int*. 2015;35(2):642-651
  144. Robey RB, Hay N. Mitochondrial hexokinases: guardians of the mitochondria. *Cell Cycle*. 2005;4(5):654-658.
  145. Gelb BD, Adams V, Jones SN, Griffin LD, MacGregor GR, McCabe ER. Targeting of hexokinase 1 to liver and hepatoma mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(1):202-206.
  146. Rondou P, Skieterska K, Packeu A, et al. KLHL12-mediated ubiquitination of the dopamine D4 receptor does not target the receptor for degradation. *Cell Signal*. 2010;22(6):900-913.
  147. Jin L, Pahuja KB, Wickliffe KE, et al. Ubiquitin-dependent regulation of COPII coat size and function. *Nature*. 2012;482(7386):495-500. Published 2012 Feb 22.
  148. Lleo A, Jepsen P, Morengi E, et al. Evolving trends in female to male incidence and male mortality of primary biliary cholangitis. *Sci Rep* 2016;6:25906.
  149. Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OF. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut*. 2004 Jun;53(6):865-70. Erratum in: *Gut*. 2004 Aug;53(8):1216.
  150. Murillo Perez CF, Goet JC, Lammers WJ, et al. Milder disease stage in patients with primary biliary cholangitis over a 44-year period: A changing natural history. *Hepatology*. 2018;67(5):1920-1930.
  151. Parés A, Rodés J. Natural history of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2003 Nov;7(4):779-94. doi: 10.1016/s1089-3261(03)00100-4.
  152. Lindgren S, Eriksson S. IgM in primary biliary cirrhosis. Physicochemical and complement activating properties. *J Lab Clin Med*. 1982;99(5):636-645.

153. Allocca M, Crosignani A, Gritti A, et al. Hypercholesterolaemia is not associated with early atherosclerotic lesions in primary biliary cirrhosis. *Gut*. 2006;55(12):1795-1800.
154. Parés A, Guañabens N. Osteoporosis in primary biliary cirrhosis: pathogenesis and treatment. *Clin Liver Dis*. 2008;12(2):407-x.
155. Shapiro JM, Smith H, Schaffner F. Serum bilirubin: a prognostic factor in primary biliary cirrhosis. *Gut*. 1979;20(2):137-140.
156. Trivedi HD, Lizaola B, Tapper EB, Bonder A. Management of Pruritus in Primary Biliary Cholangitis: A Narrative Review. *Am J Med*. 2017;130(6):744.e1-744.e7.
157. Beuers U, Gerken G, Pusch T. Biliary drainage transiently relieves intractable pruritus in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2006 Jul;44(1):280-1. doi: 10.1002/hep.21271
158. Alemi F, Kwon E, Poole DP, et al. The TGR5 receptor mediates bile acid-induced itch and analgesia. *J Clin Invest*. 2013;123(4):1513-1530.
159. Kremer AE, van Dijk R, Leckie P, et al. Serum autotaxin is increased in pruritus of cholestasis, but not of other origin, and responds to therapeutic interventions. *Hepatology*. 2012;56(4):1391-1400
160. Tandon P, Rowe BH, Vandermeer B, Bain VG. The efficacy and safety of bile Acid binding agents, opioid antagonists, or rifampin in the treatment of cholestasis-associated pruritus. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(7):1528-153
161. Reig A, Sesé P, Parés A. Effects of Bezafibrate on Outcome and Pruritus in Primary Biliary Cholangitis With Suboptimal Ursodeoxycholic Acid Response. *Am J Gastroenterol*. 2018;113(1):49-55.
162. Björnsson E, Kalaitzakis E, Neuhauser M, et al. Fatigue measurements in patients with primary biliary cirrhosis and the risk of mortality during follow-up. *Liver Int*. 2010;30(2):251-258.
163. Abbas G, Jorgensen RA, Lindor KD. Fatigue in primary biliary cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(6):313-319.
164. Forton DM, Patel N, Prince M, et al. Fatigue and primary biliary cirrhosis: association of globus pallidus magnetisation transfer ratio measurements with fatigue severity and blood manganese levels. *Gut*. 2004;53(4):587-592.

165. Newton JL, Allen J, Kerr S, Jones DE. Reduced heart rate variability and baroreflex sensitivity in primary biliary cirrhosis. *Liver Int.* 2006;26(2):197-202
166. Piche T, Gelsi E, Schneider SM, Hébuterne X, Giudicelli J, Ferrua B, Laffont C, Benzaken S, Hastier P, Montoya ML, Longo F, Rampal P, Tran A. Fatigue is associated with high circulating leptin levels in chronic hepatitis C. *Gut.* 2002 Sep;51(3):434-9.
167. Ahboucha S, Butterworth RF, Pomier-Layrargues G, Vincent C, Hassoun Z, Baker GB. Neuroactive steroids and fatigue severity in patients with primary biliary cirrhosis and hepatitis C. *Neurogastroenterol Motil.* 2008;20(6):671-679.
168. Hollingsworth KG, Newton JL, Taylor R, et al. Pilot study of peripheral muscle function in primary biliary cirrhosis: potential implications for fatigue pathogenesis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(9):1041-1048.
169. Montali L, Gragnano A, Miglioretti M, et al. Quality of life in patients with primary biliary cholangitis: A cross-geographical comparison. *J Transl Autoimmun.* 2021;4:100081. Published 2021
170. Trivedi PJ, Lammers WJ, van Buuren HR, Parés A, Floreani A, Janssen HL, Invernizzi P, Battezzati PM, Ponsioen CY, Corpechot C, Poupon R, Mayo MJ, Burroughs AK, Nevens F, Mason AL, Kowdley KV, Lleo A, Caballeria L, Lindor KD, Hansen BE, Hirschfield GM; Global PBC Study Group. Stratification of hepatocellular carcinoma risk in primary biliary cirrhosis: a multicentre international study. *Gut.* 2016 Feb;65(2):321-9.
171. Floreani A, Spinazzè A, Caballeria L, et al. Extrahepatic malignancies in primary biliary cirrhosis: a comparative study at two European centers. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2015;48(2-3):254-262.
172. Liang Y, Yang Z, Zhong R. Primary biliary cirrhosis and cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Hepatology.* 2012 Oct;56(4):1409-17
173. Hirschfield GM, Dyson JK, Alexander GJM, et al. The British Society of Gastroenterology/UK-PBC primary biliary cholangitis treatment and management guidelines.2018;67:1568–94. *Gut*
174. Navasa M, Parés A, Bruguera M, Caballería J, Bosch J, Rodés J. Portal hypertension in primary biliary cirrhosis. Relationship with histological features. *J Hepatol.* 1987;5(3):292-298.

175. Kew MC, Varma RR, Dos Santos HA, Scheuer PJ, Sherlock S. Portal hypertension in primary biliary cirrhosis. *Gut*. 1971 Oct;12(10):830-4.
176. Vleggaar FP, van Buuren HR, Zondervan PE, ten Kate FJ, Hop WC; Dutch Multicentre PBC study group. Jaundice in non-cirrhotic primary biliary cirrhosis: the premature ductopenic variant. *Gut*. 2001;49(2):276-281.
177. Gores GJ, Wiesner RH, Dickson ER, Zinsmeister AR, Jorgensen RA, Langworthy A. Prospective evaluation of esophageal varices in primary biliary cirrhosis: development, natural history, and influence on survival. *Gastroenterology*. 1989;96(6):1552-1559.
178. Abraldes JG, Bureau C, Stefanescu H, et al. Noninvasive tools and risk of clinically significant portal hypertension and varices in compensated cirrhosis: The "Anticipate" study [published correction appears in *Hepatology*. 2017 Jul;66(1):304-305]. *Hepatology*. 2016;64(6):2173-2184.
179. Moctezuma-Velazquez C, Saffioti F, Tasayco-Huaman S, Casu S, Mason A, Roccarina D, Vargas V, Nilsson JE, Tsochatzis E, Augustin S, Montano-Loza AJ, Berzigotti A, Thorburn D, Genesca J, Abraldes JG. Non-Invasive Prediction of High-Risk Varices in Patients with Primary Biliary Cholangitis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Am J Gastroenterol*. 2019 Mar;114(3):446-452.
180. Pariente A, Chazouilleres O, Causse X, Hanslik B, Arpurt JP, Henrion J, Rosa I, Renou C, Corpechot C; Group of Investigators of DESCRIPT 1 and 2 Studies. Baveno-VI-Guided Prediction of Esogastric Varices in Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol*. 2019 Feb;114(2):361-362
181. Gines A, Parés A, Bruguera M, Rodés J. A simple method for assessing timing to liver transplantation in primary biliary cirrhosis[abstract]. *J Hepatol* 1991;13:s124.
182. Kamath PS, Kim WR; Advanced Liver Disease Study Group. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology*. 2007;45(3):797-805.
183. Adam R, Karam V, Delvart V, et al. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). *J Hepatol*. 2012;57(3):675-688.
184. Montano-Loza AJ, Hansen BE, Corpechot C, et al. Factors Associated With Recurrence of Primary Biliary Cholangitis After Liver Transplantation and Effects on

- Graft and Patient Survival [published correction appears in *Gastroenterology*. 2020 Jan;158(1):288]. *Gastroenterology*. 2019;156(1):96-107.e1.
185. Harms MH, Pares A, Mason AL, Lammers WJ, Battezzati PM, Floreani A, et al. Behavioral Patterns of Total Serum Bilirubin Prior to Major Clinical Endpoints in 3529 Patients with Primary Biliary Cholangitis. *Journal of Hepatology* 64(2):S633-S634
  186. Murillo Perez CF, Gulamhusein A, van Buuren HR, et al. Bilirubin Is Predictive of Transplant-free Survival Even Within the Normal Range in Primary Biliary Cholangitis Patients. *Hepatology*, 2017 66:41A–42A.
  187. Lammers WJ, van Buuren HR, Hirschfield GM, et al. Levels of alkaline phosphatase and bilirubin are surrogate end points of outcomes of patients with primary biliary cirrhosis: an international follow-up study. *Gastroenterology*. 2014;147(6):1338-e15.
  188. Gerussi A, Bernasconi DP, O'Donnell SE, et al. Measurement of Gamma Glutamyl Transferase to Determine Risk of Liver Transplantation or Death in Patients With Primary Biliary Cholangitis [published online ahead of print, 2020 Aug 7]. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;S1542-3565(20)31083-1.
  189. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A. Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology*. 1989 Jul;10(1):1-7. doi: 10.1002/hep.1840100102.
  190. Grambsch PM, Dickson ER, Kaplan M, LeSage G, Fleming TR, Langworthy AL. Extramural cross-validation of the Mayo primary biliary cirrhosis survival model establishes its generalizability. *Hepatology*. 1989 Nov;10(5):846-50.
  191. Kilmurry MR, Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, O'Rourke K, Bailey RJ, Blendis LM, Ghent CN, Minuk GY, Pappas SC, Scully LJ, Steinbrecher UP, Sutherland LR, Williams CN, Worobetz LJ. Is the Mayo model for predicting survival useful after the introduction of ursodeoxycholic acid treatment for primary biliary cirrhosis? *Hepatology*. 1996 May;23(5):1148-53.
  192. Angulo P, Lindor KD, Therneau TM, Jorgensen RA, Malinchoc M, Kamath PS, Dickson ER. Utilization of the Mayo risk score in patients with primary biliary cirrhosis receiving ursodeoxycholic acid. *Liver*. 1999 Apr;19(2):115-21

193. Carbone M, Sharp SJ, Flack S, et al. The UK-PBC risk scores: Derivation and validation of a scoring system for long-term prediction of end-stage liver disease in primary biliary cholangitis. *Hepatology*. 2016;63(3):930-950.
194. Lammers WJ, Hirschfield GM, Corpechot C, et al. Development and Validation of a Scoring System to Predict Outcomes of Patients With Primary Biliary Cirrhosis Receiving Ursodeoxycholic Acid Therapy. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1804-1812.e4
195. Goet JC, Lammers W J, Floreani A, et al. The GLOBE score identifies PBC patients at increased risk of liver transplantation or death in different age-categories over time. *J.Hepatolgy* 2017, volume 66 (1), S549-550.
196. Goet JC, Murillo Perez CF, Harms MH, et al. A Comparison of Prognostic Scores (Mayo, UK-PBC, and GLOBE) in Primary Biliary Cholangitis [published online ahead of print, 2021 May 4]. *Am J Gastroenterol*. 2021
197. Parés A, Caballería L, Rodés J. Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic Acid. *Gastroenterology*. 2006;130(3):715-720.
198. Corpechot C, Abenavoli L, Rabahi N, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2008;48(3):871-877
199. Kuiper EM, Hansen BE, de Vries RA, et al. Improved prognosis of patients with primary biliary cirrhosis that have a biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology*. 2009;136(4):1281-1287.
200. Corpechot C, Chazouillères O, Poupon R. Early primary biliary cirrhosis: biochemical response to treatment and prediction of long-term outcome. *J Hepatol*. 2011;55(6):1361-1367.
201. Zhang LN, Shi TY, Shi XH, et al. Early biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis of primary biliary cirrhosis: results of a 14-year cohort study. *Hepatology*. 2013;58(1):264-272.
202. Llovet LP, Reig A, Ortiz O, et al. Good performance of the biochemical response criteria after three months of ursodeoxycholic acid treatment in patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol*. 2019;70(S1):401.



203. Trivedi PJ, Bruns T, Cheung A, et al. Optimising risk stratification in primary biliary cirrhosis: AST/platelet ratio index predicts outcome independent of ursodeoxycholic acid response. *J Hepatol.* 2014;60(6):1249-1258.
204. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, Sun Y, Xuan SY. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology.* 2011 Mar;53(3):726-36. doi: 10.1002/hep.24105
205. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol.* 2008 May;48(5):835-47
206. Corpechot C, El Naggar A, Poujol-Robert A, et al. Assessment of biliary fibrosis by transient elastography in patients with PBC and PSC. *Hepatology.* 2006;43(5):1118-1124.
207. Corpechot C, Carrat F, Poujol-Robert A, et al. Noninvasive elastography-based assessment of liver fibrosis progression and prognosis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2012;56(1):198-208
208. Roda E, Azzaroli F, Nigro G, et al. Improved liver tests and greater biliary enrichment with high dose ursodeoxycholic acid in early stage primary biliary cirrhosis. *Dig Liver Dis.* 2002;34(7):523-527.
209. Paumgartner G, Beuers U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatology.* 2002;36(3):525-531.
210. Poupon R, Chrétien Y, Poupon RE, Ballet F, Calmus Y, Darnis F. Is ursodeoxycholic acid an effective treatment for primary biliary cirrhosis?. *Lancet.* 1987;1(8537):834-836.
211. Lindor KD, Dickson ER, Baldus WP, et al. Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 1994;106(5):1284-1290.
212. Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Walker V, et al. The Canadian Multicenter Double-blind Randomized Controlled Trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 1994;19(5):1149-1156.
213. Combes B, Carithers RL Jr, Maddrey WC, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 1995;22(3):759-766.

214. Parés A, Caballería L, Rodés J, et al. Long-term effects of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: results of a double-blind controlled multicentric trial. UDCA-Cooperative Group from the Spanish Association for the Study of the Liver. *J Hepatol.* 2000;32(4):561-566.
215. Poupon RE, Lindor KD, Parés A, et al. Combined analysis of the effect of treatment with ursodeoxycholic acid on histologic progression in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2003;39(1):12-16.
216. Poupon RE, Lindor KD, Cauch-Dudek K, et al. Combined analysis of randomized controlled trials of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 1997;113(3):884-890.
217. Goulis J, Leandro G, Burroughs AK. Randomised controlled trials of ursodeoxycholic-acid therapy for primary biliary cirrhosis: a meta-analysis. *Lancet.* 1999 Sep 25;354(9184):1053-60.
218. Gong Y, Huang Z, Christensen E, Gluud C. Ursodeoxycholic acid for patients with primary biliary cirrhosis: an updated systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials using Bayesian approach as sensitivity analyses. *Am J Gastroenterol.* 2007;102(8):1799-1807.
219. Rudic JS, Poropat G, Krstic MN, Bjelakovic G, Gluud C. Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;12(12):CD000551. Published 2012 Dec 12
220. Shi J, Wu C, Lin Y, et al. Long-term effects of mid-dose ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(7):1529-1538
221. Harms MH, van Buuren HR, Corpechot C, et al. Ursodeoxycholic acid therapy and liver transplant-free survival in patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol.* 2019;71(2):357-365.
222. Chiang JY. Bile acid metabolism and signaling. *Compr Physiol.* 2013;3(3):1191-1212. doi:10.1002/cphy.c120023
223. Tanaka A, Hirohara J, Nakano T, et al. Association of bezafibrate with transplant-free survival in patients with primary biliary cholangitis [published online ahead of print, 2021 Apr 18]. *J Hepatol.* 2021;S0168-8278(21)00245-2.

224. Kowdley KV, Luketic V, Chapman R, et al. A randomized trial of obeticholic acid monotherapy in patients with primary biliary cholangitis. *Hepatology*. 2018;67(5):1890-1902.
225. Trauner M, Nevens F, Shiffman ML, et al. Long-term efficacy and safety of obeticholic acid for patients with primary biliary cholangitis: 3-year results of an international open-label extension study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2019;4(6):445-453
226. Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg*. 1964;1:1-85.
227. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973;60(8):646-649.
228. FDA resource page. Drug Administration Web site.<https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-warns-about-serious-liver-injury-ocaliva-obeticholic-acid-rare>. Accés Juny, 2021.
229. Roberts SB, Ismail M, Kanagalingam G, et al. Real-World Effectiveness of Obeticholic Acid in Patients with Primary Biliary Cholangitis. *Hepatol Commun*. 2020;4(9):1332-1345.
230. Reig A, Álvarez-Navascués C, Vergara M, et al. Obeticholic Acid and Fibrates in Primary Biliary Cholangitis: Comparative Effects in a Multicentric Observational Study [published online ahead of print, 2021 Jun 23]. *Am J Gastroenterol*. 2021;10.14309/ajg.0000000000001343.
231. Nakai S, Masaki T, Kurokohchi K, Deguchi A, Nishioka M. Combination therapy of bezafibrate and ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: a preliminary study. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(1):326-327.
232. Kurihara T, Niimi A, Maeda A, Shigemoto M, Yamashita K. Bezafibrate in the treatment of primary biliary cirrhosis: comparison with ursodeoxycholic acid. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(10):2990-2992.
233. Kanda T, Yokosuka O, Imazeki F, Saisho H. Bezafibrate treatment: a new medical approach for PBC patients?. *J Gastroenterol*. 2003;38(6):573-578.

234. Kita R, Takamatsu S, Kimura T, Kokuryu H, Osaki Y, Tomono N. Bezafibrate may attenuate biliary damage associated with chronic liver diseases accompanied by high serum biliary enzyme levels. *J Gastroenterol.* 2006;41(7):686-692.
235. Akbar SM, Furukawa S, Nakanishi S, Abe M, Horiike N, Onji M. Therapeutic efficacy of decreased nitrite production by bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol.* 2005;40(2):157-163.
236. Hazzan R, Tur-Kaspa R. Bezafibrate treatment of primary biliary cirrhosis following incomplete response to ursodeoxycholic acid. *J Clin Gastroenterol.* 2010;44(5):371-373.
237. Lens S, Leoz M, Nazal L, Bruguera M, Parés A. Bezafibrate normalizes alkaline phosphatase in primary biliary cirrhosis patients with incomplete response to ursodeoxycholic acid. *Liver Int.* 2014;34(2):197-203.
238. Hosonuma K, Sato K, Yamazaki Y, et al. A prospective randomized controlled study of long-term combination therapy using ursodeoxycholic acid and bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis and dyslipidemia. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(3):423-431.
239. Ohira H, Sato Y, Ueno T, Sata M. Fenofibrate treatment in patients with primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(8):2147-2149.
240. Liberopoulos EN, Florentin M, Elisaf MS, Mikhailidis DP, Tsianos E. Fenofibrate in primary biliary cirrhosis: a pilot study. *Open Cardiovasc Med J.* 2010;4:120-126
241. Levy C, Peter JA, Nelson DR, et al. Pilot study: fenofibrate for patients with primary biliary cirrhosis and an incomplete response to ursodeoxycholic acid. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(2):235-242.
242. Parés A. Novel Treatment Strategies for Primary Biliary Cholangitis. *Semin Liver Dis.* 2017 Feb;37(1):60-72. doi: 10.1055/s-0036-1597929.
243. Corpechot C, Rousseau A, Chazouillères O. Switching vs. add-on strategy in PBC treatment: Lessons from UDCA and bezafibrate experience. *J Hepatol.* 2020;72(6):1210-1211.
244. Reig A, Llovet LP, Sesé P, et al. Long-term bezafibrate therapy does not prevent the progression of primary biliary cholangitis in patients with advanced disease. *J Hepatol.* 2019;70(S1):407

245. Soret PA, Lam L, Carrat F, et al. Combination of fibrates with obeticholic acid is able to normalise biochemical liver tests in patients with difficult-to-treat primary biliary cholangitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2021;53(10):1138-1146.
246. Cheung AC, Lapointe-Shaw L, Kowgier M, et al. Combined ursodeoxycholic acid (UDCA) and fenofibrate in primary biliary cholangitis patients with incomplete UDCA response may improve outcomes. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016;43(2):283-293
247. Hegade VS, Khanna A, Walker LJ, Wong LL, Dyson JK, Jones DEJ. Long-Term Fenofibrate Treatment in Primary Biliary Cholangitis Improves Biochemistry but Not the UK-PBC Risk Score. *Dig Dis Sci.* 2016;61(10):3037-3044.
248. Hirschfield GM, Beuers U, Kupcinskis L, et al. A placebo-controlled randomised trial of budesonide for PBC following an insufficient response to UDCA. *J Hepatol.* 2021;74(2):321-329.
249. ENHANCE: Safety and Efficacy of Seladelpar in Patients With Primary Biliary Cholangitis-A Phase 3, International, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2021;17(2 Suppl 3):5-6.
250. Schattenberg JM, Pares A, Kowdley KV, et al. A randomized placebo-controlled trial of elafibranor in patients with primary biliary cholangitis and incomplete response to UDCA. *J Hepatol.* 2021;74(6):1344-1354.
251. Myers RP, Fong A, Shaheen AA. Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. *Liver Int.* 2008;28(5):705-712.
252. Moteki S, Leung PS, Coppel RL, et al. Use of a designer triple expression hybrid clone for three different lipoyl domain for the detection of antimitochondrial autoantibodies. *Hepatology.* 1996;24(1):97-103.
253. Liu ZY, Xu L, Liu B. Detection of Anti-kelch-like 12 and Anti-hexokinase 1 Antibodies in Primary Biliary Cholangitis Patients in China [published online ahead of print, 2020 Dec 14]. *Rev Esp Enferm Dig.* 2020
254. Murillo Perez CF, Harms MH, Lindor KD, et al. Goals of Treatment for Improved Survival in Primary Biliary Cholangitis: Treatment Target Should Be Bilirubin Within the Normal Range and Normalization of Alkaline Phosphatase. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(7):1066-1074.

255. Levy C, Bowlus CL. Role of Antinuclear Antibodies in Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(10):1604-1606.
256. Granito A, Muratori L, Tovoli F, Muratori P. Surrogate Markers for Antimitochondrial Antibody-Negative Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol.* 2021;116(1):215-217.
257. Haldar D, Janmohamed A, Plant T, et al. Antibodies to gp210 and understanding risk in patients with primary biliary cholangitis. *Liver Int.* 2021;41(3):535-544.
258. Perez C F M, Gerussi A, Trivedi P, et al. The impact of geographical region on outcomes of patients with primary biliary cholangitis from western Europe. *J. Hepatol.* 2020;73: S85.

## 9. ANNEXES

### 9.1 Publicacions científiques generades durant la tesis

Reig A, Álvarez-Navascués C, Vergara M, et al. Obeticholic Acid and Fibrates in Primary Biliary Cholangitis: Comparative Effects in a Multicentric Observational Study [published online ahead of print, 2021 Jun 23]. *Am J Gastroenterol*. 2021; DOI: 10.14309/ajg.0000000000001343.

Reig A, Norman GL, Parés A. Response to Granito et al. *Am J Gastroenterol*. 2021 Jan 1;116(1):217. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000980.

Reig A, Norman GN, Garcia M, et al. Novel Anti-Hexokinase 1 Antibodies Are Associated With Poor Prognosis in Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol*. 2020, 115 (10) DOI: 10.14309/ajg.0000000000000690.

Reig A, Sesé P, Parés A. Effects of bezafibrate on outcome and pruritus in primary biliary cholangitis with suboptimal ursodeoxycholic acid response. *Am J Gastroenterol*. 2018 113 (1), 49-55. DOI: 10.1038/ajg.2017.287.

Goet J C, Murillo-Perez C F, Harms M H, Floreani A, Cazzagon N, Bruns T, Prechter F, Dalekos G N, Verhelst X, Gatselis N K, Lindor K D, Lammers W J, Gulamhusein, A, Reig A, et al. A Comparison of Prognostic Scores (Mayo, UK-CBP, and GLOBE) in Primary Biliary Cholangitis [published online ahead of print, 2021 May 4]. *Am J Gastroenterol*. 2021; DOI: 10.14309/ajg.0000000000001285

Gerussi A, Bernasconi DP, O'Donnell SE, Lammers WJ, Van Buuren H, Hirschfield G, Janssen H, Corpechot C, Reig A, et al. Measurement of Gamma Glutamyl Transferase to Determine Risk of Liver Transplantation or Death in Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 Aug 7:S1542-3565(20)31083-1. Epub ahead of print. DOI: 10.1016/j.cgh.2020.08.006.

Norman G N, Reig A, Viñas O , Mahler M, Wunsch E, Milkiewicz P et al, The Prevalence of Anti-Hexokinase-1 and Anti-Kelch-Like 12 Peptide Antibodies in Patients With Primary Biliary

Cholangitis Is Similar in Europe and North America: A Large International, Multi-Center Study. *Font. Immunol* 2019, 10, 662-667. DOI:10.3389/fimmu.2019.00662

Montali L, Gragnano A, Miglioretti M, Frigerio A, Vecchio L, Gerussi A, Cristoferi L, Ronca V, D'Amato D, O'Donnell SE, Mancuso C, Lucà M, Yagi M, Reig A, et al. Quality of life in patients with primary biliary cholangitis: A cross-geographical comparison. *J Transl Autoimmun.* 2021 6; 4:100081. DOI: 10.1016/j.jtauto.2021.100081.

Corpechot C, Chazouillères O, Belnou P, Montano-Loza AJ, Mason A, Ebadi M, Eurich D, Chopra S, Jacob D, Schramm C, Sterneck M, Bruns T, Reuken P, Rauchfuss F, Roccarina D, Thorburn D, Gerussi A, Trivedi P, Hirschfield G, McDowell P, Nevens F, Boillot O, Bosch A, Giostra E, Conti F, Poupon R, Parés A, Reig A, et. al. Long-term impact of preventive AUCD therapy after transplantation for primary biliary cholangitis. *J. Hepatol* 2020 Apr 7, 73 (3) 559-65. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.03.043.

Gerussi A, Bernasconi DP, O'Donnell SE, Lammers WJ, Van Buuren H, Hirschfield G, Janssen H, Corpechot C, Reig A, et al. Measurement of Gamma Glutamyl Transferase to Determine Risk of Liver Transplantation or Death in Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2021;19(8):1688-1697.e14. DOI:10.1016/j.cgh.2020.08.006

Montano-Loza AJ, BE Hansen BE, Corpechot C, Roccarina D, Thorburn D, Trivedi P, Hirschfield G, McDowell P, Poupon R, Dumortier J, Bosch A, Giostra E, Conti F, Parés A, Reig A, et. Al, Factors associated with recurrence of primary biliary cholangitis after liver transplantation and effects on graft and patient survival, *Gastroenterology* 2019 156 (1), 96-107. e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.10.001.

Lemoine S, Pares A, Reig A, et al. Primary sclerosing cholangitis response to the combination of fibrates with ursodeoxycholic acid: French-Spanish experience. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2018;42(6):521-528. doi:10.1016/j.clinre.2018.06.009

Floreani A, Mangini C, Reig A, et al. Thyroid Dysfunction in Primary Biliary Cholangitis: A Comparative Study at Two European Centers. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(1):114-119. doi:10.1038/ajg.2016.479



Floreani A, Spinazzè A, Caballeria L, Reig A, Cazzagon N, Franceschet I, Buja A, Furlan P, Harada K, Leung PS, Gershwin ME, Pares A. Extrahepatic malignancies in primary biliary cirrhosis: a comparative study at two European centers. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2015 Jun;48(2-3):254-62. DOI: 10.1007/s12016-014-8446-7

### **8.1 Publicacions que han fet referència als articles objecte d'aquesta tesi**

Granito A, Muratori L, Tovoli F, Muratori P. Surrogate Markers for Antimitochondrial Antibody-Negative Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol*. 2021;116(1):215-217.

Levy C, Bowlus CL. Role of Antinuclear Antibodies in Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol*. 2020;115(10):1604-1606.