

Otoimmün Karaciğer Hastalıklarında Antinükleer Antikorların Değerlendirilmesi ve Klinik Uygulamadaki Yeri

Ömür ARDENİZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Alerji ve Klinik İmmünoloji, Bilim Dalı İzmir

Antinükleer antikorlar (ANA), otoimmün karaciğer hastalıklarının tanısında kullanılan, ancak spesifitesi çok yüksek olmayan serolojik göstergeleridir. Bu antikorların, bir immünojen tarafından tetiklenen primer bir reaktiviteyi yansıtmaktan çok, karaciğer hücre harabiyeti neticesi oluştuğları düşünülmektedir (1).

ANA kronik viral hepatitler, ilacın indüklediği karaciğer hastalıkları, primer biliyer siroz, primer sklerozan kolanjit, non-alkolik steatohepatit ve alkolik karaciğer hastalığı gibi çok sayıda kronik karaciğer patolojilerinde pozitif saptanabilir (2). Ancak özellikle tip-1 otoimmün hepatit tanısında, anti düz kas antikorlar (ASMA) ile birlikte en önemli tanı aracı olarak kabul edilmektedir.

ANTİNÜKLEER ANTİKORLARIN İNDİREKT İMMÜNFLORESAN (İFA) METODUYLA BELİRLENMESİ

ANA'ların İFA yöntemiyle tetkiki, tüm dünyada

en çok uygulanan antikor tarama testidir. Geçtiğimiz 20 yıllık süre içerisinde, ANA taramalarında kullanılan rodent dokuların yerini, Hep-2 hücre dizileri almıştır. Bu hücrelerin hayvan değil insan kökenli olması, çok çeşitli ANA örneğinin belirlenmesine imkan vermesi, tek tabaka halinde üremesi nedeniyle tüm nükleusların görünebilmesi, nükleusların büyüklüğü nedeniyle nükleer boyanma ayrıntılarının seçilebilmesi, hücre bölünme hızının fazla olması nedeniyle sadece hücre bölünmesi aşamasında üretilen antijenlere ait boyanma örneklerinin (sentromer) kolaylıkla belirlenebilmesi gibi çok sayıda avantajı mevcuttur (3).

İFA yöntemiyle saptanan antikorların yöneldiği spesifik antijenlerin belirlenmesi için immüno-blotting (Western Blot) ve enzim immün assay (EIA) yöntemleri kullanılır.

OTOİMMÜN HEPATİTTE ANA

ANA'lar, Tip-1 otoimmün hepatitli (OİH) bir hastanın seyri süresince kaybolabilmekte veya yeniden

belirebilmektedir. Serum ANA titreleri, hastalık aktivitesiyle korele değildir ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde güvenilir bir kriter olarak kabul edilmez (2). OİH' de en sık gözlenen ANA boyanma örnekleri, homojen ve granülerdir. Homojen ve granüler ANA örnekleri benzer sıklıkta rapor edilmektedir (% 34 vs % 38) (2). Homojen ANA örnekleri, çift zincirli DNA (ds DNA), histon ve PM-Scl antikorlarla ilişkilidir. Granüler boyanma örnekleri ise Sm, U1 RNP, Ro, La, Scl-70, RNA polimeraz II-III, Ku, Ki ve Mİ-2 antikorlarıyla ilişkili olabilir (3). OİH' lerde, nükleer membran tarzında boyanma (lamin) da gözlenebilir (3).

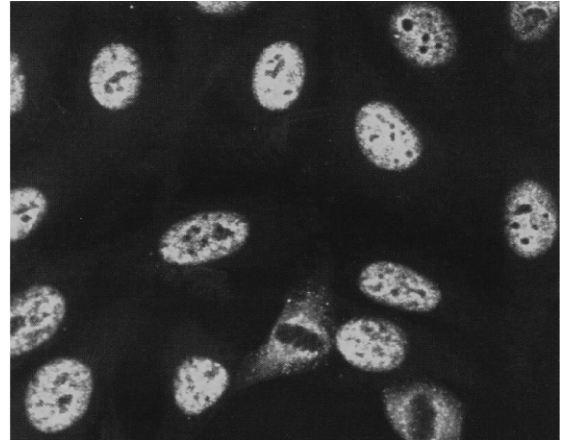
OİH'li hastaların % 54' ünde tanı anında, ASMA ve ANA birlikte pozitifken, % 33 olguda izole ASMA pozitifliği ve % 13 olguda ise izole ANA pozitifliği belirlenmektedir (2).

Czaja'nın çalışmasında, ANA pozitif ve negatif tip-1 OİH hastaları arasında, klinik temelde bir fark saptanmamış, ancak ANA pozitif olgularda HLA-DR 4 pozitiflik oranı ANA negatif ve sağlıklı popülasyona kıyasla anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (4). HLA DR-4 pozitif olgular daha iyi bir prognoza sahiptir.

Czaja, İFA yöntemde homojen ANA patemi sergileyen olgularda, granüler karakterde ANA pozitifliği saptanan olgulara kıyasla daha yüksek ANA ve ASMA titreleri belirlenmiş ancak tedaviye yanıt ve prognoz açısından her iki grup arasında bir fark saptanmamıştır. Granüler ANA pozitifliği saptanan olgularda ise, A1-B8-DR3 haplotipi daha yüksek oranda belirlenmiştir, ancak bunun farklı bir klinik subgrubu tanımlamadığı ve granüler ANA pozitifliğinin konağın genetik yatkınlığının bir yansıması olduğu yorumu yapılmıştır (4). Otoimmün hepatitte, İFA yöntemle saptanan ANA örneği ile hastalığın klinik özellikleri arasında anlamlı bir ilişki belirlenememiştir.

Histon antikorlar: Histonlar, tüm ökaryot hücrelerde DNA ile kompleks halinde bulunan küçük, bazik, nükleusa ait proteinlerdir ve H1, H2A, H2B, H3, H4 olmak üzere 5 alt fraksiyona sahiptir (5). Histonlara yönelik antikor pozitif olgularda, İFA homojen karakterde ANA boyanma örneği gösterir, bu örnekte nükleus diffüz ve üniform olarak boyanır (Şekil 1).

Histonlara yönelik antikorların patojenik olduklarına dair ispatlanmış veri mevcut değildir. Ancak bu antikorların nükleozomal histonlara bağlanmaları, nükleus fonksiyonları bozabilir (2). Kromatin üzerindeki bir epitopa yönelik toleransın kaybol-



Şekil 1. Nükleer homojen boyanma örneği (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır)

ması, B lenfositlerin kromatini işleyip T hücrelere sunmasına ve böylece histonlara yönelik antikor gelişiminin uyanılmasına neden olabilir.

ANA pozitif OİH' li hastalarda, histonlar nükleusla ilgili önemli antijenik yapılardır. Bir çalışmada, total histonlara yönelik antikorlar, tip-1 otoimmün hepatitli hastaların % 35' inde belirlenmiştir (6).

Histona yönelik antikorlar ELİSA tetkikiyle de saptanabilir. H1, H2A, H2B, H3 ve H4 antikorlarının ayrı olarak belirlenmesi için Western blotting yöntemi de kullanılabilir. OİH' lerde en sık saptanan histon antikor H3' e yönelik IgG antikorlardır ve bu antikor pozitif olguların, daha genç yaşta kliniğe yansıyan, yüksek transaminaz düzeylerine sahip ve daha yüksek sıklıkta HLA DR-4 pozitif hastalar olduğu belirlenmiştir (2).

Çift-zincirli DNA (ds-DNA) Antikorları: ANA pozitif otoimmün hepatitlerde, ds DNA antikorları gelişmektedir ancak sıklığı çalışmada kullanılan yöntemle göre değişkenlik göstermektedir. Bu antikorlar, ELİSA yöntemiyle % 34 ile 64 olguda pozitif saptanırken; pür ds-DNA kaynağı olan *Crithidia lucilia* kinetoplastının temel alındığı yöntemde (İFA yöntemiyle *crithidia* test) sadece % 23 olguda pozitiflik saptanır (7). Anti-ds DNA antikoru pozitif hastalar daha yüksek sıklıkta HLA DR-4 pozitif ve daha yüksek serum IgG düzeylerine sahiptir (2). Nükleus fonksiyonlarını etkileyebilen ds-DNA antikorları, OİH' de patojenik özellik gösterebilir. Ancak günümüzde bu antikorların ayrı bir klinik antiteyi yansıttığı kesin olarak söylenememektedir.

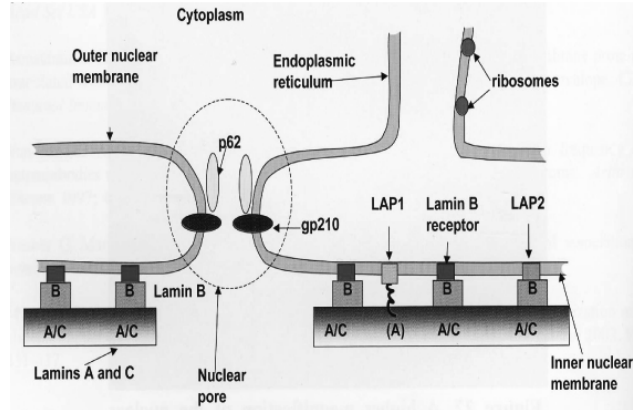
PRİMER BİLİYER SİROZDA ANA

PBS'li olguların yaklaşık % 50' sinde ANA pozitif saptanmaktadır. Otoimmün hepatitlerde ANA örneği, klinik açıdan belirgin bir öneme sahip değildir, PBS' de tanı koyma ve prognozu belirleme aşamalarında önemli bir göstergedir (1). Nükleer por membran protein gp210 ve sp100' e yönelik antikorlar, özellikle AMA negatif PBS hastalarında tanıya yardımcı olan ve yüksek oranda spesifik kabul edilen antikorlardır.

Nükleer Zarf Proteinlerine ve Membran Por Komplekse Yönelik Antikorlar: Nükleer zarf, nükleer lamina, nükleer por kompleksleri ve nükleer membranlardan meydana gelir (Şekil 2). Nükleer por kompleksler (NPK), nükleer zarf boyunca dağılmış, büyük ve her biri 50' den fazla proteinden ibaret yapılardır ve nükleus ile sitoplazma arasında madde alışverişinden sorumludur (Şekil 3). Bu yapılar iç ve dış nükleus membranların birleşim yerlerine lokalizedir (8).

Nükleer por kompleks antikorları, genellikle en önemli membran glikoproteini olan gp-210 ve nükleoporin p-62' e yönelik oluşmaktadır. Gp-210, diğer nükleer por kompleks bileşenlerini nükleer zarfa bağlar. Gp-210 ve P-62, nükleer transport regülasyonunda kritik önem taşır (8). İFA' da bu antikorlar tipik bir boyanma özelliği gösterir (Şekil-4).

Anti gp 210 ve p-62 antikorlar: İFA' da karakteristik perinükleer halka tarzında bir boyanma örneği gösterir ancak, yüksek titrede antimitokondrial antikorların varlığında bu antikorlara ait boyanma maskelenebilir. Böyle olgularda İFA' nın tarama testi olarak kullanımı yalancı negatif değerlendirilmelere neden olabilir (9). Bu antikorlar ELISA veya

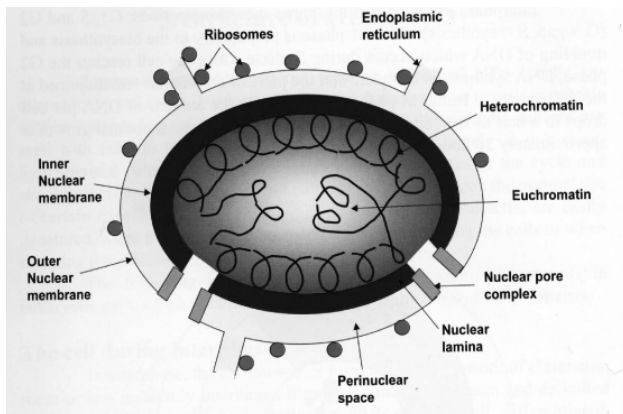


Şekil 3. Nükleer membran ve nükleer por kompleks yapısı (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır).

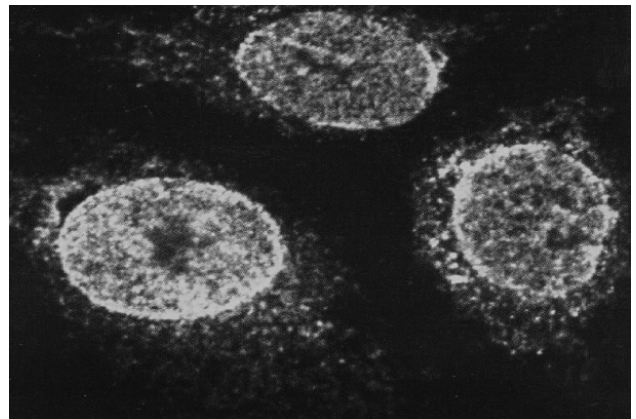
Western-blotting yöntemleriyle saptanabilir.

PBS'li olgularda anti-gp 210 antikor sıklığı % 9,5-41 arasında değişmektedir (10). Bu antikorlar, karaciğer nakli sonrasında, allograftta histolojik olarak PBS düşündürecek bulgular olmaksızın pozitif saptanabilmektedir (10). PBS nedeniyle karaciğer nakli uygulanan hastalarda, nüks gelişimini saptamaya yönelik klinik bir önemi bulunmamaktadır. Anti-gp 210 antikorlarının PBS için spesifitesi % 99 üzerindedir (11) ve düşük AMA titresine sahip olan veya AMA negatif bulunan PBS olgularında tanıya gitmede yardımcı bir laboratuvar testidir.

PBS hastalarında, anti gp-210 antikorlarının prognozistik değeri konusunda uzun dönem çalışmalar mevcut değildir. Önceki çalışmalarda, gp-210 antikoru pozitif ve negatif hastalar arasında klinik açıdan anlamlı fark rapor edilmemiştir, ancak anti-gp 210 antikorlarının, daha aktif ve ciddi hastalık lehine olduğunu belgeleyen yayınlar mevcut-



Şekil 2. Nükleer Membran Yapısı (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır)



Şekil 4. Nükleer por kompleks boyanma örneği. (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır)

tur (12). Paolo Muratori ve arkadaşlarının çalışmasında da, gp-210 antikoru pozitif PBS hastalarında, daha yüksek alkalen fosfataz, gamma glutamil transpeptidaz, bilirubin ve IgG-IgM düzeyleri ve daha düşük albumin değerleri belirlenmiştir. Gp-210 antikoru pozitif olgularda daha yüksek Mayo risk skoru elde edilmiştir (13). Tüm bu bulgular, anti-gp 210 antikorlarının, PBS hastalarında, prognostik değeri olduğunu göstermektedir. Önceki çalışmalarda duyarlılığı düşük olan İFA yönteminin kullanılmış olması, mevcut klinik ilişkinin saptanmamasında rol oynamış olabilir.

Nükleer porun diğer komponenti olan nükleopirin p-62' e yönelik antikorlar da PBS hasta serumlarında saptanmaktadır ve sıklığı % 25-30 düzeyinde bildirilmektedir (14). Bu antikorlar, ayrıca Sjögren sendromu, lupus (SLE), miks bağ doku hastalığı gibi romatolojik patolojilerde de saptanabilmektedir. Nükleopirin p-62 antikorlarının, klinik önemini aydınlatmak üzere prospektif bir çalışma bulunmakla birlikte, retrospektif değerlendirmelerde, anti-p 62 antikor varlığı, PBS'li hastalarda kötü prognoz göstergesi olarak belirlenmiştir (15).

Nükleer por kompleksine antikor gelişiminde moleküler benzerlik mekanizmaları etkin olabilir. Bazı nükleer por kompleks komponentleri ile virüsler arasında aminoasit dizi benzerlikleri belirlenmiştir. Gp-210 proteininin transmembran yapısının, çok sayıda virüsün zarf glikoproteinleri ile yapısal benzerlik taşıdığı anlaşılmıştır (16).

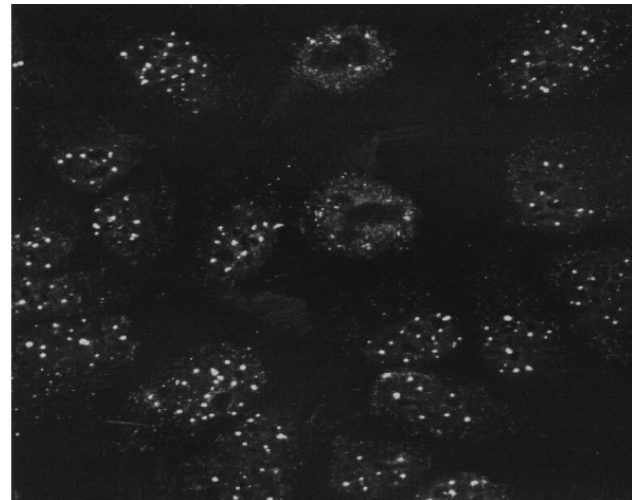
Anti-sp 100 ve PML Antikorlar: Tüm memeli hücre nükleuslarında multiprotein kompleksler yer alır (10). Bu kompleksler içinde çeşitli proteinler lokalize olmuştur ve bu proteinlerden en iyi bilineni PML (promiyelositik lösemi proteini) ve sp-100 antijeni- dir. Bu antijenlere yönelik antikorlar, İFA boyanmasında nükleusta 10-30 civarında değişik boyutlarda noktalanmanın gözlemlendiği "multiple nükleer noktalanma" olarak adlandırılan bir örnek sergiler (10) (Şekil-5). İFA ile böyle bir örnek saptanan olgularda, sp-100 antikorlarının varlığı ELISA tekniği kullanarak araştırılabilir (17).

Sp-100 proteini, sınıf I MHC moleküllerinin antijen bağlayan sabit bir bölümü ile dizi benzerliğine sahiptir ve bu proteinin nükleusta ekspresyonu stres, viral enfeksiyonlar ve interferonlarca tetiklenmektedir (14).

Multiple nükleer noktalanma örneğine PBS dışındaki diğer hepatik patolojilerde de düşük oranda rastlanmaktadır. Anti-sp 100 antikorlar, özellikle AMA negatif PBS hastalarında ve daha az oranda da bazı bağ doku hastalıklarında pozitif saptanmaktadır (18). Ancak bağ doku hastalıklarında hedef antijenler farklıdır. Sp-100 antikorlar, özellikle atipik PBS olgularında tanı koymada yardımcı olan ve PBS için yüksek oranda spesifik kabul edilen antikorlardır (10).

Pozitiflik oranları, çeşitli çalışmalarda farklılık göstermekle birlikte, PBS tanı olguların ortalama % 20 ile 30' unda anti-sp 100 antikor pozitifliği bulunmaktadır ve varlığı kötü prognoz göstergesi olarak belirlenmiştir (10). Anti- sp 100 antikorlar, karaciğer nakli uygulanan PBS hastalarda, histolojik olarak nüks lehine bulgu mevcut değilken pozitif saptanmaya devam edebilir (19).

PML'e yönelik antikorlar da multiple nükleer noktalanma örneği sergileyen PBS hastalarında bulunabilir (20). Anti-Sp 100 ve PML'e yönelik antikorlar, genellikle aynı serum örneğinde birlikte saptanmaktadır ve o nedenle her iki antijenin de birlikte bulunmasının, immünojenik etkisi olduğu düşünülmektedir (20). PML antikorlarının saptanması daha zordur. Sternsdorf ve arkadaşları, immünoresipitasyon ve radyoaktif işaretli PML kullanarak, anti-sp 100 antikoru pozitif PBS hastalarının büyük bölümünde, anti-PML antikorlarını pozitif bulmuştur (20).

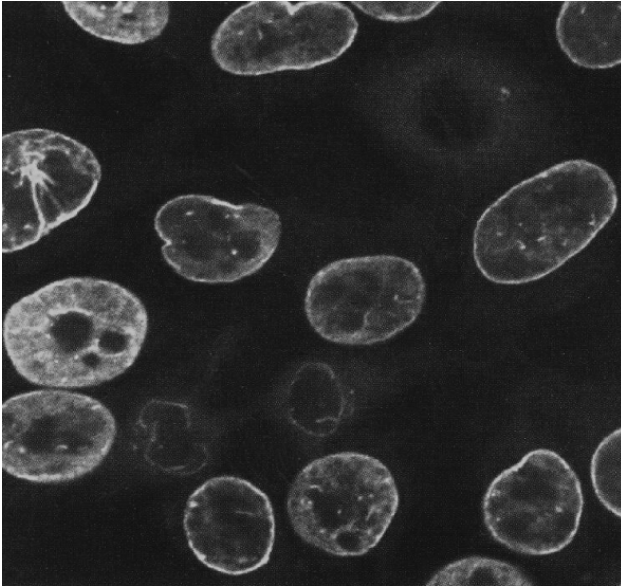


Şekil 5. Multiple Nükleer Noktalanma örneği (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır)

NÜKLEER LAMİNA PROTEİNLERİ

Lamina, iç nükleus membranının iç yüzeyiyle ilişkisi olan ve lamin denilen protein yapı taşlarından meydana gelen bir nükleer zarf komponentidir (21) (Şekil-2). İnsanlarda en azından 4 farklı lamin proteini (lamin A, lamin B1, B2, C) tanımlanmıştır ve bu proteinler polimerize olarak laminayı oluşturur.

Lamin B reseptörü (LBR) ilk tanımlanan iç nükleer membran proteinidir (21) ve bu proteine yönelik antikolar da PBS hastaları için yüksek spesifite gösterir. Nükleer lamin veya lamin B reseptörüne yönelik antikolar, İFA' da düzgün halka tarzında bir boyanma örneği oluşturur (Şekil 6).



Şekil 6. Nükleer lamin boyanma örneği (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır)

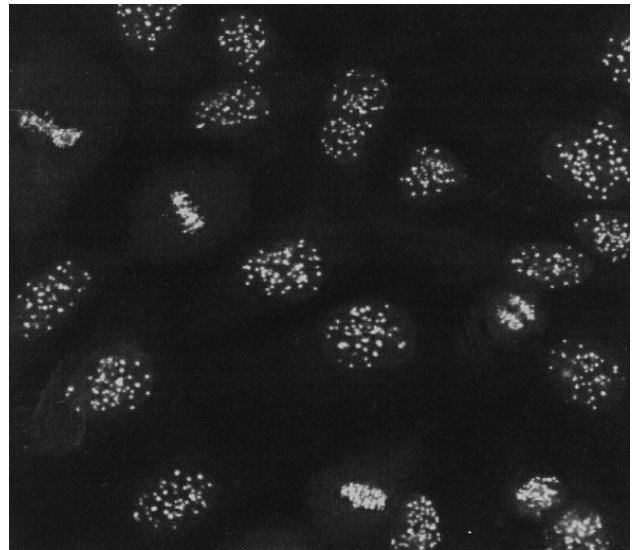
Lamin B Reseptör Antikoları: Lamin B reseptörü (LBR), nükleer laminayı iç nükleer membrana bağlar. LBR antikoları ELİSA yöntemiyle saptanabilmektedir. PBS hastalarında % 1 ile % 2 oranına pozitif bulunmaktadır (10, 21). Günümüze kadar LBR antikoları PBS haricindeki diğer otoimmün hastalıklarda belirlenmemiştir ve o nedenle yüksek oranda spesifiteye sahiptir (10). Bu olguların bir kısmında, antimitokondrial antikolar ya belirlenmemekte ya da çok düşük titrede pozitif bulunmaktadır o nedenle sp-100 ve gp-210 antikoları gibi, AMA negatif PBS olgularında tanı koymada yardımcıdır (13).

Lamin Antikoları: Nükleer laminlere yönelik antikolar, skleroderma, SLE ve otoimmün hepatit gibi otoimmün patolojilerde saptanabilmektedir (21). Lamin antikolar PBS hastalarında yaklaşık % 2 oranında pozitif bulunmaktadır (10).

Lamin antikolarının gelişim mekanizmaları konusunda öne sürülen mekanizma, apoptoz aşamasında gözlenen dramatik değişikliklere dayandırılmaktadır. Çalışmalar, apoptotik hücre ölümü sırasında ortaya çıkan polipeptid parçalarının antijenik sunumu ile antinükleer antikoların geliştiği hipotezini desteklemektedir (22).

Sentromer Antikoları: Antisentromer antikolar (ASA), CREST sendromu olarak bilinen sınırlı skleroderma için spesifik kabul edilmekle birlikte, diffüz skleroderma, SLE, Romatoid artrit, Raynaud's fenomeni gibi hastalıklarda pozitif saptanabilmektedir. PBS' de % 30' a varan oranda ASA pozitifliği bildirilmektedir (14). PBS' li hastalarda bu antikoların mevcudiyeti, sıklıkla CREST varyant sklerodermanın klinik bulgularıyla birliktedir (14). Anti-sentromer antikolar, İFA ile bakıldığında, karakteristik bir boyanma örneği sergiler (Şekil 7).

PBS ve sklerodermalı hastalarda, immünblotting yöntemiyle 4 farklı (A, B, C, D) sentromer proteini tanımlanmıştır. Bunlar içinde otoimmün serumlarla en reaktif olanı CENT-B' dir. CENT-B ELİSA yöntemiyle belirlenebilir. PBS tanılı 25 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, ELISA yöntemiyle, hasta serumlarının % 60 oranında CENT-B ile reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir (23). Bu çalışmada

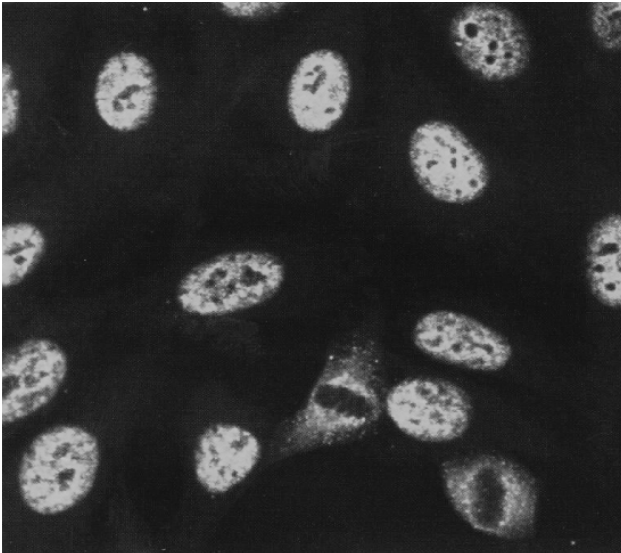


Şekil 7. Sentromer boyanma örneği. (Atlas of HEp-2 patterns'den alınmıştır)

CENT-B antikor pozitifliği ile klinik ve AMA-M2 pozitifliği arasında herhangi bir ilişki belirlenmemiştir. Ancak ANA pozitifliği ile prognoz ilişkisini araştıran 492 PBS hastasının dahil edildiği bir çalışmada ise, sentromer örneğinde ANA pozitifliği ile karaciğer yetersizliği gelişimi arasında pozitif ilişki belirlenmiştir (24). Hasta serumlarında, İFA ile insan rekombinan antijeninin kullanıldığı ELİSA metodunun kıyaslandığı çalışmalarda sentromer antikorlar benzer sıklıkta pozitif saptanmaktadır.

SJÖGREN SENDROMUNUN EŞLİK ETTİĞİ PBS'DE ANA ÖRNEKLERİ

PBS' de keratokonjonktivitis sikka sendromu % 47,4 ile % 81'e varan oranda rapor edilmektedir (25). Sjögren sendromu eşlik eden PBS olgularında anti-Ro ve anti-La antikor pozitifliği belirlenmekte-



Şekil 8. İnce granüler boyanma örneği (Atlas of Hep-2 patterns'den alınmıştır)

dir. Ro ve La antikor varlığında İFA' da "ince granüler" ANA boyanma örneği gözlenir (3) (Şekil-8).

Ro antikorlarının, 52 kDa ve 60 kDa olmak üzere iki alt grubu mevcuttur ve sikka sendromu eşlik eden PBS olgularında, anti-52 kDa Ro antikorları pozitif bulunmaktadır. Döner ve arkadaşlarının çalışmasında ELİSA yöntemi uygulandığında, sikka sendromu özelliklerine sahip 10 PBS hastasının 7' sinde anti-52 kD Ro antikor pozitifliği belirlenmiştir (25). Ro antikorları, sjögren sendrom özelliği gösteren PBS hastaları için, karakteristik bir serolojik gösterge olarak kabul edilebilir (25).

Anti-La antikorları, anti-Ro antikor varlığında poziti-

tif saptanmaktadır ve prevalans, çeşitli çalışmalarda farklılık göstermekle birlikte, literatürde % 10' varan oranda anti-La pozitifliği bildirilmiştir (25).

KAYNAKLAR

1. Czaja AJ: Autoantibodies. Bailliere's Clin Gastroenterol 1995; 9: 723-744.
2. Albert J. Czaja, Gary L. Norman. Autoantibodies in the Diagnosis and Management of Liver Diseases. J Clin Gastroenterol 2003; 37: 315-327.
3. A.R. Bradwell, R.G. Hughes, E.L. Harden. Atlas of Hep-2 patterns and laboratory techniques. In: A. R. Bradwell Editor. 2 nd ed. Birmingham UK. Drapkins and Co. 2003; 1-52.
4. Albert J. Czaja, Fabio Cassani, Michela Cataleta, Paolo Valentini, Francesco B. Bianchi. Antinuclear Antibodies and Patterns of Nuclear Immunofluorescence in Type 1 Autoimmune Hepatitis. Digestive Diseases and Sciences 1997; 42: 1688-1696.
5. Lu Li, Ming Chen, Dong Yang Huang and Mikio Nishioka. Frequency and significance of antibodies to chromatin in autoimmune hepatitis type-1. Journal of Gastroenterology and Hepatology (2000) 15, 1176-1182.
6. Czaja AJ, Chen M, Shirai M, Nishioka M. Frequency and significance of antibodies to histones in autoimmune hepatitis. J Hepatol 1995; 23: 32-8.
7. Czaja AJ, Morshed SA, Parveen S, et al. Antibodies to single stranded and double stranded DNA in antinuclear antibody positive type-1 autoimmune hepatitis. Hepatology. 1997; 26: 567-572.
8. Pietro Invernizzi, Carlo Semli, Carmen Rabftler, Mauro Podda, Jozefa Wesierska-Gadek. Antinuclear Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis. Seminars in Liver Disease 2005; 25: 298-310.
9. Ou Y, Enarson P, Rattner JB, Barr W, Fritzler MJ. The nuclear pore complex protein Tpr is a common autoantigen in sera that demonstrate nuclear envelope staining by indirect immunofluorescence. Clin Exp Immunol 2004; 136 (2); 379-387.
10. Howard J. Worman, Jean-Claude Courvalin. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. Autoimmunity Reviews 2003; 2: 211-217.
11. Lassoued K, Guilly M-N, Andre C, et al. Autoantibodies to a 200 kD polypeptide(s) of the nuclear envelope: a new serological marker of primary biliary cirrhosis. Clin Exp Immunol 1988; 74: 283-8.
12. 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: 257-65.
13. Paolo Muratori, Luigi Muratori, Rodolfo Ferrari, Fabio Cassani, Giampaolo Bianchi, Marco Lenzi, Luis Rodrigo, Antonio Linares, Dolores Fuentes, Francesco B. Bianchi. Characterization and Clinical Impact of Antinuclear Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis. The American Journal of Gastroenterology 2003; 98: 431-437.

-
14. Ian R Mackay, Senga Whittingham, Shahnaz Fida, Mark Myers, Nobuhiro Ikuno, M. Eric Gershwin, Merrill J. Rowley. The peculiar autoimmunity of primary biliary cirrhosis. *Immunological Reviews* 2000; 174: 226-237.
 15. 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: 366-72.
 16. P. Enarson, J. B. Rattner, Y.Ou. K. Miyachi, T. Horigome, M. J. Fritzler. Autoantigens of the nuclear pore complex. *J Mol Med* (2004) 82; 423-433.
 17. P. Muratori, L. Muratori, F. Cassani, P. Terlizzi, M. Lenzi, L. Rodrigo and F.B. Bianci. Anti-multiple nuclear dots (anti-MND) and anti-SP 100 antibodies in hepatic and rheumatological disorders. *Clin Exp Immunol* 2002; 127: 172-175.
 18. Szostecki C, Guldner HH, Will H. Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 1997; 17: 71-8.
 19. Luettig B, Boeker KH, Schoessler W, et al. The antinuclear autoantibodies sp-100 and gp-210 persist after orthotopic liver transplantation in patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1998; 28: 824-8.
 20. Sternsdorf T, Guldner HH, Szostechi C, Grotzinger T, Will H: Two nuclear dot-associated proteins, PML and sp-100, are often co-autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand J Immunol* 1995; 42: 257-68.
 21. Jean-Claude Courvalin, Howard J. Worman. Nuclear envelope protein autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Seminars in liver disease*. 1997; 17: 79-90.
 22. Tan EM. Autoimmunity and apoptosis. *J Exp Med* 1994; 179: 1083-6.
 23. Parveen S, Morshed SA, Nishioka M. High prevalence of antibodies to recombinant CENP-B in primary biliary cirrhosis; nuclear immunofluorescence patterns and ELISA reactivities.
 24. Yang WH, Yu JH, Nakajima A, Neuberg D, Lindor K, Bloch DB. Do antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis patients identify increased risk for liver failure? *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004; 2 (12): 1116-22
 25. T. Dörner, C. Held, G. Trebeljahr, A. Lukowsky, K. Yamamoto and F. Hiepe. Serologic Characteristics in Primary Biliary Cirrhosis Associated with Sicca Syndrome. *Scand J Gastroenterology* 1994; 29: 655-660.