



MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2009-2010

Catarina Lacerda Couto de Oliveira

AUTOIMUNIDADE E VÍRUS DA HEPATITE C

- UMA ASSOCIAÇÃO COMPLEXA

Trabalho efectuado sob a Orientação de:

Doutor José Luís Brandão

Junho de 2010

Agradecimentos

Agradeço ao Doutor José Luís Brandão a orientação, a revisão crítica e o apoio prestado em todas as fases da realização desta tese de mestrado.

Resumo

O vírus da hepatite C (VHC), identificado pela primeira vez em 1989, representa uma das causadas mais comuns de doença hepática crónica no mundo afectando 0,5 a 2% da população do mundo. Este é constituído por uma pequena cadeia de RNA e pertence à família dos Flavivirus. Vários fenómenos autoimunes hepáticos e extra-hepáticos, como crioglobulinemia mista, distúrbios autoimunes da tiróide e linfomas de células B, têm sido frequentemente associados à infecção crónica por vírus da hepatite C sugerindo uma possível associação entre hepatite C e autoimunidade. Estas manifestações autoimunes têm por base vários mecanismos nomeadamente o mimetismo molecular entre o HCV e proteínas do hospedeiro, a diminuição do limiar de activação dos linfócitos B como passo facilitante para a produção de autoanticorpos e a infecção directa do linfócitos pelo HCV.

Um exemplo da associação entre o vírus da hepatite C e a autoimunidade é o síndrome de sobreposição da Hepatite C/ Hepatite autoimune. A distinção entre estas duas patologias é crucial para a implementação da estratégia terapêutica uma vez que o tratamento com corticoesteróides pode aumentar a replicação viral e o tratamento anti-viral pode deflagrar uma hepatite autoimune. Apesar desta conclusão continuam por esclarecer critérios absolutos que permitam a distinção das duas patologias perante este síndrome. Os anticorpos órgão-não-específico fazem parte dos critérios simplificados de diagnóstico hepatite autoimune e estão frequentemente presentes em doentes com infecção pelo vírus da hepatite C. A análise do padrão imunoserológico dos anticorpos órgão-não-específico e o seu impacto no perfil clínico assim como o padrão histológico apresentado na biópsia hepática podem sugerir o diagnóstico e conseqüentemente orientar a estratégia terapêutica.

Assim, a presente tese de mestrado tem o objectivo de descrever as mais recentes descobertas sobre os mecanismos indutores de autoimunidade em doentes com hepatite C e aprofundar o síndrome de sobreposição Hepatite autoimune/ Hepatite C, nomeadamente a sua tradução clínica e terapêutica.

Palavras-chave: *Autoimmunity; Autoimmune hepatitis; Hepatitis C virus*

Índice

1. Introdução.....	5
2. Objectivos e métodos	7
3.Mecanismo de indução de autoimunidade em doentes com HCV.....	8
3.1. Células T regulatórias.....	8
3.2. Factor estimulador das células B (BAFF).....	9
3.4. Infecção directa do linfócitos	11
3.5. Mimetismo Molecular.....	12
3.6. NOSA´s - Autoanticorpos órgão-não-específicos na HVC.....	12
4.Associação entre a Hepatite C e Hepatite Autoimune.....	14
4.1. Hepatite autoimune e seus critérios de diagnóstico.....	14
4.2. Diagnóstico diferencial através do padrão dos NOSA's e sua influência no perfil clínico.	15
4.3. A importância da análise histológica para o diagnóstico diferencial	17
4.4. Tratamento	19
5.Conclusão	22
6. Referências Bibliográficas.....	23

1. Introdução

O vírus da hepatite C (VHC), um Flavivirus de cadeia de RNA, foi identificado pela primeira vez em 1989. Este representa uma das causadas mais comuns de doença hepática crónica no mundo afectando 0,5 a 2% (mais 170 milhões de pessoas) da população do mundo Ocidental (Dustin *et al*, 2007; Antonelli *et al*, 2008). A infecção pelo VHC torna-se crónica em mais de dois terços dos indivíduos infectados reflectindo a inabilidade do sistema imune em montar uma resposta antiviral eficaz (Dustin *et al*, 2007). A resposta do hospedeiro face a uma infecção pelo VHC é composta por uma resposta imune não específica, incluindo a produção interferão (INF) e acção de células *natural-killer* (NK), e por resposta anti-viral específica, incluindo os componentes da resposta humoral e celular (Cojocar *et al*, 2007). O VHC é um vírus hepatotrópico e linfotrópico e tem sido, durante os últimos anos, implicado no desenvolvimento de manifestações imunológicas autoimunes hepáticas e extra-hepáticas como a crioglobulinemia mista, distúrbios autoimunes da tiróide e linfomas de células B, glomeronefrite membranosa, porfiria cutânea tarda e sialadenite (Zignego *et al*, 2008, Ramos-Casals *et al*, 2009). A autoimunidade na infecção pelo VHC não está limitada apenas à produção de anticorpos mas sim a um largo espectro de distúrbios autoimunes.

Os mecanismos moleculares, celulares e fisiológicos exactos que conduzem à autoimunidade ainda não se apresentam completamente esclarecidos em doentes com Hepatite pelo vírus C (HVC). A autoimunidade no organismo humano tem um estabelecimento muito lento o que normalmente encobre a identificação do agente ou mecanismo ofensor na maioria dos casos. Geralmente assume-se uma causa multifactorial que tem por base factores tanto genéticos como ambientais, nomeadamente agentes infecciosos (Strassburg *et al*, 2003). Ao longo dos anos têm-se questionado sobre a relação entre autoimunidade e HCV: será esta desregulação autoimune genuína, podendo ser exacerbada pela infecção pelo vírus C, ou é resultado da infecção pelo HCV? Estudos têm sido realizados no sentido de aprofundar o conhecimento sobre os possíveis mecanismos (mimetismo molecular, diminuição do limiar de activação dos linfócitos B, infecção directa dos linfócitos e produção de anticorpos órgão não específicos - NOSA) bem como outros aspectos imunológicos (células T regulatórias, cél. Treg; o factor estimulador das células B, BAFF) que favoreçam o desencadear de uma resposta autoimune em um doente infectado pelo HCV.

A descoberta da infecção por VHC em doentes com doenças autoimunes foi um achado que propulsionou a investigação do vírus da hepatite C como possível etiologia da HAI. Apesar de ainda ser um assunto controverso, as evidências apontam para uma clara associação entre HAI e HCV, dando origem ao chamado síndrome de sobreposição. Perante este síndrome, a presença simultânea de critérios de diagnóstico de ambas as patologias torna difícil a distinção entre uma activação de um HAI latente pelo vírus do HCV ou até pela terapia anti-viral (dependendo principalmente de factores do hospedeiro) e uma HAI de novo desencadeada pela infecção viral (dependendo maioritariamente de factores virais). Apesar desta sobreposição entre HCV e HAI ter sido praticamente provada, existe indubitavelmente a necessidade de estabelecer critérios de diagnóstico que permitam a diferenciação entre a doença autoimune associada ao vírus e a doença autoimune genuína.

Aproximadamente 25-70% (Bianchi *et al*, 2007; Ferri *et al*, 2008) dos doentes com hepatite C crónica apresentam anticorpos órgão-não-específicos (NOSA) especialmente anticorpos antinucleares (ANA), anticorpos anti-músculo liso (SMA) e anticorpos anti-microsoma fígado- rim tipo 1 (LKM1) o que representa uma alteração na homeostasia do sistema imune. Estes NOSA's, por sua vez, fazem parte dos critérios simplificados de diagnóstico de HAI. Contudo o padrão imunoserológico dos NOSA, bem como influência da sua positividade no perfil de apresentação, são actualmente alvo de pesquisa no sentido de acurar os critérios de diagnóstico do síndrome de sobreposição HVC/HAI. As características histológicas também são indicadas como possível critério de diagnóstico, apesar da escassez de estudos a este nível.

A infecção pelo vírus da hepatite C requer uma precisa diferenciação da hepatite autoimune tendo em vista a estratégia terapêutica. O tratamento da HAI passa pela imunossupressão, enquanto que o tratamento da HVC normalmente é feito com Interferon- α (IFN). A implementação de uma estratégia terapêutica errada pode conduzir a uma propagação da infecção viral, no caso implementação da imunossupressão, ou induzir autoimunidade em geral ou até exacerbar a hepatite autoimune no caso da implementação de IFN. O diferente tratamento destas patologias faz com que a síndrome de sobreposição HCV/HAI seja actualmente um desafio clínico.

2. Objectivos e métodos

Devido à crescente importância do tema e à multiplicação de estudos prospectivos que têm vindo a abordar a associação entre Hepatite C e a autoimunidade, este trabalho tem como objectivo descrever as mais recentes descobertas sobre mecanismos indutores de autoimunidade em doentes com HCV e aprofundar o síndrome de sobreposição HAI/HVC, nomeadamente a sua tradução clínica e terapêutica.

Para a sua elaboração foi feita uma pesquisa bibliográfica com recurso a bases de dados electrónicas como a Medline/PubMed[®] e Science Direct[®], com introdução das palavras-chaves *Autoimmunity; Autoimmune hepatitis; Hepatitis C virus*, não se tendo feito restrição por tipo de artigo ou ano de publicação.

3. Mecanismo de indução de autoimunidade em doentes com HCV.

3.1. Células T regulatórias

As células T regulatórias (células Treg) têm como função controlar a resposta imune contra aos antígenos próprios e estranhos ao organismo sendo por isso, consideradas células de maior importância na manutenção do equilíbrio entre a imunidade e a tolerância (ver figura 1). Estas células têm sido implicadas em fenómenos quer patológicos (doenças autoimunes, nomeadamente na HAI, infecções e neoplasias), quer em fenómenos fisiológicos (gravidez, envelhecimento) (Ferri *et al*, 2008). A sua função baseia-se basicamente na supressão da activação e expansão de linfócitos reactivos contra o próprio que poderiam desencadear uma doença autoimune. Na infecção pelo VHC, o aumento destas células parece ter um papel crucial na persistência do VHC no organismo ao suprimir a resposta das cél. T HCV-específicas através de contacto célula a célula (Crabera *et al*, 2004; Billerbeck *et al*, 2007).

Vários tipos de células Treg têm sido descritos ao longo dos anos, no entanto a maioria dos estudos aborda o fenótipo CD4+ CD25+ que expressa especificamente o factor de transcrição FOXP3. Uma completa falha na expressão deste factor de transcrição nas células Treg, podendo estas ser CD25+ ou CD25-, pode activar clones de células T reagentes contra o próprio, induzindo uma severa e disseminada reacção autoimune/inflamatória (Sakaguchi *et al*, 2006). Boyer *et al* (2004), num estudo em que aborda as manifestações extra-hepáticas da HCV, mostraram uma menor frequência destas células em doentes VHC positivos não tratados com crioglobulinémia mista (CM) sintomática, quando comparados com portadores de CM assintomática e com os controlos saudáveis, concluindo assim que a depleção destas células induz autoimunidade. Outras anormalidades genéticas ou adquiridas através de factores ambientais que comprometam o desenvolvimento, manutenção ou função destas células podem conduzir à perda da tolerância e consequente doença autoimune. As células T regulatórias são por isso indicadas como um componente imunológico com possível influência na HVC associado à autoimunidade.

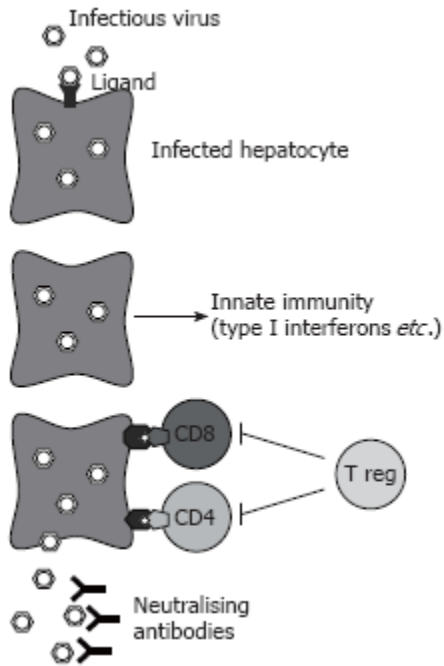


Figura 1. Após a infecção pelo vírus da hepatite C (VHC), a resposta imune inata é induzida. Posteriormente as células infectadas apresentam o antígeno às células CD4+ e CD8+ que são ambas controladas pelas células T regulatórias. As partículas virais libertadas podem ser neutralizadas pelo anticorpos. Este dois últimos mecanismos integram a resposta imune adaptativa. Adaptado de Thimme, 2007.

3.2. Factor estimulador das células B (BAFF)

O factor estimulador das células B (BAFF) é um membro da superfamília do factor de necrose tumoral (TNF) que é produzido pelas células do sistema imunitário inato (monócitos, macrófagos, células dendríticas). BAFF tem um importante papel na sobrevivência e maturação das células B, bem como no desenvolvimento de autoimunidade (Atta *et al*, 2010). Migita *et al* (2007) demonstraram que os níveis de BAFF eram especificamente elevados na HAI, sugerindo que estes contribuem para a lesão hepática, bem como para o desenvolvimento da doença. No entanto Toubi *et al* (2006) verificaram que, entre doentes com HCV, os valores mais altos de BAFF pertenciam aos que apresentavam características autoimunes, sugerindo assim que o BAFF apresenta um papel na autoimunidade relacionada com a infecção por HCV.

3.3. Diminuição do limiar de activação dos linfócitos B

Na superfície da célula B a imunoglobulina actua como receptor da célula B (RCB) para o antigénio viral. Para além desta interacção existem duas vias alternativas para a ligação entre a partícula viral e a cél. B: a ligação via CD81 (através de outras moléculas, HCV-E1 e HCV-E2) e a ligação via complexo CD19-CD21 (através do Cd3).

A ligação do CD81 à proteína E2 (principal proteína do envelope do HCV) por si só promove activação das células B, principalmente de células imaturas, quando comparado com as células de B de memória. Rosa *et al* (2005) propuseram um modelo em que o HCV não necessitaria de invadir a célula, apenas o contacto entre o CD81 e HCV seria suficiente para activar as células B. A proliferação preferencial de células B imaturas pode ser uma explicação para a presença de alta taxa de anticorpos presentes na infecção por HCV. Esta reacção cruzada pode ter um papel adicional no estabelecimento da infecção crónica, uma vez que induz uma inactivação das células Natural Killer (NK) (constituintes da resposta anti-viral) e uma coestimulação das células Th2 (constituintes da resposta pró-inflamatória), o que no fundo revela um mecanismo de escape do vírus ao sistema imunológico inato e a uma diluição da resposta adaptativa (Kanto *et al*, 2006).

O complexo CD19-CD21 permite uma activação de vias de sinalização alternativas que não seriam activadas apenas com uma simples ligação à imunoglobulina de membrana, mesmo que essa ligação fosse em número óptimo. A ligação do CD21 ao vírus é feita através do C3d, um fragmento do complemento que reveste a partícula viral. A ligação estabelecida entre o vírus e os fragmentos de C3, como C3d, opsoniza outras partículas virais no sentido de facilitar a *clearance* pelas células que apresentam receptores do complemento. A ligação C3d-CD21 regula a função do CD19 durante a resposta imune. Pequenas alterações na função do complexo CD19 podem ter efeitos dramáticos no limiar de sinalização que regula o desenvolvimento das células B e na resposta da imunidade inata e humoral. Estas alterações do limiar de sinalização podem, por sua vez, alterar a susceptibilidade do indivíduo à infecção e ao desenvolvimento de autoimunidade (Tedder *et al*, 1997; Doner *et al*, 2006).

Como demonstrado resumidamente na figura 2, estas múltiplas interacções reduzem o limiar de activação das células B em 100 vezes o que favorece a produção de

anticorpos e crioglobulinas que conduzem às manifestações extra-hepáticas características da infecção pelo HCV.

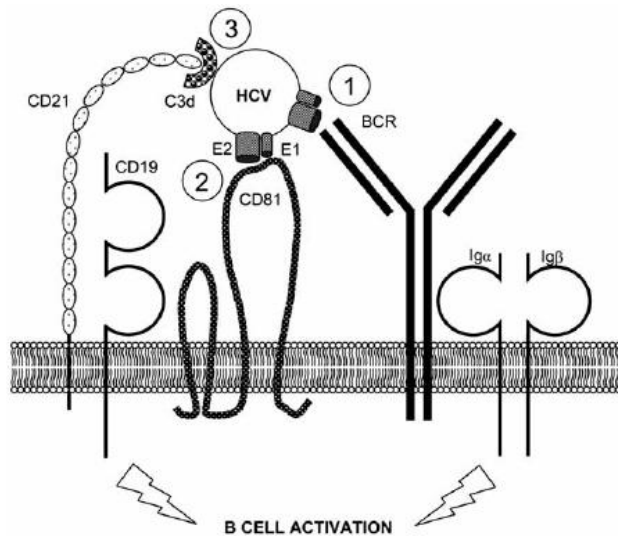


Figura 2 : **Ativação da célula B após a exposição à partícula de HCV.** A imunoglobulina actua como receptor da cél. B reconhecendo o epítipo na partícula viral (1); A proteína viral (E1 e E2) liga-se trespantina CD81 (2) e o fragmento do complemento C3d que reveste a partícula viral liga-se ao complemento ao receptor CD21(3). Adaptado de Ferri *et al* (2008).

3.4. Infecção directa do linfócitos

Apesar da sua propriedade principalmente hepatotrópica, vários estudos têm demonstrado a presença de reservatórios extra-hépatos do HCV, nomeadamente nas populações de linfócitos. A infecção das células linfóides pode influenciar a eficácia da *clearance* do vírus do hospedeiro, constituindo assim um importante factor de risco para persistência, reactivação e recorrência da infecção, bem como um factor importante para de resistência ao tratamento. Monócitos, células B, e linfócitos T CD4+ e CD8+ podem suportar a replicação do HCV e servir de reservatório quer em doentes sintomáticos quer em doentes com infecção oculta (Barré, 2009). Como já foi referido, o vírus funciona como um gatilho para a produção policlonal de células B, resultando num variado espectro de doenças linfoproliferativas como linfoma não-Hodgkin e crioglobulinémia (Pham *et al*, 2008). Um estudo realizado por Sansonno *et al* (2007), através de um método de altamente específico e sensível para detecção do HCV, demonstraram a existência de infecção nas células mononucleares do sangue periférico em 13% de uma amostra de doentes infectados pela HCV. Nesse mesmo estudo a presença formas replicativas de HCV foi fortemente associada à existência de

crioglobulinémia mista, apoiando assim a relação entre linfotropismo e a maior frequência de doenças linfoproliferativas.

3.5. Mimetismo Molecular

O mimetismo molecular é actualmente uma hipótese aceite para a explicação da perda de tolerância imunológica nos doentes com VHC. De acordo com esta hipótese, o indivíduo susceptível adquire a infecção pelo VHC que apresenta sequências de aminoácidos ou conformações de epítomos semelhantes a sequências de aminoácidos de antígenos próprios do hospedeiro. Os antígenos virais semelhantes aos antígenos do hospedeiro são apresentados aos linfócitos T CD4+ e CD8+ através das células apresentadoras de antígenos estimulando a produção de uma resposta efectora (humoral e celular) contra o próprio organismo (Strassburgo *et al*, 2003). Esta reacção imunológica cruzada desencadeia uma potencial lesão dos tecidos. Posteriormente a este gatilho inicial, há uma expansão da resposta auto-imune que passa a não depender da permanência do antígeno desencadeador e este pode ou não estar presente quando a doença autoimune se torna clinicamente aparente (Ferri *et al*, 2008).

Estudos realizados até ao momento sugerem a possibilidade um mecanismo de mimetismo molecular ao identificarem sequências homólogas entre o genoma do HCV e o citocromo P450IID6 (CYP2D6) presente no lado citoplasmático do retículo endoplasmático dos hepatócitos normais. Esta homologia em doentes com HCV resulta na produção de anticorpos LKM-1 que têm simultaneamente como alvo antigénico o citocromo P450IID6 (CYP2D6), proteína envolvida no metabolismo dos xenobióticos, e proteínas do HCV (NS3, NS5A) (Marceu *et al* 2005). O estabelecimento desta reacção cruzada permite colocar a hipótese do mimetismo molecular como mecanismo de ligação entre a infecção por HCV e a autoimunidade.

3.6. NOSA's – Autoanticorpos órgão-não-específicos na HVC

Os NOSA's são interpretados como uma manifestação decorrente de alterações na homeostasia do sistema imune. A positividade dos NOSAS's em doentes com VHC está associada, segundo a maioria dos autores, à lesão hepatocelular num hospedeiro geneticamente favorável. Estes anticorpos frequentemente encontrados em

doentes com HCV fazem parte de critérios de diagnóstico da HAI. NOSA's são detectados em mais de desde 20-25% (Bianchi *et al*, 2007) até 70% dos doentes HCV positivos (Ferri *et al*, 2008). O mais frequente (mais de 60%) são anticorpos anti-músculo liso (SMA), seguindo-se os anticorpos anti-nuclear (ANA) (8-10%) e mais raramente o anticorpo anti-fígado-rim microssomal tipo 1 (LKM-1) (1-5%). Menos frequentemente, outros NOSA's podem ser encontrados em doentes com HCV, nomeadamente o anticorpo anti-célula parietal gástrica, o anticorpo anti-mitocondrial (AMA), o anticorpo anti-neutrófilo citoploasmático e o anticorpo citosol hepático tipo 1. Nos vários estudos realizados até à actualidade é observada uma discrepância relativamente à prevalência destes anticorpos que é maioritariamente associada às diferentes metodologias usadas em cada estudo, bem como associadas à etnia e diferenças geográficas de cada amostra populacional (Stroffoli *et al*, 2004).

Apesar da sua baixa prevalência, o anticorpo anti LKM-1 é o NOSA melhor caracterizado em doentes com HCV. Contudo, o anticorpo anti LKM-1 é também uma marca serológica da HAI tipo 2. Anti- LKM-1 apresenta um padrão característico à imunofluorescência que é idêntico na HVC e na HAI e em ambos os casos este NOSA tem como principal alvo (70%) o citocromo P450IID6 (Ferri *et al*, 2008). Estudos confirmaram a presença exclusiva destes anticorpos nos doentes com HAI e HCV e, portanto, não devem ser atribuídos somente à libertação de proteínas antigénicas sequestradas pelo hepatócito durante a lesão hepática uma vez que estes anticorpos estão completamente ausentes em outras patologias hepáticas (Marceu *et al*, 2005). Contrariamente, outros autores, sugerem que a libertação destes antígenos intracelulares durante a lesão hepática é responsável pelo desencadeamento da resposta imune com formação de NOSA's em geral (Bogdanos *et al*, 2005).

Outros NOSA como ANA e SMA são frequentemente reportados na infecção pelo HCV, mas têm sido menos investigados. Os alvos moleculares destes anticorpos continuam a ser desconhecidos apesar de já ter sido reconhecida uma reacção cruzada entre sequências moleculares do HCV e curtas sequências lineares do músculo liso e de proteínas do núcleo no soro de doentes com HCV (Gregorio *et al*, 2003).

Os mecanismos exactos que conduzem à formação dos NOSA's continuam por esclarecer o que faz permanecer a dúvida se os NOSA's são causa ou consequência da lesão hepática.

4.Associação entre a Hepatite C e Hepatite Autoimune

4.1. Hepatite autoimune e seus critérios de diagnóstico

A hepatite auto-imune é uma doença crónica e progressiva resultante da perda de tolerância em relação ao tecido hepatocelular. HAI caracteriza-se por um grau elevado de actividade histológica (hepatite severa) e bioquímica (hipergamaglobulinémia e altos níveis de aminotransferases e pela presença de anticorpos) (Hennes *et al*, 2008). Esta doença é mais frequente em mulheres e está associada ao haplótipo HLA-A1-B8-DR3 ou DR4. O seu diagnóstico pode ser feito através da aplicação dos critérios do Grupo Internacional de Hepatite Autoimune (IAHG – International Autoimmune Hepatitis Group) (ver tabela 1). A combinação de testes seroimunológicos e biomoleculares permite distinguir a HAI de outras causas de hepatite crónica. A exclusão de infecção por vírus hepatotrópicos, a presença de sexo feminino, hipergamaglobulinémia e uma resposta positiva ao tratamento imunossupressor são achados que permitem o diagnóstico correcto de HAI.

O perfil serológico de anticorpos é a chave para subclassificação a HAI: HAI tipo1 é caracterizada pela presença de ANA e/ou SMA, HAI tipo 2 é caracterizada pela LKM-1 e a HAI tipo 3 é caracterizada por autoanticorpos contra ao antigénio solúveis hepáticos (SLA/LP). Relativamente à etiologia da HAI esta permanece desconhecida. No entanto, ao longo dos anos, tem-se verificado uma alta prevalência de HAI em doentes infectados por VHC o que fez levantar a hipótese do HCV ser um possível factor etiológico capaz de desencadear uma resposta autoimune em doentes geneticamente susceptíveis.

Variável	Cut-off	Pontos
ANA ou SMA	≥ 1 :40	1
ANA ou SMA ou LKM ou SLA	≥ 1:80 ≥ 1 :40 Positivo	2*
IgG	> que o limite normal > 1 ,10 vezes o limite normal	1 2
Histologia hepática (a evidência de	Compatível com HAI	1

hepatite é uma condição necessária)	Típica de HAI	2
Ausência de hepatite viral	Sim	2
≥ 6: provável HAI ≥ 7: HAI definitiva		
*Adição dos pontos para todos os autoanticorpos (máximo 2 pontos)		

Tabela 1. Critérios Diagnósticos Simplificados para Hepatite Autoimune. Adaptado Hennes et al, 2008.

4.2. Diagnóstico diferencial através do padrão dos NOSA's e sua influência no perfil clínico.

Como já foi referido anteriormente, os NOSA's mais frequentes que caracterizam a hepatite C crónica são semelhantes aos anticorpos marcadores da hepatite autoimune, os SNA e os ANA são os marcadores serológicos da HAI tipo 1 e o anti KML-1 da HAI tipo 2.

Em termos imunoserológicos a HVC e HAI apresentam algumas diferenças nos perfis de apresentação dos NOSA's que poderão ser úteis no diagnóstico diferencial perante um síndrome de sobreposição (Cassani *et al*, 1997; Bianchi *et al*, 2007). Os títulos sorológicos de NOSA's são normalmente indicadores uma vez que estes tendem a ser inferiores nos doentes com HCV quando comparados com os títulos de doentes com HAI (Bogdanos *et al*, 2005), mas superiores quando comparados com a população em geral (Lenzi *et al*, 1999).

Perante um doente com HVC, a apresentação de um padrão de anticorpos ANA e/ou SMA típico da HAI pode revelar um componente autoimune importante que deve ser enquadrado em todo o quadro clínico. O padrão ANA “difuso” ou “homogéneo” (ANA-H) raramente ocorre no HCV, no entanto, este padrão é predominante na HAI tipo 1. De forma semelhante, o padrão SMA-T (anti-microfilamentos ou anti-actina) é fortemente associado à HAI tipo 1 e é bastante raro HCV. Nos doentes com HCV o padrão serológico é mais representado pelo SMA-V (o alvo é músculo liso das paredes dos vasos) e menos frequentemente pelo ANA associado a um padrão pontilhado (ANA-P) (Bianchi *et al*, 2007). Actualmente os critérios do IAHG para o diagnóstico de HAI apenas englobam o título de anticorpos, desprezando a avaliação das subespecificidades de ANA e SMA. Cassani *et al* (1997) mostraram no seu estudo que ao identificar a subespecificidade dos padrões dos anticorpos ANA e SMA reduziu significativamente o diagnóstico de síndrome de sobreposição conseguindo encaixar esses doentes em um diagnóstico de HVC ou num

diagnóstico de HAI do tipo 1. Contudo, apesar de incrementar a probabilidade de um diagnóstico correcto de HAI tipo 1, a introdução de mais um parâmetro poderia tornar o sistema excessivamente criterioso. O facto de SMA e os ANA serem positivos no HCV não parece influenciar o perfil clínico nem a resposta ao tratamento antiviral, ou seja, é semelhante aos doentes com HCV sem estes anticorpos.

O anti-corpo Anti KLM-1 é o marcador da HAI tipo 2 e afecta 3-5% dos pacientes com hepatite C crónica. A HAI tipo 2 é mais frequente em mulheres com idades inferiores a 20 anos. Este tipo apresenta altos valores de anti-KLM-1, um perfil muito activo de doença e uma resposta favorável ao tratamento imunossupressor. Contrariamente, os pacientes HCV/anti-KLM-1 positivos são mais frequentemente homens e apresentam um título mais baixo destes anticorpos, bem como uma actividade histológica e bioquímica mais moderada. O padrão de imunofluorescência do anticorpo anti-LKM-1 nos doentes com HVC (coloração brilhante do citoplasma das células hepáticas e porção P3 dos túbulos renais) é indistinguível daqueles com HAI tipo 2 (Ferri *et al*, 2008). Como já foi referido atrás, o anti-KLM-1 é conhecido por reagir especificamente contra ao citocromo P450IID6 (CYP2D6). Estes anticorpos circulantes no soro de doentes com HAI tipo2 reconhecem epítomos lineares da proteína CYP2D6 enquanto que os doentes HCV/LKM-1 positivos reconhecem apenas epítomos conformacionais deste antigénio. O estudo de Klein *et al* (1999) sugere que a presença de anticorpos dirigidos a dois epítomos lineares imunodominantes na HAI tipo 2 (257-269 a 196-218) em pacientes com HCV devem ser considerados uma evidência verdadeira do síndrome de sobreposição HCV/HAI. Avanços na ciência que permitam a identificação estrutural dos epítomos reconhecidos pelo anti KLM-1 podem conduzir a novos métodos de diagnóstico, através do uso de péptidos miméticos pelo método de ELISA. Estes avanços iriam conduzir à aplicação simples e alargada de testes para pesquisa anti -KLM-1 positivos em doentes com HCV facilitando assim o diagnóstico.

A presença NOSA's não depende do genótipo do vírus da hepatite C o que sugere que os factores dependentes do hospedeiro são os que apresentam maior importância na expressão das características autoimunes (Cassani *et al*, 1997; Muratori *et al*, 2003).

Recentemente foi realizado um estudo que demonstrou pela primeira vez o aumento dos anticorpos anti-Proteína C reactiva (anti-PCR) circulantes em doentes infectados com VHC (17% em doentes com HVC vs. 6,4% em controlos saudáveis) e a sua possível associação com manifestações autoimunes. Quando comparados os doentes

com HCV anti-PCR negativos e HCV anti-PCR positivos, este último grupo apresentava uma maior severidade da doença hepática (avaliada através da actividade histológica pela pontuação de Knodell) e estava associado à presença de crioglobulinémia e de factor reumatóide. No entanto, são necessários mais estudos para que se considere estes dados no diagnóstico diferencial (Kessel *et al*, 2007).

A influência da positividade dos NOSA's na apresentação e história natural da doença assim como na resposta ao tratamento têm sido alvo de debate desde há vários anos. Os resultados destas pesquisas não têm sido unânimes e para isso podem contribuir variáveis da amostra populacional e diferentes métodos de avaliação. A grande maioria dos estudos realizados até ao presente mostram uma correlação entre a presença de NOSA's em doentes anti-HCV positivos e uma maior actividade da alanina transaminase (ALT), bem como uma maior actividade histológica (graus mais avançados de fibrose) (Cassani *et al*, 1997; Bogdanos *et al*, 2005; Hsieh *et al*, 2008; Ferri *et al* 2009). Segundo o estudo realizado por Cherétien *et al* (2009), verificou-se que a correlação entre a positividade dos NOSA's e a severidade da doença hepática é independente de parâmetros virológicos, nomeadamente do genótipo e carga viral. No entanto, um estudo realizado por Stroffoni *et al* (2004), o qual incidiu sobre uma larga amostra não seleccionada de doentes com Hepatite C crónica, concluiu que presença de NOSA's não tem impacto no perfil bioquímico e histológico da doença, no curso da doença nem na resposta à terapia antiviral.

4.3. A importância da análise histológica para o diagnóstico diferencial

Apesar de vários estudos terem sido realizados no sentido de aperfeiçoar os critérios de diagnóstico histológico de HVC e de HAI, poucos são os que abordam o síndrome de sobreposição HCV/HAI a este nível. No entanto, Czaja *et al* (1996), propuseram que os doentes sejam avaliados e classificados, através das características histológicas em “predominantemente autoimune” e “predominantemente viral” o que pode facilitar a introdução da terapia correcta. As características histológicas mais estudadas compreendem: a severidade da inflamação, da fibrose e da infiltração de plasmócitos, o desenvolvimento de agregados linfóides ou folículos e colangite destrutiva não supurativa (CDNS) e a forma de aumento dos tractos portais através de fibrose (Tipo S, uma forma estrelada/poligonal irregular e o Tipo R, uma forma arredondada com pequenas espículas fibróticas).

Actualmente sabe-se que HAI não apresenta características patognomónicas a nível histológico no entanto os chamados “casos típicos” comumente apresentam uma hepatite crónica activa com uma intensa reacção necroinflamatória. Apesar de Hano *et al* (2000) terem verificado no seu estudo que a severidade da inflamação pode variar de moderada a grave, o perfil histológico da HAI pode ser caracterizado por lesões necroinflamatórias severas e pelo desenvolvimento mais frequentemente de tratos portais do tipo S. Contrariamente, a Hepatite C crónica mostrou um grau de inflamação muito menos severo bem como uma maior frequência de desenvolvimento de tratos portais do tipo R. Bach *et al* (1992) verificaram uma maior frequência de ocorrência de agregados/folículos linfóides (49% vs 10%) e de lesão no ducto biliar, como NSDC (91% vs 40%) em doentes com HCV do que em doentes com HAI. A infiltração por plasmócitos nem sempre está presente, no entanto quando detectada, é considerada um forte indicador diagnóstico de HAI. A combinação de agregados linfóides e esteatose mostraram ter uma especificidade de 91% para HCC enquanto que o padrão portal linfoplasmático e hepatite de interface e acinar mostrou 81% de especificidade para a HAI (ver figura 3).

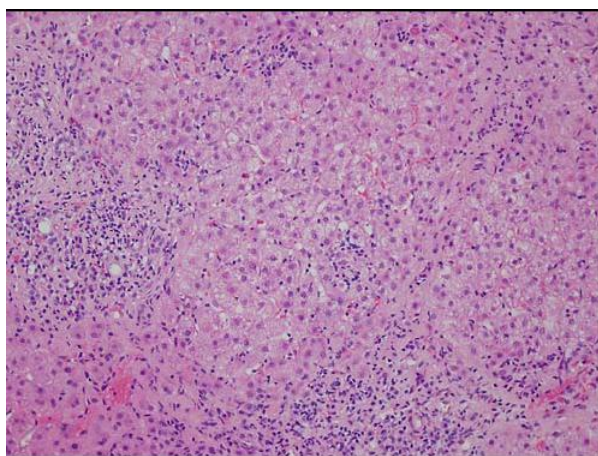


Figura 3: Biópsia hepática de doente com síndrome de sobreposição HCV/HAI , com extensa actividade lobular e infiltrado linfoplasmático, típico das características histológicas da AHI predominantes. Adaptado do de Pane *et al* (2010).

Hano *et al* (2000) compararam as características histológicas de doentes com HAI pura (HAIp), doentes com formas autoimunes de HCV positivos para anti-VHC e negativos para RNA-VHC (aRNA – VHC +) doentes com formas autoimunes de HCV positivos anti-VHC e positivos para RNA-VHC (aRNA-VHC -) e doentes com hepatite C crónica (HCC). Os doentes com aRNA-VHC – e os doentes com HCC apresentaram diferenças significativas relativamente ao grau de inflamação. No entanto, concluiu-se

que a maioria dos doentes com aRNA_VHC – eram histologicamente mais similares com a HAIp e por isso, provavelmente apresentariam uma HAI com história de infecção pelo VHC. Os poucos doentes histologicamente mais idênticos à HCC provavelmente apresentariam uma história de HVC com diminuição da replicação viral. Relativamente aos doentes aRNA-VHC +, concluiu-se que estes tinham muitas mais características histológicas em comum com HCC do que com HAIp. Esta conclusão indica que um doente com aRNA-VHC + com características histológicas HCC provavelmente apresenta uma HCC com características clínicas que mimetizam a HAI e que, em menor frequência, os doentes com aRNA-VHC + com um perfil histológico mais idêntico à HAIp provavelmente apresentam uma AHI e HVC simultaneamente. Para além da positividade no soro, os níveis de RNA-HCV parecem estar correlacionados com o grau e severidade de lesão hepática, no entanto existem estudos controversos. Adinolfi *et al* (2001) mostraram que níveis elevados de RNA-HCV ($\geq 3 \times 10^6$ eq/ml) estão associados significativamente a maior grau de actividade necroinflamatória e maior grau de fibrose hepática, outros autores mostram que não existe correlação entre essas variáveis (McGuinness *et al*, 1996; De Moliner *et al*, 1998).

4.4. Tratamento

Apesar das diferenças discutidas atrás relativamente ao padrão dos NOSA's poderem sugerir um síndrome de sobreposição HCV/HAI, não existe nenhum factor que nos permita afirmar com segurança que estamos perante um HVC isolada ou perante o síndrome de sobreposição. Contudo, embora não sendo absolutas, as características histológicas podem sugerir um padrão dominante e assim orientar a conduta terapêutica. O dilema clínico surge uma vez que as patologias em causa são tratadas de forma distinta: a imunossupressão para o tratamento da HAI pode aumentar a replicação viral na HVC e contrariamente, o tratamento da HVC com Interferon- α (INF) pode deflagrar uma hepatite autoimune. Vários estudos relatam casos de doentes HCV/anti-KLM-1 positivos que ao realizarem tratamento anti-viral com INF desencadearam uma hepatite aguda com altos níveis de transaminases necessitando da retirada do INF e introdução da terapia com corticoesteroides. Por esta razão, recomenda-se fazer um teste de pesquisa de anticorpos antes da introdução da terapia anti-viral (Bianchi *et al*, 2007; Koślińska-Berkan *et al*, 2007). Nestes casos, em particular nos anti-LKM1 positivos, é sugerido aplicação do score IAHG: se o score cumulativo sugerir ou diagnosticar HAI

deve ser primariamente introduzida a terapia com corticoesteroides e só no caso de ausência de resposta mudar para terapia com INF (García-Buey *et al*, 1995; Bianchi *et al*, 2007).

Entre os autores defensores da corticoterapia como tratamento de primeira linha destacam-se Shiano *et al* (2001), que verificaram uma melhora do padrão histológico, bem como uma diminuição dos níveis serológicos de ALT e γ -globulina após o tratamento com corticóide, concluindo assim que a corticoterapia é benéfica como terapia inicial para alguns doentes com síndrome de sobreposição HCV/AHI. Apesar da resposta apreciável a nível bioquímico e histológico, este tratamento não erradica a infecção viral e o próprio aumento da carga viral pode ser considerado um achado comum. Na mesma linha de raciocínio, Kharchafi *et al* (2006), mostraram o melhoramento das características histológicas de cinco mulheres francesas com síndrome de sobreposição HCV/HAI após o tratamento com corticoesteróide e/ou imunossupressão, e sublinhou que mesmo que se detecte um aumento da carga viral durante o tratamento este não compromete a evolução favorável da histologia hepática. Tran *et al* (1997), após a avaliação de três doentes com síndrome de sobreposição HCV/HAI, concluíram que estes doentes devem ser tratados primariamente com prednisona e azatioprina reservando o IFN para quando a primeira linha terapêutica falha. Contudo sublinha que o risco de agravamento da componente viral numa hepatite crónica activa pelo tratamento com imunossupressor deve ser inferior ao risco de exacerbação de uma hepatite autoimune durante o tratamento com Interferon.

Contrariamente ao descrito acima, o tratamento inicial com IFN-ribavirina é considerado seguro e efectivo em doentes com HCV/NOSA's positivo naqueles doentes em que, segundo os critérios do IAHG, o diagnóstico de provável ou definitivo de HAI foi descartado (Muratori *et al*, 2005). Ferri *et al* (2009) através dos resultados encontrados no seu estudo concluíram que o tratamento inicial com anti-vírico (Interferon peguilado – PEG-INF) é benéfico em doentes anti-KLM1 positivos e anti-KLM-1 negativos. Defende ainda que raramente pode deflagrar uma reacção necroinflamatória e que, caso isso aconteça, pode ser controlada de forma eficaz com a introdução de corticoesteroides, permitindo mais tarde o recomeço da terapia antiviral.

A influência dos NOSA em relação à resposta do tratamento antiviral permanece igualmente controversa. Enquanto certos estudos concluíram que a presença dos NOSA's, nomeadamente anti-LKM1, tende a aumentar a actividade das transaminases durante o tratamento (Muratori *et al*, 1994), outros não encontraram

diferenças na resposta ao tratamento de acordo com o perfil dos NOSA's (Cassani *et al*, 1997; Stroffolini *et al*, 2004; Bogdanos *et al*, 2005; Ferri *et al*, 2009). Actualmente existe o consenso que a presença de autoanticorpos por si só não é contra indicação para o tratamento com Interferon (Robbins *et al*, 2007). Independentemente do tratamento instituído, estes doentes devem se monitorizados cuidadosamente.

5. Conclusão

A associação entre HCV e autoimunidade é actualmente uma condição claramente comprovada pelos estudos científicos realizados até ao momento. Apesar das várias descobertas, os mecanismos que conduzem à autoimunidade ainda permanecem por esclarecer. A conexão entre a HVC e a autoimunidade pode, resumidamente, traduzir-se em duas formas: uma forma directa através do fenómeno de mimetismo molecular e consequente produção de NOSA's e uma forma indirecta resultante da activação de células B e T autoreactivas decorrente do processo de infecção. Vários processos imunológicos que surgem em paralelo com a autoimunidade foram descritos nesta revisão, no entanto, a literatura ainda não é consensual sendo necessários mais estudos para completar o cenário patogénico.

Um exemplo claro de associação entre HCV e autoimunidade é o síndrome de sobreposição HVC/HAI o que se caracteriza pela presença de critérios de ambas as patologias. As dificuldades diagnósticas e de implementação de tratamento tornam este tema um verdadeiro dilema clínico. A falta de critérios de diagnóstico absolutos não permite distinguir entre uma HAI desencadeada pela infecção pelo VHC ou se a infecção deflagrou uma HAI preexistente. Nesta revisão bibliográfica examinou-se os possíveis critérios de diagnóstico e concluiu-se que o padrão imunoserológico dos NOSA's e a sua tradução clínica bem como as características histológicas podem orientar o diagnóstico apesar de não serem critérios absolutos.

Apesar dos resultados controversos reportados na literatura, verificar-se que perante o síndrome de sobreposição HCV/HAI o esquema terapêutico introduzido é muitas vezes sugerido pelo resultado pela histologia da biopsia hepática. No caso de predominar um padrão histológico autoimune é sugerido a introdução inicial de corticoterapia/imunossupressão deixando INF para doentes não responsivos à terapia de primeira linha. Por outro lado, se a biopsia apresentar características predominantes de HVC, existir um título baixo de NOSA's e não coexistir doenças autoimunes, deverá ser iniciado o INF.

Com esta revisão bibliográfica concluiu-se que a realização de futuros estudos é necessária para a compreensão exacta dos mecanismos que induzem autoimunidade em doentes com HVC. O esclarecimento desses mecanismos juntamente com avaliação do perfil clínico destes doentes vai permitir futuramente a criação de critérios diagnósticos para diferenciar as duas patologias.

6. Referências Bibliográficas

Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Marracino M, Gambardella M, Giordano M, Ruggiero G. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig DisSci*. 2001 Aug;46(8):1677-83.

Antonelli A, Ferri C, Galeazzi M, Giannitti C, Manno D, Mieli-Vergani G, Menegatti E, Olivieri I, Puoti M, Palazzi C, Roccatello D, Vergani D, Sarzi-Puttini P, Atzeni F. HCV infection: pathogenesis, clinical manifestations and therapy. *Clin Exp Rheumatol*. 2008 Jan-Feb;26(1 Suppl 48):S39-47.

Atta AM, Oliveira IS, Sousa GM, Paraná R, Atta ML. Serum cytokine profile in hepatitis C virus carriers presenting cryoglobulinaemia and non-organ-specific autoantibodies. *Microb Pathog*. 2010 Feb;48(2):53-6.

Bach N, Thung SN, Schaffner F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology*. 1992 Apr;15(4):572-7.

Baré P. Hepatitis C virus and peripheral blood mononuclear cell reservoirs. *World J Hepatol* 2009 October 31; 1(1): 67-71.

Bianchi FB, Muratori P, Granito A, Pappas G, Ferri S, Muratori L. Hepatitis C and autoreactivity. *Dig Liver Dis*. 2007 Sep;39 Suppl 1:S22-4.

Billerbeck E, Bottler T, Thimme R. Regulatory T cells in viral hepatitis. *World J Gastroenterol*. 2007 Sep 28;13(36):4858-64.

Bogdanos DP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Non-organ-specific autoantibodies in hepatitis C virus infection: do they matter? *Clin Infect Dis*. 2005 Feb 15;40(4):508-10.

Boyer O, Saadoun D, Abriol J, Dodille M, Piette JC, Cacoub P, *et al*. CD4+CD25+ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia vasculitis. *Blood* 2004; 103: 3428-30.

Cabrera R, Tu Z, Xu Y, Firpi RJ, Rosen HR, Liu C, Nelson DR. An immunomodulatory role for CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2004 Nov;40(5):1062-71.

Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Muratori P, Giostra F, Francesconi R, *et al.* Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. *Hepatology* 1997; 26: 561-6.

Chrétien P, Chousterman M, Abd Alsamad I, Ozenne V, Rosa I, Barrault C, Lons T, Hagège H. Non-organ-specific autoantibodies in chronic hepatitis C patients: association with histological activity and fibrosis. *J Autoimmun.* 2009 May-Jun;32(3-4):201-5.

Czaja AJ: The variant forms of autoimmune hepatitis. *Ann Intern Med* 1996, 125:588–598

Cojocaru M, Cojocaru IM, Iacob S. HCV Infection – related autoimmunity.; *Rom J Intern Med* 2007. 3(2):230-235.

De Moliner L, Pontisso P, De Salvo GL, Cavalletto L, Chemello L, Alberti A. Serum and liver HCV RNA levels in patients with chronic hepatitis C: correlation with clinical and histological features. *Gut.* 1998 Jun;42(6):856-60.

Dörner T, Lipsky PE. Signalling pathways in B cells: implications for autoimmunity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006;305:213-40.

Dustin LB, Rice CM. Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 71-99

Ferri S, Muratori L, Lenzi M, Granito A, Bianchi FB, Vergani D. HCV and autoimmunity. *Curr Pharm Des.* 2008;14(17):1678-85.

Ferri S, Muratori L, Quarneti C, Muratori P, Menichella R, Pappas G, Granito A, Ballardini G, Bianchi FB, Lenzi M. Clinical features and effect of antiviral therapy on anti-liver/kidney microsomal antibody type 1 positive chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2009 Jun;50(6):1093-101.

García-Buey L, García-Monzón C, Rodríguez S, Borque MJ, García-Sánchez A, Iglesias R, DeCastro M, Mateos FG, Vicario JL, Balas A, *et al.* Latent autoimmune hepatitis triggered during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 1995 Jun;108(6):1770-7

Gatselis NK, Georgiadou SP, Koukoulis GK, Tassopoulos N, Zachou K, Liaskos C, Hatzakis A, Dalekos GN. Clinical significance of organ- and non-organ-specific autoantibodies on the response to anti-viral treatment of patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006 Dec;24(11-12):1563-73.

Gregorio GV, Choudhuri K, Ma Y, Pensati P, Iorio R, Grant P, Garson J, Bogdanos DP, Vegnente A, Mieli-Vergani G, Vergani D. Mimicry between the hepatitis C virus polyprotein and antigenic targets of nuclear and smooth muscle antibodies in chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol.* 2003 Sep;133(3):404-13.

Hano H, Takasaki S, Nakayama J. Autoimmune forms of chronic hepatitis associated with hepatitis C virus (HCV) infection with and without HCV-RNA: histological differences from pure autoimmune hepatitis and chronic hepatitis C. *Pathol Int.* 2000 Feb;50(2):106-12.

Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, Bittencourt PL, Porta G, Boberg KM, Hofer H, Bianchi FB, Shibata M, Schramm C, Eisenmann de Torres B, Galle PR, McFarlane I, Dienes HP, Lohse AW; International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology.* 2008 Jul;48(1):169-76.

Hsieh MY, Dai CY, Lee LP, Huang JF, Tsai WC, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, Wang LY, Chang WY, Chuang WL, Yu ML. Antinuclear antibody is associated with a more advanced fibrosis and lower RNA levels of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol.* 2008 Mar;61(3):333-7.

Kanto T, Hayashi N. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection: multifaceted strategies subverting innate and adaptive immunity. *Intern Med.* 2006;45(4):183-91. Epub 2006 Mar 15

Kessel A, Elias G, Pavlotzky E, Zuckerman E, Rosner I, Toubi E. Anti-C-reactive protein antibodies in chronic hepatitis C infection: correlation with severity and autoimmunity. *Hum Immunol.* 2007 Oct;68(10):844-8.

Kharchafi A, Morlat P, Bernard PH, Bernard N, Balabaud C, Beylot J. Hepatitis C-autoimmune hepatitis overlap syndrome: five new cases. *Rev Med Interne.* 2006 Dec;27(12):916-23.

Klein R, Zanger UM, Berg T, Hopf U, Berg PA. Overlapping but distinct specificities of anti-liver-kidney microsome antibodies in autoimmune hepatitis type II and hepatitis C revealed by recombinant native CYP2D6 and novel peptide epitopes. *Clin Exp Immunol.* 1999 Nov;118(2):290-7.

Koślińska-Berkan E, Kuydowicz J. Unexpected decrease of HCV RNA level during corticosteroid therapy in a patient with overlap syndrome – case report. *Exp Clin Hep* 2007; 3(3):CR27-29.

Lenzi M, Bellentani S, Saccoccio G, Muratori P, Masutti F, Muratori L, Cassani F, Bianchi FB, Tiribelli C. Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: a nested case-control study of the Dionysos cohort. *Gut.* 1999 Sep;45(3):435-41.

Marceau G, Lapierre P, Béland K, Soudeyns H, Alvarez F. LKM1 autoantibodies in chronic hepatitis C infection: a case of molecular mimicry? *Hepatology.* 2005 Sep;42(3):675-82.

McGuinness PH, Bishop GA, Painter DM, Chan R, McCaughan GW. Intrahepatic hepatitis C RNA levels do not correlate with degree of liver injury in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1996 Apr;23(4):676-87.

Migita K, Abiru S, Maeda Y, Nakamura M, Komori A, Ito M, Fujiwara S, Yano K, Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Elevated serum BAFF levels in patients with autoimmune hepatitis. *Hum Immunol.* 2007 Jul;68(7):586-91

Muratori L, Lenzi M, Cataleta M, Giostra F, Cassani F, Ballardini G, Zauli D, Bianchi FB. Interferon therapy in liver/kidney microsomal antibody type 1-positive patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1994 Aug;21(2):199-203.

Muratori P, Muratori L, Guidi M, Granito A, Susca M, Lenzi M, Bianchi FB. Clinical impact of non-organ-specific autoantibodies on the response to combined antiviral treatment in patients with hepatitis C. *Clin Infect Dis.* 2005; 40(4):501-7.

Muratori P, Muratori L, Stroffolini T, Pappas G, Terlizzi P, Ferrari R, Loffreda S, Cassani F, Rapicetta M, Guadagnino V, Bianchi FB, Lenzi M. Prevalence of non-organ specific autoantibodies in HCV-infected subjects in the general population. *Clin Exp Immunol.* 2003 Jan;131(1):118-21.

Pan J, Crippin J.S. Hepatitis C and Autoimmune Hepatitis: What gets Treated first? *Curr Hepatitis Rep* 2010; 9:15–19.

Pham TN, Michalak TI. Occult persistence and lymphotropism of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2008; 14(18):2789-93.

Ramos-Casals M. Manifestaciones extrahepáticas en pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C. *Reumatol Clin.* 2009; 5(2):71-75.

Robbins S, Shaheen A, Myers R. Immunologic Complications of the Hepatitis C Virus. *Curr Hepatitis Rep* 2007; 6:138-144.

Rosa D, Saletti G, De Gregorio E, Zorat F, Comar C, D'Oro U, Nuti S, Houghton M, Barnaba V, Pozzato G, Abrignani S. Activation of naïve B lymphocytes via CD81, a pathogenetic mechanism for hepatitis C virus-associated B lymphocyte disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Dec 20;102(51):18544-9.

Sakaguchi S, Setoguchi R, Yagi H, Nomura T. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006;305:51-66.

Sansonno D, Tucci FA, Lauletta G, De Re V, Montrone M, Troiani L, Sansonno L, Dammacco F. Hepatitis C virus productive infection in mononuclear cells from patients with cryoglobulinaemia. *Clin Exp Immunol.* 2007 Feb;147(2):241-8.

Schiano TD, Te HS, Thomas RM, Hussain H, Bond K, Black M. Results of steroid-based therapy for the hepatitis C-autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2001 Oct;96(10):2984-91.

Strassburg CP, Vogel A, Manns MP. Autoimmunity and hepatitis C. *Autoimmun Rev* 2003; 2: 322-331

Stroffolini T, Colloredo G, Gaeta GB, Sonzogni A, Angeletti S, Marignani M, Pasquale G, Venezia G, Craxì A, Almasio P. Does an 'autoimmune' profile affect the clinical profile of chronic hepatitis C? An Italian multicentre survey. *J Viral Hepat.* 2004 May;11(3):257-62.

Tedder TF, Inaoki M, Sato S. The CD19-CD21 complex regulates signal transduction thresholds governing humoral immunity and autoimmunity. *Immunity.* 1997 Feb;6(2):107-18.

Thimme R. Immunity to hepatitis C virus infection: Update 2007. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(36): 4807.

Toubi E, Gordon S, Kessel A, Rosner I, Rozenbaum M, Shoenfeld Y, Zuckerman E. Elevated serum B-Lymphocyte activating factor (BAFF) in chronic hepatitis C virus infection: association with autoimmunity. *J Autoimmun.* 2006 Sep;27(2):134-9.

Tran A, Benzaken S, Yang G et al. Chronic hepatitis C and autoimmunity - Good response to immunosuppressive treatment. *Dig Dis Sci* 1997; 42(4):778-780.

Zignego AL, Craxí A. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis*. 2008; 12(3):611-36.