

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ БИЛИАРНОЙ АТРЕЗИИ

М. Х. Исаева¹ ✉, В. А. Белова², Д. О. Коростин², А. В. Дегтярева^{1,3}¹ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, Москва, Россия² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

Билиарная атрезия (БА) — это холестатическое заболевание печени, которое дебютирует в младенческом возрасте и при отсутствии своевременного лечения приводит к циррозу печени с прогрессирующей печеночной недостаточностью. Несмотря на многолетние исследования, этиология билиарной атрезии остается не до конца изученной. Среди факторов, вовлеченных в этиопатогенез БА, выделяют иммунную дисрегуляцию, факторы окружающей среды и генетическую предрасположенность. Роль генотипа пациента в развитии заболевания активно изучается, выявлены гены-кандидаты, ассоциированные с БА в определенных популяциях, гены, влияющие на функционирование ресничек холангиоцитов, а также гены, участвующие в стресс-реакциях. Однако, исходя из многолетних результатов наблюдений близнецов с БА, можно сделать вывод о том, что роль генотипа не является первостепенной в развитии заболевания. Предположительно, в этиологию заболевания могут вносить вклад как эпигенетические механизмы, так и постзиготические соматические мутации. В последнее время накапливаются также данные о возможной генетической предрасположенности к исходу портоэнтеростомии по Касаи, проводимой при БА. Вместе с тем, наличие многих факторов, играющих роль в развитии заболевания, создает трудности в выявлении точных генетических маркеров.

Ключевые слова: билиарная атрезия, этиология билиарной атрезии, холестаза, заболевание печени, генетические факторы

Финансирование: работа была поддержана грантом №075-15-2019-1789 Министерства образования и науки РФ, выделенным на осуществление государственной поддержки создания и развития «Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины».

Вклад авторов: М. Х. Исаева, В. А. Белова — изучение литературы, написание обзора; Д. О. Коростин, А. В. Дегтярева — вклад в концепцию и структуру обзора, редактирование.

✉ **Для корреспонденции:** Медан Хасановна Исаева
ул. Академика Опарина, д. 4Б, г. Москва, 117513; medan.isayeva@bk.ru

Статья получена: 08.10.2020 **Статья принята к печати:** 24.10.2020 **Опубликована онлайн:** 06.11.2020

DOI: 10.24075/vrgmu.2020.069

GENETIC ASPECTS OF BILIARY ATRESIA ETIOLOGY

Isaeva MKh¹ ✉, Belova VA², Korostin DO², Degtyareva AV^{1,3}¹ National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov, Moscow, Russia² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia³ Sechenov University, Moscow, Russia

Biliary atresia (BA) is a cholestatic disorder of infancy that is fatal if untreated. Despite years of study the etiology of BA remains unknown. Three etiopathogenic mechanisms may be involved, such as immune dysregulation, environmental factors and genetic susceptibility. Genetic predisposition is being actively studied. Candidate genes associated with BA in certain populations, genes affecting the cholangiocyte cilia function, as well as genes involved in stress responses have been identified. However, the long-term follow-up of twins with BA suggests that genotype is not of paramount importance for the disease development. Both epigenetic patterns and postzygotic somatic mutations may contribute to etiology of the disease. Recently, some evidence is being accumulated on the possible genetic predisposition to certain outcome of Kasai portoenterostomy performed in patients with BA. However, the presence of a number of factors contributing to the development of the disease makes it difficult to identify the genetic markers.

Keywords: biliary atresia, biliary atresia etiology, cholestasis, liver disease, genetic factors

Funding: the study was supported by grant № 075-15-2019-1789 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation issued to ensure state support for the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine.

Author contribution: Isaeva MKh, Belova VA — literature analysis, manuscript writing; Korostin DO, Degtyareva AV — concept and structure of the review, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Medan Kh. Isaeva
Oparina, 4B, Moscow, 117513; medan.isayeva@bk.ru

Received: 08.10.2020 **Accepted:** 24.10.2020 **Published online:** 06.11.2020

DOI: 10.24075/brsmu.2020.069

Билиарная атрезия (БА) — это воспалительная и фиброзирующая облитерация внепеченочных желчных протоков с постепенным вовлечением в процесс внутрипеченочной желчной системы и формированием цирроза печени. Заболевание чаще встречается в изолированной (несиндромальной/перинатальной) форме (85% случаев), реже — в синдромальной (эмбриональной) форме (10–15% случаев) и в 5–8% случаев выявляется кистозная форма. Частота встречаемости БА в популяции колеблется в различных странах от 1 : 8000 (в Азии и Африке)

до 1 : 18 000 (в Европе), среди больных преобладают девочки [1, 2]. Клинически заболевание проявляется неонатальным холестазом. При этом дифференциальная диагностика включает обширную группу врожденных и наследственных заболеваний, многие из которых в течение первых месяцев жизни протекают под видом БА [3, 4]. Диагноз подтверждают морфологическим исследованием биоптатов печени и желчного протока во время операции. Хирургическая коррекция (гепатопортоэнтеростомия по Касаи, КРЕ) и трансплантация печени позволяют

улучшить общую выживаемость детей с БА до 90% [4–6]. Однако причины развития БА, а также предпосылки, определяющие исход лечения, на сегодняшний день остаются малоизученными.

Этиология заболевания

Перед ознакомлением с исследованиями генетических механизмов, связанных с развитием БА и влиянием на исход лечения стоит кратко упомянуть о других факторах, вовлеченных в патогенез БА, — иммунной дисрегуляции и факторах окружающей среды (вирусах, токсинах).

Существует множество данных об этиологических факторах, среди которых важная роль принадлежит факторам иммунной дисрегуляции. БА — это фибровоспалительное заболевание, характеризующееся инфильтрацией воспалительными клетками, избыточной экспрессией цитокинов и/или хемокинов при морфологическом исследовании биоптатов печени больных. Ключевое звено в иммунопатогенезе БА — врожденный иммунный ответ с активацией NK-клеток и субпопуляции Т-хелперов 1-го типа, известный как Th1-тип ответ адаптивного иммунитета с привлечением эффекторных Т-клеток, ведущий к воспалению и обструкции [7]. При этом наблюдается снижение количества Treg-клеток, оказывающих супрессорный эффект на воспаление. После возникновения обструкции, независимо от восстановления оттока желчи, иммуноопосредованное повреждение желчных путей сохраняется [8] в результате активации Th2- и Th17-ответа. Тем не менее рецидивы после трансплантации печени отсутствуют, как это происходит при других иммунных заболеваниях желчных протоков [9].

Вирусное или токсическое воздействие на эпителий желчных протоков потенциально может приводить к появлению новых эпителиев антигенов, которые будут инициировать или усиливать аутоиммунное воспаление [8, 10]. Среди возможных патогенных вирусов рассматриваются: ЦМВ, ВПЧ, вирус герпеса 6-го типа, ЭБВ, реовирус и ротавирус [11]. Во многих исследованиях, в которых использовался метод ПЦР (на вирусные ДНК/РНК) или иммуноокрашивание на вирусные IgM+ или на белок Mx, в некоторых, но не во всех, образцах тканей печени обнаруживались следы перенесенной вирусной инфекции [12, 13]. В настоящее время нет четких доказательств развития БА вследствие вирусной инфекции из-за противоречивых результатов исследований с отсутствием контрольных образцов, методологических неточностей и неоднозначной интерпретации данных [10, 11, 14]. Парадоксально, но БА не развивается у взрослых, зараженных этими вирусами. Убедительным остается тот факт, что наличие вирусной инфекции отягощает течение БА и повышает вероятность неблагоприятного исхода [12, 13, 15].

Среди экзогенных токсинов, которые могут быть триггерными факторами в развитии атрезии желчных путей у животных, в Австралии был выявлен растительный изофлавоноид билиатрезон, содержащийся в растениях, употребляемых скотом в условиях засухи [16]. У личинок рыб *Danio rerio* (Zebrafish) — классического модельного объекта биологических исследований — билиатрезон вызывает разрушение внепеченочных желчных протоков, но не внутрипеченочных [17]. Несмотря на то что человек не подвергается воздействию билиатрезона, распознавание ключевых механизмов повреждения желчных протоков может привести к раскрытию токсинов, имеющих отношение к человеку.

Генетические факторы и БА

В современной литературе появляется все больше данных о том, что пациенты с БА имеют генетическую предрасположенность к развитию и течению заболевания. Наследование БА не подчиняется законам Менделя. По этой причине заболевание не наследуется генетически, хотя несколько таких случаев и было описано [18]. Высокая заболеваемость БА в ряде регионов Азии наводит на мысль о большем распространении в этих популяциях генетических вариантов, ассоциированных с БА, однако не стоит исключать и особенности внешней среды (питание, вирусную нагрузку и др.) и отличия в диагностических критериях, используемых азиатскими специалистами [19].

Близнецы с БА

Далее мы рассмотрим гены, которые могут быть вовлечены в развитие атрезии желчных путей. Стоит остановиться на интригующих результатах, представленных в метаанализе, опубликованном в 2020 г.: авторы просуммировали общемировые данные по известным клиническим случаям рождения близнецов с БА и обнаружили, что из 35 известных пар (19 монозиготных, 15 дизиготных, одной неизвестной), конкордантной по БА была только одна пара (дизиготная), а остальные оказались дискордантными, т. е. БА была диагностирована только у одного из близнецов (97,1%) [20]. В ретроспективном наблюдении китайских исследователей тоже сообщается о 19 парах близнецов с БА, которые абсолютно все были дискордантными по БА (8 монозиготных и 11 дизиготных) [21].

Дискордантность близнецов по БА наводит на мысль, что в развитии заболевания наследственные факторы не являются доминирующими, ведь, как правило, монозиготные близнецы имеют одинаковый генотип. При этом поражение инфекционным или токсическим агентом скорее должно было бы затрагивать обоих близнецов в утробе матери и приводить к развитию заболевания. Среди известных случаев токсических или инфекционных эмбриопатий конкордантность для близнецов (особенно монозиготных) составляет около 80% [22]. Известно, что помимо изменений непосредственно в нуклеотидной последовательности гена на фенотип могут оказывать влияние их эпигенетические модификации, имеющие неклассический характер наследования. Так, у монозиготных дискордантных близнецов с БА были фенотипические различия, что повышает вероятность вклада эпигенетических факторов в патогенез БА [20].

Не стоит также исключать вероятность возникновения постзиготических соматических патогенных вариантов у одного из близнецов в генах, регуляторных областях и т. п., предположительно запускающих облитерирующую холангиопатию. Гипотеза о развитии БА вследствие соматической мутации (более корректно употреблять термин «патогенный вариант») была выдвинута в 2016 г., и для ее проверки авторы предлагают проанализировать ДНК тканей печени, билиарного тракта больных и геномы их родителей [22].

Гены-кандидаты БА

Генетические подходы к пониманию БА включают анализ генов-кандидатов, исследование числа копий генов (CNV, copy number variation), полногеномный поиск ассоциаций (GWAS, genome-wide association studies),

Таблица. Гены-кандидаты, ассоциированные с БА по результатам GWAS

Локус	Этническая группа	Вариант	Ген-кандидат	GWAS
2q37.3	Европеоидная	Гетерозиготная делеция	<i>GPC1/AGXT</i>	23/24
14q21.3	Европеоидная	Некодирующий ОНП	<i>ARF6</i>	25
10q24.2	Ханьская/тайская	Некодирующий ОНП	<i>ADD3/XPNPEP1</i>	26/27/28
2p.16.1	Европеоидная	Некодирующий ОНП	<i>EFEMP1</i>	29

Примечание: ОНП — однонуклеотидный полиморфизм.

секвенирование экзома (WES, whole exome sequencing). При GWAS оценивают связь между заболеванием и распространенными генетическими вариантами в разных популяциях исследуемой группы пациентов и в контрольной здоровой. В таблице представлены некоторые ассоциированные с БА гены-кандидаты, выявленные в различных GWAS.

Гены *GPC1*, *AGXT* в развитии БА

В одном из GWAS, у двух из 35 неродственных детей с подтвержденной БА (против контрольной группы 2026 здоровых человек) была обнаружена гетерозиготная делеция на участке 2q37.3 хромосомы [23]. Перекрывающийся у обоих пациентов делетированный регион (1,76 млн п.о.) состоял из 30 генов, среди которых авторы выделили ген-кандидат *AGXT*, экспрессирующийся в печени. Этот ген кодирует аланинглиоксилатаминотрансферазу (*AGXT*) — фермент пероксисом гепатоцитов, играющий роль в метаболизме токсических веществ и расщеплении жиров. Можно предположить, что снижение активности *AGXT*, участвующей в детоксикации, имеет важное значение в контексте гипотезы о том, что опосредованное токсином повреждение билиарного тракта вовлечено в патогенез БА. Авторы подробно описывают двух пациентов с делецией 2q37.3. В одном случае женщина во время беременности работала в клининговой компании и часто контактировала с потенциально токсичными химическими средствами. Вторая перенесла ветряную оспу на 15-й неделе беременности, и ей проводили лечение ацикловиром, который проникает через плацентарный барьер и метаболизируется в клетках печени. Однако отец одного из пациентов тоже являлся носителем делеции 2q37.3, но не имел заболеваний печени. Следовательно, наличие гетерозиготной делеции 2q37.3 можно рассматривать в качестве фактора, предрасполагающего к развитию БА, возможно в результате биотрансформации ксенобиотиков.

В другом исследовании те же авторы увеличили выборку до 61 пациента с БА против 5088 здоровых человек группы контроля [24]. Делеции того же участка 2q37.3 различной протяженности были найдены у шести пациентов (9,84%) и четырех здоровых человек (0,08%), но в этот раз в ассоциированном регионе с делецией находился только один ген *GPC1*, кодирующий глипикан, снижающий активность Hedgehog-сигналинга и участвующий в реакциях воспаления. У рыбок *Danio rerio* отсутствие экспрессии гена *gpc1* сверхактивировало Hedgehog-сигналинг, что приводило к нарушению формирования билиарного тракта, уменьшению размеров желчного пузыря и плохой экскреции желчи из печени. В образцах пациентов с БА наблюдали снижение *GPC1* в апикальной поверхности холангиоцитов. Авторы заключают, что ген *GPC1*, по-видимому, является геном восприимчивости к БА.

В исследовании «случай-контроль» авторы из Китая доложили о предположительной ассоциации

со снижением риска БА на 50% у пациентов, имеющих следующие гаплотипы по гену *GPC1*: $C_{rs2292832} - C_{rs3828336} T_{rs3828336}$ или $T_{rs2292832} - T_{rs3828336}$ [30].

Гены *ADD3* и *XPNPEP1* в развитии БА

В самом первом GWAS в китайской популяции было проанализировано 500 000 олигонуклеотидных повторов (ОНП) у 200 пациентов с БА и контрольной группы, состоящей из 481 здорового человека [26]. Наиболее значимая ассоциация была выявлена для rs17095355, расположенного в локусе 10q24.2 между генами X-пролиламинопептидазы P (*XPNPEP1*) и аддукцина 3 (*ADD3*). Авторы, однако, не смогли установить, как этот межгенный вариант может влиять на чувствительность к БА, но предположили, что затронута регуляция соседних генов.

ADD3 кодирует белок аддукцин 3, который относится к семейству мембранных скелетных белков, участвующих в актин-спектриновых взаимодействиях в эритроцитах и межклеточных контактах эпителиальных тканей, включая органы желудочно-кишечного тракта, печень и билиарный тракт [31, 32]. Экспрессия *ADD3* наиболее выражена в эпителиальных клетках печени и желчных путей у плода по сравнению со взрослым человеком [32]. Сокращения канальцевых мембран желчных протоков, способствующие оттоку желчи, находятся под контролем актин-миозиновых взаимодействий. Важно заметить, что нарушение этих взаимодействий в эксперименте с использованием лекарственных препаратов приводило к тяжелому холестазу [33]. Повышенное отложение актина и миозина вокруг желчных канальцев наблюдали и у пациентов с БА, у которых после операции был нарушен отток желчи [34]. Кроме того, интенсивность экспрессии α -гладкомышечного актина коррелирует со степенью фиброза у пациентов с БА [35].

Экспрессия *XPNPEP1* происходит в эпителиальных клетках гепатобилиарной системы [36] и кодирует растворимую X-пролиламинопептидазу P или растворимую аминопептидазу P (*APP1*). Фермент *APP1* участвует в расщеплении брадикинина (BK) и субстанции P (SP) [37]. Брадикинин принимает участие в вазодилатации и проницаемости капилляров, его экспрессию напрямую регулирует нуклеарный рецептор желчной кислоты FXR (фарнезоид-X-рецептор), играющий роль в регуляции метаболизма и секреции желчных кислот, а также процессов воспаления [38–39]. В регуляции секреции желчи, динамики желчевыводящих путей и иннервации печени участвует также медиатор воспаления SP. Роль гепатобилиарных переносчиков (в частности FXR) была изучена на мышинных моделях [40].

Это исследование вызвало повышенный интерес к локусу 10q24.2. Было выполнено несколько исследований по его изучению в разных популяциях [41–46]. Интересно, что упомянутый полиморфизм rs17095355 был статистически достоверно ассоциирован с БА и в тайской когорте [42].

Однако в работе, проведенной на группе североамериканских пациентов, ассоциации rs17095355 с БА не было выявлено, но отмечена связь БА с другим ОНП (rs7099604), локализованным в первом интроне *ADD3* [41]. При помощи количественной ПЦР были обнаружены различия в дифференциальной экспрессии гена *ADD3*, но не *XPNPEP1*, в тканях печени у больных и здоровых, при этом никаких особенностей в нуклеотидной последовательности гена *ADD3* между группами выявлено не было. Поэтому не исключено, что у больных могут быть различия в регуляторных некодирующих участках ДНК или эпигенетические изменения.

В 2020 г. была повторно продемонстрирована ассоциация с БА трех ОНП в гене *ADD3* (rs17095355, rs10509906 и rs2501577), двух ОНП в гене *GPC1* (rs6750380 и rs6707262) в группе пациентов из Китая ($n = 340$) [59].

В 2019 г. создана первая модель БА с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) [60]. Полученные из образцов крови пациентов с БА иПСК *in vitro* вновь дифференцировались в патологические холангиоциты с признаками фиброза. Используя технологию CRISPR/Cas9, авторы внедрили ОНП в генах *GPC1* и *ADD3*, ассоциированные с БА, в здоровую человеческую линию иПСК и индуцировали билиарную дифференцировку. Эти клетки воспроизвели патологическое развитие холангиоцитов как иПСК пациентов с БА. Модель БА на иПСК имеет большие перспективы для дальнейшего изучения патогенеза БА.

Ген *ARF6* в развитии БА

В 2015 г. была выявлена ассоциация риска развития БА и ОНП rs3126184 и rs10140366 в гене *ARF* (аденозиндифосфатрибозилирующий фактор), расположенном в локусе 14q21.3 [25]. Минорные аллели этих полиморфизмов связаны с пониженной экспрессией *ARF6*.

Гены *ARF6*, *GPC1* и *ADD3* имеют схожие функции в формировании и развитии билиарного тракта. *GPC1* и *ARF6* задействованы в сигналинге фактора роста фибробластов (FGF) и эпидермального фактора роста (EGF), важных в органогенезе. Так же как и ген *ADD3*, *ARF6* участвует в ремоделировании актинового цитоскелета, влияет на подвижность клеток, межклеточные контакты. *ARF6* активируется при связывании с рецептором EGF (*EGFR*) с его активатором GEP100, который в свою очередь последовательно запускает остальные реакции. Дальнейшая активация *EGFR*-GEP100-*ARF6* приводит к активации сигнального каскада ERK/MAPK и CREB, что в итоге влияет на нормальное клеточное развитие и пролиферацию [49–52].

В настоящее время нет единой точки зрения, являются ли изменения во внутрипеченочных желчных протоках вторичными или формируются независимо. Так, четырем детям с ранним постнатальным диагнозом БА в первые дни после рождения была проведена серия биопсий, на которой выявлена недостаточность внутрипеченочных желчных протоков без признаков фиброза и цирроза печени, всегда обнаруживаемых при выполнении портоэнтеростомии по Касаи или трансплантации печени [53]. Еще в 1974 г. Landing выдвинул гипотезу о том, что при обструктивных холангиопатиях в патологический процесс вовлечено все билиарное дерево: будут в большей степени вовлечены внутри- или внепеченочные протоки, зависит от времени и характера повреждающего воздействия [54].

При нокадауне *arf6* у личинок рыбок *Danio rerio* были отмечены уменьшение размеров печени и числа билиарных эпителиальных клеток, нарушение секреции желчи и развития как вне-, так и внутрипеченочных желчных протоков. Схожие эффекты наблюдали и при введении ингибитора *EGFR*. Авторы констатируют, что сигнальный путь *EGFR*-*Arf6* может регулировать морфогенез внутрипеченочных желчных протоков [25].

Так, в двух из 29 биоптатов печени пациентов с БА было выявлено слабое иммуноокрашивание на *ARF6* и отмечено снижение количества внутрипеченочных желчных протоков с признаками фиброза. На основании этих данных авторы предположили, что снижение экспрессии *ARF6* способствует нарушению формирования не только внепеченочных желчных протоков, но и внутрипеченочных [25].

Ген *EFEMP1* в развитии БА

Был установлен новый локус восприимчивости к БА — участок 2p.16.1 как среди детей с изолированной формой БА, так и среди тех, у кого БА сочеталась с другими аномалиями [55]. В этом локусе в пятом интроне гена *EFEMP1* обнаружили три БА-ассоциированных ОНП: rs10865291, rs6761893 и rs727878. Количество транскриптов *EFEMP1* было выше в тканях печени (преимущественно в холангиоцитах и портальных фибробластах), не только при БА, но и при других холестатических заболеваниях по сравнению с группой контроля.

Ген *EFEMP1* кодирует фибулин-3, принимающий участие в ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса, в регенерации тканей и органогенезе [56, 57]. Кроме того, *EFEMP1* активирует сигнальный путь Notch *in vitro*, хотя и с меньшей эффективностью, чем *JAG1* [58]. Известно, что фибулины тесно взаимодействуют с ламининами и другими экстрацеллюлярными протеинами. Учитывая тесную связь и близость развивающихся желчных протоков с экстрацеллюлярным матриксом портальной мезенхимальной ткани, можно предположить, что белок *EFEMP1* участвует в развитии билиарного тракта.

Однако в 2020 г. в исследовании группы пациентов с БА из Китая не было обнаружено ассоциации с генами *EFEMP1* и *ARF6* [59].

Гены *STIP1* и *REV1* в развитии БА

В 2020 г. при проведении трио-анализов экзема в 30 семьях с БА у детей были идентифицированы в 66 генах 66 вариантов *de novo*, среди которых авторы выделили потенциально патогенные в генах *STIP1* и *REV1* [61]. Белки этих генов взаимодействуют с белком теплового шока HSP90 и участвуют в стресс-ответах. Другие авторы провели эксперименты по введению мутаций в гены *stip1* и *rev1* с помощью CRISPR/Cas9 у рыбок *Danio rerio* и подвергли их воздействию билиатрезона: мутантные рыбки оказались чувствительны к низким дозам, в отличие от рыбок дикого типа [62]. Нокадаун этих генов в клетках холангиоцитов *in vitro* и воздействие на них билиатрезона приводили к нарушениям цитоскелета. Данные результаты подкрепляют гипотезу о вкладе окружающей среды в развитие БА у генетически восприимчивых людей.

Гены ресничек холангиоцитов в развитии БА

В 2020 г. были проведены трио-WES-исследования в 89 семьях с БА у детей [63]. Авторы обнаружили у 31,5%

пациентов редкие патогенные *de novo* варианты в генах ресничек холангиоцитов, среди которых выделили три гена-кандидата — *KIF3B*, *PCNT* и *TTC17*. Число белков *KIF3B* и *TTC17* в тканях печени пациентов с мутациями в соответствующих генах было снижено. Нокаут *kif3b*, *pcnt* и *ttc17* с помощью CRISPR/Cas9-системы редактирования у личинок *Danio rerio* привел к нарушению у них оттока желчи. Авторы предполагают, что дефектные реснички могут гиперактивировать Hedgehog-сигналинг, либо желчь повреждает аномальные холангиоциты, что также повышает Hh-сигналинг и ведет к воспалению и фиброгенезу.

Генетические факторы, влияющие на прогноз БА

Индивидуальные генетические особенности каждого больного могут значительно влиять на клиническую тяжесть заболевания, и, несмотря на фенотипическую гетерогенность БА, довольно мало исследований посвящено изучению генетических факторов, которые оказывали бы влияние на исход хирургического лечения — портоэнтеростомии Касаи. По данным некоторых авторов, на исход операции могут влиять такие гены, как *A1AT*, *JAG1*, *CFTR* [64–68].

Дефицит α 1-антитрипсина вызывает моногенное аутосомно-рецессивное заболевание (генотип ZZ по гену *A1AT*), приводящее к патологии печени у детей. Показано, что патологические аллели Z, S и др. (в гетерозиготном состоянии) встречаются чаще у детей с хроническими заболеваниями печени ($n = 241$), в том числе и с БА ($n = 67$), чем в общей популяции [69]. При этом с такими генотипами больным БА детям потребовалась трансплантация печени раньше, чем детям с БА с нормальным генотипом MM.

В Таиланде был проведен WES-анализ ДНК, выделенной из печени при биопсии у 20 пациентов с БА после проведения портоэнтеростомии [70]. Только у семи пациентов после операции отмечалось купирование желтухи, у троих было частичное улучшение и у 10 пациентов операция оказалась неэффективной. У пациентов с БА были выявлены 13 редких вариантов в девяти генах, ответственных за известные заболевания, в том числе холестатическое (но клинических признаков этих болезней диагностировано не было): *JAG1* (синдром Алажилль, АГС); *MYO5B* (врожденная атрофия микроворсинок/ прогрессирующий внутрисемейный холестаз тип 6); *ABCB11* (семейный внутрисемейный холестаз тип 2); *ABCC2* (синдром Дубина–Джонса); *ERCC4* (анемия Фанкони); *KCNH1* (синдром Циммермана–Лабанда); *MLL2* (синдром Кабуки); *RFX6* (синдром Митчелла–Рея) и *UG1A1* (синдром Криглера–Найяра тип I). Авторы предполагают, что БА и другие заболевания печени могут иметь общий этиопатогенез. Наличие данных ассоциаций определяет тяжесть состояния и неблагоприятный прогноз жизни пациентов с БА с нативной печенью.

Выявлена миссенс-мутация в гене *JAG1* у девяти из 102 пациентов с БА, при этом характерных фенотипических проявлений синдрома Алажилль не было [71]. Согласно мнению авторов, у детей с таким вариантом прогноз заболевания и исход портоэнтеростомии был хуже. Однако проведенные недавно исследования показали, что синдром Алажилля (AGS) может проявляться клиническими признаками БА: у пяти детей с диагностированной в младенчестве БА и патогенными вариантами в гене *JAG1* к трем годам развился типичный симптомокомплекс AGS [72].

Влияние гепатоцеллюлярных транспортеров и ядерных рецепторов желчных кислот на исход портоэнтеростомии

За последнее десятилетие накоплено большое количество данных, которые описывают компенсаторные возможности печени при холестазах благодаря регуляции активности гепатоцеллюлярных транспортеров (BSEP, MDR1, MDR3, OSTb) и ядерных рецепторов желчных кислот (ЖК) (FXR, PXR, CAR) [73–75].

Печень хорошо адаптируется к накоплению желчных кислот. Установлено, что у здоровых детей генетически обусловленный дефицит этих рецепторов не имеет клинического значения за счет существующих компенсаторных механизмов. Однако при наличии холестатических заболеваний, включая БА, данные изменения могут стать дополнительными факторами, влияющими на течение патологического процесса. При нормальном функционировании гепатоцеллюлярных транспортеров гепатоциты защищены от токсического действия ЖК благодаря их выведению BSEP-транспортером, а билиарный эпителий защищен основным транспортером FIC1 и MDR3 [76].

С учетом этих данных на сегодняшний день проведены исследования по оценке уровня экспрессии печеночных нуклеарных факторов и гепатоцеллюлярных транспортеров как предикторов исхода КРЕ у детей с БА.

Обнаружено, что в группе пациентов с неблагоприятным исходом КРЕ в тканях печени экспрессия генов рецепторов PXR и/или CAR значительно ниже, чем у пациентов с благоприятным исходом. Из шести пациентов с пониженной экспрессией обоих генов у пяти потребовалась трансплантация печени в возрасте до года (7–11 месяцев) [75]. Ранее было также показано, что у крыс, нокаутных по Pxr, повреждение печени от накопления ЖК было значительно выше, чем у здоровых [77, 78]. Полагают, что низкий уровень CAR и PXR у пациентов может быть связан как с генетическими факторами, так и с воспалительными процессами. Установлено, что эти ядерные рецепторы ЖК принимают участие в регуляции гомеостаза желчи путем связывания с ЖК, транспортируются в ядро и снижают экспрессию генов ферментов, синтезирующих и реабсорбирующих ЖК, но при этом усиливают экспрессию генов, кодирующих транспортеры BSEP, MRP4 и OST α -OST β , выводящих ЖК из гепатоцита [79–90].

Был проведен WES-анализ для поиска генетических вариантов, встречающихся чаще среди пациентов с БА, которым потребовалась ранняя трансплантация печени вследствие неэффективности КРЕ по сравнению с детьми, у которых функционировала нативная печень [91]. Среди 98 детей, которым потребовалась ранняя трансплантация печени, несинонимичный вариант p.A934T в гене *ABCB4* обнаруживали чаще, чем в группе детей ($n = 97$) с нативной печенью после портоэнтеростомии. Понижение экспрессии *ABCB4*, кодирующего MDR3, приводит к уменьшению концентрации фосфолипидов в желчи, вследствие чего ЖК могут повреждать холангиоциты.

В 2020 г. при полнотранскриптомном секвенировании мРНК 25 образцов печени больных БА [92] анализ дифференциальной экспрессии выявил потенциальные детерминанты исхода КРЕ: матричную металлопротеиназу 7 (MMP7) и фосфоенолпируваткарбоксикиназу (PCK1). Фермент MMP7 ремоделирует внеклеточный матрикс во время фиброза печени; PCK1 принимает участие в

глюконеогенезе, про его роль при БА известно меньше. Экспрессия *MMP7* была значительно выше у пациентов, у которых не прошла желтуха после КРЕ, а также у пациентов с терминальной стадией заболевания печени. Напротив, уровень экспрессии *PCK1* был выше у пациентов с благоприятным исходом КРЕ, в то время как у пациентов с плохим прогнозом КРЕ наблюдалось его значительное снижение.

Так, паттерны экспрессии различных генов в тканях печени и желчных протоков могут быть потенциально использованы в качестве биомаркеров для прогнозирования исхода КРЕ, что позволило бы врачам разрабатывать новые стратегии лечения БА.

Эпигенетические факторы и БА

В основе патогенеза БА могут лежать и эпигенетические модификации (например, метилирование ДНК, модификации гистонов, экспрессия некодирующих РНК и др.). Метилирование ДНК было значительно снижено в клетках желчных протоков пациентов с БА по сравнению с пациентами с другими холестатическими заболеваниями печени [93]. Это могло приводить к активации $IFN\gamma$ -сигналинга и началу воспаления. Ранее были также отмечены различные эпигенетические модификации в периферических лейкоцитах (например, $CD4^+$ T, T_{reg}) у некоторых пациентов с БА [94–97].

Показано, что гипометилированный ген фактора роста тромбоцитов *PDGFA* избыточно экспрессируется в биоптатах печени больных, вероятно, участвуя в патогенезе БА [98]. Белки семейства PDGF индуцируют пролиферативные и фиброзные патологии во многих органах. Так, вариант rs9690350 (G>C) в *PDGFA* был связан

с повышенным риском БА в группе 506 пациентов с БА против 1473 здоровых [99].

Уровни экспрессии некоторых микроРНК в печени различались у больных БА и в группе здоровых людей. Например, *mir-29b* и *mir-142-5p* избыточно экспрессировались в печени при БА, при том что они нацелены на гены ключевых ферментов DNMT1 и DNMT3, вовлеченных в метилирование ДНК [100]. Другая микроРНК *mir-145-5p* нацелена на ген *ADD3*, ее экспрессия была пониженной в тканях печени некоторых больных БА [101].

Выводы

Несмотря на многолетние исследования, этиология БА остается малоизученной. Проведенные исследования в области генетики не выявили уникальных изменений, характерных для данного заболевания. Вероятно, что его развитие мультифакторное и включает в себя изменения в генетическом аппарате (наследственные или соматические мутации), а также эпигенетические механизмы, возникающие как вследствие генетических изменений, так и под воздействием факторов окружающей среды (токсинов, вирусов).

Хирургическое лечение БА (гепатопортоэнтеростомия по Касаи), предложенное еще в 1955 г., позволяет сохранить функциональное состояние печени и отсрочить проведение трансплантации. В настоящее время факторы, влияющие на эффективность данной операции и выживаемость пациентов с нативной печенью, плохо изучены. Генетические особенности каждого больного и уровень экспрессии различных генов в тканях печени и желчных протоков рассматриваются в качестве прогностических биомаркеров, однако требуются дальнейшие подтверждающие исследования.

Литература

- Davenport M, et al. Biliary atresia in England and Wales: results of centralization and new benchmark. *Journal of Pediatric Surgery*. 2011; 46 (9): 1689–94.
- Tiao MM, et al. Epidemiological features of biliary atresia in Taiwan, a national study 1996–2003. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2008; 23 (1): 62–66.
- Волынец Г. В. и др. Дифференциальная диагностика врожденных холестатических болезней у детей. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 8 (144): 67–74.
- Филиппова Е. А. и др. Эхографические изменения органов брюшной полости у детей с билиарной атрезией и синдромом Алажиля в течение первых 3 месяцев жизни. *Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum*. 2017; 4, 93.
- Разумовский А. Ю., Дегтярева А. В., Куликова Н. В., Рачков В. Е., Ратников С. А., Филиппова Е. А. и др. Отдаленные результаты лечения детей с билиарной атрезией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2019; 64 (1): 46–55.
- Козлов Ю. А. и др. Современный взгляд на происхождение билиарной атрезии. *Анналы хирургии*. 2017; 22 (2): 73–80.
- Ortiz-Perez A, et al. Innate Immunity and Pathogenesis of Biliary Atresia. *Frontiers in Immunology*. 2020; 11: 329.
- Lampela H, et al. Native liver histology after successful portoenterostomy in biliary atresia. *Journal of clinical gastroenterology*. 2014; 48 (8): 721–8.
- Soufi N, Bazerbachi F, Deneau M. Post-transplant disease recurrence in pediatric PSC. *Current gastroenterology reports*. 2018; 20 (9): 44.
- Vij M, Rela M. Biliary atresia: pathology, etiology and pathogenesis. *Future Science OA*. 2020; 00: FSO466. <https://www.future-science.com/doi/full/10.2144/foa-2019-0153>
- Averbukh LD, Wu GY. Evidence for viral induction of biliary atresia: a review. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2018; 6 (4): 410.
- Rauschenfels S, et al. Incidence of hepatotropic viruses in biliary atresia. *European journal of pediatrics*. 2009; 168 (4): 469–76.
- Zani A, et al. Cytomegalovirus-associated biliary atresia: an aetiological and prognostic subgroup. *Journal of pediatric surgery*. 2015; 50 (910): 1739–45.
- Sergi CM. Genetics of biliary atresia: a work in progress for a disease with an unavoidable sequela into liver cirrhosis following failure of hepatic portoenterostomy. *Liver Cirrhosis-Debates and Current Challenges*. IntechOpen, 2019. Доступно по ссылке: <https://www.intechopen.com/books/liver-cirrhosis-debates-and-current-challenges/genetics-of-biliary-atresia-a-work-in-progress-for-a-disease-with-an-unavoidable-sequela-into-liver>.
- Lakshminarayanan B, Davenport M. Biliary atresia: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2016; 73: 1–9.
- Lorent K, et al. Identification of a plant isoflavonoid that causes biliary atresia. *Science translational medicine*. 2015; 7 (286): 286ra67–286ra67.
- Zhao X, et al. Glutathione antioxidant pathway activity and reserve determine toxicity and specificity of the biliary toxin biliatresone in zebrafish. *Hepatology*. 2016; 64 (3): 894–907.
- Kobayashi K, et al. Mother-to-daughter occurrence of biliary atresia: a case report. *Journal of pediatric surgery*. 2008; 43 (8): 1566–8.
- Girard M, Panasyuk G. Genetics in biliary atresia. *Current opinion in gastroenterology*. 2019; 35 (2): 73–81.
- Xu X, Zhan J. Biliary atresia in twins: a systematic review and

- meta-analysis. *Pediatric Surgery International*, 2020. Доступно по ссылке: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00383-020-04690-4>.
21. Gou Q, et al. Biliary atresia in twins' population: a retrospective multicenter study in mainland China. *Pediatric Surgery International*. 2020; p. 1–8.
 22. Fabre A, Roman C, Roquelaure B. Somatic mutation, a cause of biliary atresia: A hypothesis. *Medical Hypotheses*. 2017; 102: 91–93.
 23. Leyva-Vega M, et al. Genomic alterations in biliary atresia suggest region of potential disease susceptibility in 2q37. 3. *American journal of medical genetics Part A*. 2010; 152 (4): 886–95.
 24. Cui S, et al. Evidence from human and zebrafish that GPC1 is a biliary atresia susceptibility gene. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): 1107–15.
 25. Ningappa M, et al. The role of ARF6 in biliary atresia. *PLoS one*. 2015; 10 (9): e0138381.
 26. Garcia-Barceló MM, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 10q24. 2. *Human molecular genetics*. 2010; 19 (14): 2917–25.
 27. Tsai EA, et al. Replication of a GWAS signal in a Caucasian population implicates ADD3 in susceptibility to biliary atresia. *Human genetics*. 2014; 133 (2): 235–43.
 28. Kaewkiattiyot S, et al. Association of X-prolyl aminopeptidase 1 rs17095355 polymorphism with biliary atresia in Thai children. *Hepatology Research*. 2011; 41 (12): 1249–52.
 29. Chen Y, et al. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 2p16. 1 within the gene EFEMP1. *PLoS genetics*. 2018; 14 (8): e1007532.
 30. Ke J, et al. Common genetic variants of GPC1 gene reduce risk of biliary atresia in a Chinese population. *Journal of pediatric surgery*. 2016; 51 (10): 1661–4.
 31. Citterio L, et al. Expression analysis of the human adducin gene family and evidence of ADD2 β 4 multiple splicing variants. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003; 309 (2): 359–67.
 32. Ku NO, et al. The cytoskeleton of digestive epithelia in health and disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1999; 277 (6): G1108–G1137.
 33. Oshio C, Phillips MJ. Contractility of bile canaliculi: implications for liver function. *Science*. 1981; 212 (4498): 1041–2.
 34. Segawa O, et al. Actin and myosin deposition around bile canaliculi: a predictor of clinical outcome in biliary atresia. *Journal of pediatric surgery*. 1993; 28 (6): 851–6.
 35. Shteyer E, et al. Outcome after portoenterostomy in biliary atresia: pivotal role of degree of liver fibrosis and intensity of stellate cell activation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2006; 42 (1): 93–99.
 36. Nagasaka T, et al. Immunohistochemical localization of placental leucine aminopeptidase/oxytocinase in normal human placental, fetal and adult tissues. *Reproduction, fertility and development*. 1997; 9 (8): 747–54.
 37. Hooper NM, et al. Protease-activated receptors: the role of cell-surface proteolysis in signalling. *Essays in Biochemistry*. 2002; 38: 169–83.
 38. Sharma JN. Hypertension and the bradykinin system. *Current hypertension reports*. 2009; 11 (3): 178–81.
 39. Zhao A, et al. Human kinogen gene is transactivated by the farnesoid X receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278 (31): 28765–70.
 40. Yang H, et al. Inflammation mediated down-regulation of hepatobiliary transporters contributes to intrahepatic cholestasis and liver damage in murine biliary atresia. *Pediatric research*. 2009; 66 (4): 380–5.
 41. Tsai EA, et al. Replication of a GWAS signal in a Caucasian population implicates ADD3 in susceptibility to biliary atresia. *Human genetics*. 2014; 133 (2): 235–43.
 42. Kaewkiattiyot S, et al. Association of X-prolyl aminopeptidase 1 rs17095355 polymorphism with biliary atresia in Thai children. *Hepatology Research*. 2011; 41 (12): 1249–52.
 43. Cheng G, et al. Common genetic variants regulating ADD3 gene expression alter biliary atresia risk. *Journal of hepatology*. 2013; 59 (6): 1285–91.
 44. Zeng S, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the ADD3 gene and susceptibility to biliary atresia. *PLoS one*. 2014; 9 (10): e107977.
 45. Wang Z, et al. The intragenic epistatic association of ADD3 with biliary atresia in Southern Han Chinese population. *Bioscience reports*. 2018; 38 (3). Доступно по ссылке: <https://portlandpress.com/bioscirep/article/38/3/BSR20171688/57837/The-intragenic-epistatic-association-of-ADD3-with>.
 46. Laochareonsuk W, Chiengkriwate P, Sangkhathat S. Single nucleotide polymorphisms within Adducin 3 and Adducin 3 antisense RNA1 genes are associated with biliary atresia in Thai infants. *Pediatric surgery international*. 2018; 34 (5): 515–20.
 47. Jing Li, et al. Association between rs17095355 polymorphism on 10q24 and susceptibility to biliary atresia: a meta-analysis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2017; 30 (15): 1882–6.
 48. Tang, Vivian, et al. Loss of a candidate biliary atresia susceptibility gene, add3a, causes biliary developmental defects in zebrafish. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2016; 63 (5): 524.
 49. Iguchi H, et al. cAMP response element-binding protein (CREB) is required for epidermal growth factor (EGF)-induced cell proliferation and serum response element activation in neural stem cells isolated from the forebrain subventricular zone of adult mice. *Endocrine journal*. 2011; 1106100583-1106100583.
 50. Sarró E, et al. Phosphoinositide 3-kinase inhibitors protect mouse kidney cells from cyclosporine-induced cell death. *Kidney international*. 2008; 73 (1): 77–85.
 51. Hu ZZ, et al. GEP100/Arf6 is required for epidermal growth factor-induced ERK/Rac1 signaling and cell migration in human hepatoma HepG2 cells. *PLoS one*. 2012; 7 (6): e38777.
 52. Sabe H, et al. The EGFR-GEP100-Arf6-AMAP1 signaling pathway specific to breast cancer invasion and metastasis. *Traffic*. 2009; 10 (8): 982–93.
 53. Azar G, et al. Atypical morphologic presentation of biliary atresia and value of serial liver biopsies. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2002; 34 (2): 212–5.
 54. Landing BH, Wells TR, Ramicone E. Time course of the intrahepatic lesion of extrahepatic biliary atresia: a morphometric study. *Pediatric pathology*. 1985; 4 (3–4): 309–19.
 55. Chen Y, et al. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 2p16. 1 within the gene EFEMP1. *PLoS genetics*. 2018; 14 (8): e1007532.
 56. De Vega S, Iwamoto T, Yamada Y. Fibulins: multiple roles in matrix structures and tissue functions. *Cellular and molecular life sciences*. 2009; 66 (11–12): 1890–902.
 57. Timpl R, et al. Fibulins: a versatile family of extracellular matrix proteins. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2003; 4 (6): 479–89.
 58. Hu B, et al. Fibulin-3 promotes glioma growth and resistance through a novel paracrine regulation of Notch signaling. *Cancer research*. 2012; 72 (15): 3873–85.
 59. Bai MR, et al. Association of common variation in ADD3 and GPC1 with biliary atresia susceptibility. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12 (8): 7163.
 60. Tian L, et al. Biliary atresia relevant human induced pluripotent stem cells recapitulate key disease features in a dish. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2019; 68 (1): 56.
 61. Rajagopalan R, et al. exome Sequencing in individuals with isolated Biliary Atresia. *Scientific reports*. 2020; 10 (1): 1–8.
 62. Zhao X, et al. Impaired redox and protein homeostasis as risk factors and therapeutic targets in toxin-induced biliary atresia. *Gastroenterology*. 2020. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508520347545>.
 63. Lam WY, et al. Whole exome sequencing reveals a wide spectrum of ciliary gene mutations in nonsyndromic biliary atresia. *medRxiv*. 2020. Доступно по ссылке: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.05.20091504v1.full.pdf>.
 64. Petersen C, Davenport M. Aetiology of biliary atresia: what is actually known? *Orphanet journal of rare diseases*. 2013; 8 (1): 128.
 65. Cui S, et al. Evidence from human and zebrafish that GPC1 is a biliary atresia susceptibility gene. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): 1107–15.
 66. Rock N, McLin V. Liver involvement in children with ciliopathies.

- Clinics and research in hepatology and gastroenterology. 2014; 38 (4): 407–14.
67. Miethke AG, Huppert SS. Fishing for biliary atresia susceptibility genes. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): 878.
 68. Zhao D, Long XD, Xia Q. Recent advances in etiology of biliary atresia. *Clinical pediatrics*. 2015; 54 (8): 723–31.
 69. Campbell KM, et al. High prevalence of α -1-antitrypsin heterozygosity in children with chronic liver disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2007; 44 (1): 99–103.
 70. Sangkhathat S, et al. Variants associated with infantile cholestatic syndromes detected in extrahepatic biliary atresia by whole exome studies: a 20-case series from Thailand. *Journal of pediatric genetics*. 2018; 7 (2): 67.
 71. Kohsaka T, et al. The significance of human jagged 1 mutations detected in severe cases of extrahepatic biliary atresia. *Hepatology*. 2002; 36 (4): 904–12.
 72. Dedič T, et al. Alagille syndrome mimicking biliary atresia in early infancy. *PLoS One*. 2015; 10 (11): e0143939.
 73. Linton KJ. Lipid flopping in the liver. *Biochemical Society Transactions*. 2015; 43 (5): 1003–10.
 74. Groen A, et al. Complementary functions of the flippase ATP8B1 and the floppase ABCB4 in maintaining canalicular membrane integrity. *Gastroenterology*. 2011; 141 (5): 1927–37.
 75. Chen HL, et al. Expression of hepatocyte transporters and nuclear receptors in children with early and late-stage biliary atresia. *Pediatric research*. 2008; 63 (6): 667–3.
 76. Chen HL, et al. Jaundice revisited: recent advances in the diagnosis and treatment of inherited cholestatic liver diseases. *Journal of biomedical science*. 2018; 25 (1): 75.
 77. Wagner M, et al. Role of farnesoid X receptor in determining hepatic ABC transporter expression and liver injury in bile duct-ligated mice. *Gastroenterology*. 2003; 125 (3): 825–38.
 78. Stedman CAM, et al. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor ameliorate cholestatic liver injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102 (6): 2063–8.
 79. Wagner M, et al. CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and elimination pathways in mice. *Hepatology*. 2005; 42 (2): 420–30.
 80. Makishima M. Nuclear receptors as targets for drug development: regulation of cholesterol and bile acid metabolism by nuclear receptors. *Journal of pharmacological sciences*. 2005; 97 (2): 177–83.
 81. Boyer JL. Nuclear receptor ligands: rational and effective therapy for chronic cholestatic liver disease? *Gastroenterology*. 2005; 129 (2): 735–40.
 82. Keppler D. The roles of MRP2, MRP3, OATP1B1, and OATP1B3 in conjugated hyperbilirubinemia. *Drug Metabolism and Disposition*. 2014; 42 (4): 561–5.
 83. Schroeder RJ, et al. Cholesterol and sphingolipid enhance the Triton X-100 insolubility of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins by promoting the formation of detergent-insoluble ordered membrane domains. *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273 (2): 1150–7.
 84. Guyot C, Stieger B. Interaction of bile salts with rat canalicular membrane vesicles: evidence for bile salt resistant microdomains. *Journal of hepatology*. 2011; 55 (6): 1368–76.
 85. Linton KJ. Lipid flopping in the liver. *Biochemical Society Transactions*. 2015; 43 (5): 1003–10.
 86. Groen A, et al. Complementary functions of the flippase ATP8B1 and the floppase ABCB4 in maintaining canalicular membrane integrity. *Gastroenterology*. 2011; 141 (5): 1927–37.
 87. Wang H, et al. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. *Molecular cell*. 1999; 3 (5): 543–53.
 88. Parks DJ, et al. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science*. 1999; 284 (5418): 1365–8.
 89. Makishima M, et al. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science*. 1999; 284 (5418): 1362–5.
 90. Modica S, Gadaleta RM, Moschetta A. Deciphering the nuclear bile acid receptor FXR paradigm. *Nuclear receptor signaling*. 2010; 8 (1): nrs. 08005. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1621/nrs.08005>.
 91. Mezina A, et al. 845 Whole Exome Sequencing Identifies ABCB4 Gene Variants As Modifiers of Biliary Atresia Outcomes. *Gastroenterology*. 2014; 146 (5): S-928.
 92. Ramachandran P, et al. RNA-seq reveals outcome-specific gene expression of MMP7 and PCK1 in biliary atresia. *Molecular biology reports*. 2019; 46 (5): 5123–30.
 93. Matthews RP, et al. DNA hypomethylation causes bile duct defects in zebrafish and is a distinguishing feature of infantile biliary atresia. *Hepatology*. 2011; 53 (3): 905–14.
 94. Dong R, Zhao R, Zheng S. Changes in epigenetic regulation of CD4⁺ T lymphocytes in biliary atresia. *Pediatric research*. 2011; 70 (6): 555–9.
 95. Dong R, et al. Abnormal DNA methylation of ITGAL (CD11a) in CD4⁺ T cells from infants with biliary atresia. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012; 417 (3): 986–90.
 96. Udomsinprasert W, et al. Global methylation, oxidative stress, and relative telomere length in biliary atresia patients. *Scientific reports*. 2016; 6: 26969.
 97. Li K, et al. Foxp3 promoter methylation impairs suppressive function of regulatory T cells in biliary atresia. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2016; 311 (6): G989–G997.
 98. Cofer ZC, et al. Methylation microarray studies highlight PDGFA expression as a factor in biliary atresia. *PloS one*. 2016; 11 (3): e0151521.
 99. Liu F, et al. PDGFA gene rs9690350 polymorphism increases biliary atresia risk in Chinese children. *Bioscience reports*. 202; 40 (7). Available from: <https://portlandpress.com/bioscierep/article/40/7/BSR20200068/225782/PDGFA-gene-rs9690350-polymorphism-increases>.
 100. Yang Y, et al. MicroRNA-29b/142-5p contribute to the pathogenesis of biliary atresia by regulating the IFN- γ gene. *Cell death & disease*. 2018; 9 (5): 1–9.
 101. Ye Y, et al. Downregulation of microRNA-145 may contribute to liver fibrosis in biliary atresia by targeting ADD3. *PloS one*. 2017; 12 (9): e0180896.

References

1. Davenport M, et al. Biliary atresia in England and Wales: results of centralization and new benchmark. *Journal of Pediatric Surgery*. 2011; 46 (9): 1689–94.
2. Tiao MM, et al. Epidemiological features of biliary atresia in Taiwan, a national study 1996–2003. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2008; 23 (1): 62–66.
3. Volynec GV, i dr. Diferencial'naja diagnostika vrozhdennyh holestatičeskikh boleznj u detej. *Jeksperimental'naja i kliničeskaja gastrojnterologija*. 2017; 8 (144): 67–74. Russian.
4. Filippova EA, i dr. Jehograficheskie izmenenija organov brjushnoj polosti u detej s biliarnoj atreziej i sindromom Alazhilja v tečenie pervyh 3 mesjacev zhizni. *Pediatrija*. Prilozhenie k žurnalu *Consilium Medicum*. 2017; 4, 93. Russian.
5. Razumovskij AYu, Degtjareva AV, Kulikova NV, Rachkov VE, Ratnikov S A, Filippova EA, i dr. Otdalennye rezul'taty lečenija detej s biliarnoj atreziej. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. 2019; 64 (1): 46–55. Russian.
6. Kozlov YuA, i dr. Sovremennij vzgljad na proishozhdenie biliarnoj atrezii. *Annaly hirurgii*. 2017; 22 (2): 73–80. Russian.
7. Ortiz-Perez A, et al. Innate Immunity and Pathogenesis of Biliary Atresia. *Frontiers in Immunology*. 2020; 11: 329.
8. Lampela H, et al. Native liver histology after successful portoenterostomy in biliary atresia. *Journal of clinical gastroenterology*. 2014; 48 (8): 721–8.
9. Soufi N, Bazerbachi F, Deneau M. Post-transplant disease recurrence in pediatric PSC. *Current gastroenterology reports*. 2018; 20 (9): 44.
10. Vij M, Rela M. Biliary atresia: pathology, etiology and pathogenesis.

- Future Science OA. 2020; 00: FSO466. <https://www.future-science.com/doi/full/10.2144/fsoa-2019-0153>
11. Averbukh LD, Wu GY. Evidence for viral induction of biliary atresia: a review. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2018; 6 (49): 410.
 12. Rauschenfels S, et al. Incidence of hepatotropic viruses in biliary atresia. *European journal of pediatrics*. 2009; 168 (4): 469–76.
 13. Zani A, et al. Cytomegalovirus-associated biliary atresia: an aetiological and prognostic subgroup. *Journal of pediatric surgery*. 2015; 50 (910): 1739–45.
 14. Sergi CM. Genetics of biliary atresia: a work in progress for a disease with an unavoidable sequela into liver cirrhosis following failure of hepatic portoenterostomy. *Liver Cirrhosis-Debates and Current Challenges*. IntechOpen, 2019. Dostupno po slylke: <https://www.intechopen.com/books/liver-cirrhosis-debates-and-current-challenges/genetics-of-biliary-atresia-a-work-in-progress-for-a-disease-with-an-unavoidable-sequela-into-liver->
 15. Lakshminarayanan B, Davenport M. Biliary atresia: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2016; 73: 1–9.
 16. Lorent K, et al. Identification of a plant isoflavonoid that causes biliary atresia. *Science translational medicine*. 2015; 7 (286): 286ra67-286ra67.
 17. Zhao X, et al. Glutathione antioxidant pathway activity and reserve determine toxicity and specificity of the biliary toxin biliatresone in zebrafish. *Hepatology*. 2016; 64 (3): 894–907.
 18. Kobayashi K, et al. Mother-to-daughter occurrence of biliary atresia: a case report. *Journal of pediatric surgery*. 2008; 43 (8): 1566–8.
 19. Girard M, Panasyuk G. Genetics in biliary atresia. *Current opinion in gastroenterology*. 2019; 35 (2): 73–81.
 20. Xu X, Zhan J. Biliary atresia in twins: a systematic review and meta-analysis. *Pediatric Surgery International*, 2020. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00383-020-04690-4>.
 21. Gou Q, et al. Biliary atresia in twins' population: a retrospective multicenter study in mainland China. *Pediatric Surgery International*. 2020; p. 1–8.
 22. Fabre A, Roman C, Roquelaure B. Somatic mutation, a cause of biliary atresia: A hypothesis. *Medical Hypotheses*. 2017; 102: 91–93.
 23. Leyva-Vega M, et al. Genomic alterations in biliary atresia suggest region of potential disease susceptibility in 2q37. 3. *American journal of medical genetics Part A*. 2010; 152 (4): 886–95.
 24. Cui S, et al. Evidence from human and zebrafish that GPC1 is a biliary atresia susceptibility gene. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): 1107–15.
 25. Ningappa M, et al. The role of ARF6 in biliary atresia. *PLoS one*. 2015; 10 (9): e0138381.
 26. Garcia-Barceló MM, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 10q24. 2. *Human molecular genetics*. 2010; 19 (14): 2917–25.
 27. Tsai EA, et al. Replication of a GWAS signal in a Caucasian population implicates ADD3 in susceptibility to biliary atresia. *Human genetics*. 2014; 133 (2): 235–43.
 28. Kaewkiattiyot S, et al. Association of X-prolyl aminopeptidase 1 rs17095355 polymorphism with biliary atresia in Thai children. *Hepatology Research*. 2011; 41 (12): 1249–52.
 29. Chen Y, et al. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 2p16. 1 within the gene EFEMP1. *PLoS genetics*. 2018; 14 (8): e1007532.
 30. Ke J, et al. Common genetic variants of GPC1 gene reduce risk of biliary atresia in a Chinese population. *Journal of pediatric surgery*. 2016; 51 (10): 1661–4.
 31. Citterio L, et al. Expression analysis of the human adducin gene family and evidence of ADD2 β 4 multiple splicing variants. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003; 309 (2): 359–67.
 32. Ku NO, et al. The cytoskeleton of digestive epithelia in health and disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1999; 277 (6): G1108–G1137.
 33. Oshio C, Phillips MJ. Contractility of bile canaliculi: implications for liver function. *Science*. 1981; 212 (4498): 1041–2.
 34. Segawa O, et al. Actin and myosin deposition around bile canaliculi: a predictor of clinical outcome in biliary atresia. *Journal of pediatric surgery*. 1993; 28 (6): 851–6.
 35. Shteyer E, et al. Outcome after portoenterostomy in biliary atresia: pivotal role of degree of liver fibrosis and intensity of stellate cell activation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2006; 42 (1): 93–99.
 36. Nagasaka T, et al. Immunohistochemical localization of placental leucine aminopeptidase/oxytocinase in normal human placental, fetal and adult tissues. *Reproduction, fertility and development*. 1997; 9 (8): 747–54.
 37. Hooper NM, et al. Protease-activated receptors: the role of cell-surface proteolysis in signalling. *Essays in Biochemistry*. 2002; 38: 169–83.
 38. Sharma JN. Hypertension and the bradykinin system. *Current hypertension reports*. 2009; 11 (3): 178–81.
 39. Zhao A, et al. Human kiningen gene is transactivated by the farnesoid X receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278 (31): 28765–70.
 40. Yang H, et al. Inflammation mediated down-regulation of hepatobiliary transporters contributes to intrahepatic cholestasis and liver damage in murine biliary atresia. *Pediatric research*. 2009; 66 (4): 380–5.
 41. Tsai EA, et al. Replication of a GWAS signal in a Caucasian population implicates ADD3 in susceptibility to biliary atresia. *Human genetics*. 2014; 133 (2): 235–43.
 42. Kaewkiattiyot S, et al. Association of X-prolyl aminopeptidase 1 rs17095355 polymorphism with biliary atresia in Thai children. *Hepatology Research*. 2011; 41 (12): 1249–52.
 43. Cheng G, et al. Common genetic variants regulating ADD3 gene expression alter biliary atresia risk. *Journal of hepatology*. 2013; 59 (6): 1285–91.
 44. Zeng S, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the ADD3 gene and susceptibility to biliary atresia. *PLoS one*. 2014; 9 (10): e107977.
 45. Wang Z, et al. The intragenic epistatic association of ADD3 with biliary atresia in Southern Han Chinese population. *Bioscience reports*. 2018; 38 (3). Dostupno po slylke: <https://portlandpress.com/biosciarep/article/38/3/BSR20171688/57837/The-intragenic-epistatic-association-of-ADD3-with>.
 46. Laochareonsuk W, Chiengkriwate P, Sangkhatthath S. Single nucleotide polymorphisms within Adducin 3 and Adducin 3 antisense RNA1 genes are associated with biliary atresia in Thai infants. *Pediatric surgery international*. 2018; 34 (5): 515–20.
 47. Jing Li, et al. Association between rs17095355 polymorphism on 10q24 and susceptibility to biliary atresia: a meta-analysis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2017; 30 (15): 1882–6.
 48. Tang, Vivian, et al. Loss of a candidate biliary atresia susceptibility gene, add3a, causes biliary developmental defects in zebrafish. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2016; 63 (5): 524.
 49. Iguchi H, et al. cAMP response element-binding protein (CREB) is required for epidermal growth factor (EGF)-induced cell proliferation and serum response element activation in neural stem cells isolated from the forebrain subventricular zone of adult mice. *Endocrine journal*. 2011; 1106100583-1106100583.
 50. Sarró E, et al. Phosphoinositide 3-kinase inhibitors protect mouse kidney cells from cyclosporine-induced cell death. *Kidney international*. 2008; 73 (1): 77–85.
 51. Hu ZZ, et al. GEP100/Arf6 is required for epidermal growth factor-induced ERK/Rac1 signaling and cell migration in human hepatoma HepG2 cells. *PLoS one*. 2012; 7 (6): e38777.
 52. Sabe H, et al. The EGFR-GEP100-Arf6-AMAP1 signaling pathway specific to breast cancer invasion and metastasis. *Traffic*. 2009; 10 (8): 982–93.
 53. Azar G, et al. Atypical morphologic presentation of biliary atresia and value of serial liver biopsies. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2002; 34 (2): 212–5.
 54. Landing BH, Wells TR, Ramicone E. Time course of the intrahepatic lesion of extrahepatic biliary atresia: a morphometric study. *Pediatric pathology*. 1985; 4 (3–4): 309–19.
 55. Chen Y, et al. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 2p16. 1 within the gene

- EFEMP1. *PLoS genetics*. 2018; 14 (8): e1007532.
56. De Vega S, Iwamoto T, Yamada Y. Fibulins: multiple roles in matrix structures and tissue functions. *Cellular and molecular life sciences*. 2009; 66 (11–12): 1890–902.
 57. Timpl R, et al. Fibulins: a versatile family of extracellular matrix proteins. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2003; 4 (6): 479–89.
 58. Hu B, et al. Fibulin-3 promotes glioma growth and resistance through a novel paracrine regulation of Notch signaling. *Cancer research*. 2012; 72 (15): 3873–85.
 59. Bai MR, et al. Association of common variation in ADD3 and GPC1 with biliary atresia susceptibility. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12 (8): 7163.
 60. Tian L, et al. Biliary atresia relevant human induced pluripotent stem cells recapitulate key disease features in a dish. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2019; 68 (1): 56.
 61. Rajagopalan R, et al. exome Sequencing in individuals with isolated Biliary Atresia. *Scientific reports*. 2020; 10 (1): 1–8.
 62. Zhao X, et al. Impaired redox and protein homeostasis as risk factors and therapeutic targets in toxin-induced biliary atresia. *Gastroenterology*. 2020. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508520347545>.
 63. Lam WY, et al. Whole exome sequencing reveals a wide spectrum of ciliary gene mutations in nonsyndromic biliary atresia. *medRxiv*. 2020. Dostupno po slylke: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.05.20091504v1.full.pdf>.
 64. Petersen C, Davenport M. Aetiology of biliary atresia: what is actually known? *Orphanet journal of rare diseases*. 2013; 8 (1): 128.
 65. Cui S, et al. Evidence from human and zebrafish that GPC1 is a biliary atresia susceptibility gene. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): 1107–15.
 66. Rock N, McLin V. Liver involvement in children with ciliopathies. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2014; 38 (4): 407–14.
 67. Miethke AG, Huppert SS. Fishing for biliary atresia susceptibility genes. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): 878.
 68. Zhao D, Long XD, Xia Q. Recent advances in etiology of biliary atresia. *Clinical pediatrics*. 2015; 54 (8): 723–31.
 69. Campbell KM, et al. High prevalence of α -1-antitrypsin heterozygosity in children with chronic liver disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2007; 44 (1): 99–103.
 70. Sangkhathat S, et al. Variants associated with infantile cholestatic syndromes detected in extrahepatic biliary atresia by whole exome studies: a 20-case series from Thailand. *Journal of pediatric genetics*. 2018; 7 (2): 67.
 71. Kohsaka T, et al. The significance of human jagged 1 mutations detected in severe cases of extrahepatic biliary atresia. *Hepatology*. 2002; 36 (4): 904–12.
 72. Dedić T, et al. Alagille syndrome mimicking biliary atresia in early infancy. *PLoS One*. 2015; 10 (11): e0143939.
 73. Linton KJ. Lipid flopping in the liver. *Biochemical Society Transactions*. 2015; 43 (5): 1003–10.
 74. Groen A, et al. Complementary functions of the flippase ATP8B1 and the floppase ABCB4 in maintaining canalicular membrane integrity. *Gastroenterology*. 2011; 141 (5): 1927–37.
 75. Chen HL, et al. Expression of hepatocyte transporters and nuclear receptors in children with early and late-stage biliary atresia. *Pediatric research*. 2008; 63 (6): 667–3.
 76. Chen HL, et al. Jaundice revisited: recent advances in the diagnosis and treatment of inherited cholestatic liver diseases. *Journal of biomedical science*. 2018; 25 (1): 75.
 77. Wagner M, et al. Role of farnesoid X receptor in determining hepatic ABC transporter expression and liver injury in bile duct-ligated mice. *Gastroenterology*. 2003; 125 (3): 825–38.
 78. Stedman CAM, et al. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor ameliorate cholestatic liver injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102 (6): 2063–8.
 79. Wagner M, et al. CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and elimination pathways in mice. *Hepatology*. 2005; 42 (2): 420–30.
 80. Makishima M. Nuclear receptors as targets for drug development: regulation of cholesterol and bile acid metabolism by nuclear receptors. *Journal of pharmacological sciences*. 2005; 97 (2): 177–83.
 81. Boyer JL. Nuclear receptor ligands: rational and effective therapy for chronic cholestatic liver disease? *Gastroenterology*. 2005; 129 (2): 735–40.
 82. Keppler D. The roles of MRP2, MRP3, OATP1B1, and OATP1B3 in conjugated hyperbilirubinemia. *Drug Metabolism and Disposition*. 2014; 42 (4): 561–5.
 83. Schroeder RJ, et al. Cholesterol and sphingolipid enhance the Triton X-100 insolubility of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins by promoting the formation of detergent-insoluble ordered membrane domains. *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273 (2): 1150–7.
 84. Guyot C, Stieger B. Interaction of bile salts with rat canalicular membrane vesicles: evidence for bile salt resistant microdomains. *Journal of hepatology*. 2011; 55 (6): 1368–76.
 85. Linton KJ. Lipid flopping in the liver. *Biochemical Society Transactions*. 2015; 43 (5): 1003–10.
 86. Groen A, et al. Complementary functions of the flippase ATP8B1 and the floppase ABCB4 in maintaining canalicular membrane integrity. *Gastroenterology*. 2011; 141 (5): 1927–37.
 87. Wang H, et al. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. *Molecular cell*. 1999; 3 (5): 543–53.
 88. Parks DJ, et al. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science*. 1999; 284 (5418): 1365–8.
 89. Makishima M, et al. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science*. 1999; 284 (5418): 1362–5.
 90. Modica S, Gadaleta RM, Moschetta A. Deciphering the nuclear bile acid receptor FXR paradigm. *Nuclear receptor signaling*. 2010; 8 (1): nrs.08005. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1621/nrs.08005>.
 91. Mezina A, et al. 845 Whole Exome Sequencing Identifies ABCB4 Gene Variants As Modifiers of Biliary Atresia Outcomes. *Gastroenterology*. 2014; 146 (5): S-928.
 92. Ramachandran P, et al. RNA-seq reveals outcome-specific gene expression of MMP7 and PCK1 in biliary atresia. *Molecular biology reports*. 2019; 46 (5): 5123–30.
 93. Matthews RP, et al. DNA hypomethylation causes bile duct defects in zebrafish and is a distinguishing feature of infantile biliary atresia. *Hepatology*. 2011; 53 (3): 905–14.
 94. Dong R, Zhao R, Zheng S. Changes in epigenetic regulation of CD4⁺ T lymphocytes in biliary atresia. *Pediatric research*. 2011; 70 (6): 555–9.
 95. Dong R, et al. Abnormal DNA methylation of ITGAL (CD11a) in CD4⁺ T cells from infants with biliary atresia. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012; 417 (3): 986–90.
 96. Udomsinprasert W, et al. Global methylation, oxidative stress, and relative telomere length in biliary atresia patients. *Scientific reports*. 2016; 6: 26969.
 97. Li K, et al. Foxp3 promoter methylation impairs suppressive function of regulatory T cells in biliary atresia. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2016; 311 (6): G989–G997.
 98. Cofer ZC, et al. Methylation microarray studies highlight PDGFA expression as a factor in biliary atresia. *PLoS one*. 2016; 11 (3): e0151521.
 99. Liu F, et al. PDGFA gene rs9690350 polymorphism increases biliary atresia risk in Chinese children. *Bioscience reports*. 202; 40 (7). Available from: <https://portlandpress.com/bioscierep/article/40/7/BSR20200068/225782/PDGFA-gene-rs9690350-polymorphism-increases>.
 100. Yang Y, et al. MicroRNA-29b/142-5p contribute to the pathogenesis of biliary atresia by regulating the IFN- γ gene. *Cell death & disease*. 2018; 9 (5): 1–9.
 101. Ye Y, et al. Downregulation of microRNA-145 may contribute to liver fibrosis in biliary atresia by targeting ADD3. *PLoS one*. 2017; 12 (9): e0180896.