

## Factores asociados a la presencia de autoanticuerpos en pacientes con hepatitis crónica por virus C\*

MI. Alarcón Torres, J.L. Rodríguez SanRomán<sup>1</sup>, F. Sánchez García<sup>2</sup>, J.A. Aguilar Doreste, P. Afonso Medina, T. Rodríguez González, A. Santana Rodríguez

### Resumen

*La infección por el virus de la hepatitis C se ha asociado a la presencia de diversas manifestaciones clínicas extrahepáticas y a una alta prevalencia de autoanticuerpos.*

*El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de autoanticuerpos, como marcador serológico de autoinmunidad, en un grupo de 395 pacientes con hepatitis crónica por virus C y en 255 sujetos donantes de sangre, supuestamente sanos, como grupo control. La presencia de autoanticuerpos se relacionó con la edad, género, tiempo de evolución de la infección, vía de transmisión, histología, genotipo del virus de la hepatitis C y clínica de patología autoinmune asociada a la hepatitis crónica por virus C. Se analizó la asociación de estas variables con la presencia de autoanticuerpos y su concentración empleando el método de regresión logística.*

*Se observó una mayor frecuencia de autoanticuerpos en los pacientes con hepatitis crónica por virus C (72 %) que en la población control (27,5%), independientemente del sexo y de la edad. La prevalencia de autoanticuerpos en la hepatitis crónica por virus C fue de ANA (52%), SMA (20%), TA-m (16%) y FR (26%).*

*Los autoanticuerpos anti-LKM asociados a la hepatitis crónica por virus C, que pertenecen al subtipo de hepatitis autoinmune tipo 2-b (HAI-2b), se presentó en un 2% de los pacientes. Los ANA y TA-m fueron más frecuentes en mujeres que en varones, y los ANA, PCA, y ANCA predominaban más en los mayores de 45 años.*

*El análisis univariado mostró que el sexo femenino y la infección por el virus de la hepatitis C se asocian a la presencia de autoanticuerpos, mientras que su concentración se relaciona, además, con la edad superior a 45 años.*

*Asimismo, se observó que la presencia del virus de la hepatitis C induce la aparición de ANA positivos y, cuando ocurre en el sexo femenino supone un riesgo superior a presentar TA-m positivos en relación al grupo control.*

### Summary

*Infection by hepatitis C virus has been associated with several extrahepatic symptoms or signs, and with a high prevalence of autoantibodies.*

*The aim of this study was to assess the presence of autoantibodies as a serologic marker of autoimmunity in a group of 395 patients with chronic hepatitis caused by hepatitis C virus, and in a control group of 255 supposedly healthy blood donors. The presence of antibodies was studied in relation with age, gender, duration of infection, transmission mechanism, histopathology, C virus phenotype, and clinical symptoms or signs of autoimmune disease associated with chronic C virus hepatitis. The association of these variables with the presence of antibodies and its concentration was analyzed with logistic regression techniques.*

*We found a higher frequency of antibodies in patients with chronic C virus hepatitis (72%) than in controls (27,5%), independently from age and gender. The prevalence of specific antibodies in chronic C virus hepatitis was 52% for ANA, 20% for SMA, 16% for TA-m and 26% for RF.*

*Anti-LKM antibodies, which are associated to type 2-b autoimmune hepatitis, were found in 2% of patients with chronic C virus hepatitis. ANA and TA-m were more frequent in females than males. ANA, PCA, and ANCA were found more often in people older than 45.*

*The univariate analysis showed that female sex and infection by hepatitis C virus are associated with the presence of antibodies, while its high titer was, in addition, related with age older than 45.*

*Furthermore, we observed that the presence of hepatitis C virus induces positivity for ANA and, in females, enhances de risk of TA-m positivity when compared with the control group.*

### Abreviaturas no estandarizadas

HAI = Hepatitis autoinmune  
HAI-2b = Hepatitis autoinmune tipo 2b  
HCAL = Hepatitis crónica activa leve  
HCAM = Hepatitis crónica activa moderada  
HCAS = Hepatitis crónica activa severa  
HCP = Hepatitis crónica persistente  
HCVC = Hepatitis crónica por virus C  
IFI = Inmunofluorescencia indirecta  
EAI = Enfermedad autoinmune  
VHC = Virus de la hepatitis C  
VIH = Virus de la inmunodeficiencia humana  
VHB = Virus de la hepatitis B  
VHD = Virus de la hepatitis D

\*Este trabajo corresponde a una comunicación científica presentada y premiada en el XIX Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, celebrado en Zaragoza el 24, 25 y 26 de Mayo de 2000.

Servicios de Análisis Clínicos, <sup>1</sup>Digestivo e <sup>2</sup>Inmunología. Hospital de Gran Canaria «Doctor Negrín». Las Palmas de Gran Canaria.

## Introducción

La autoinmunidad es consecuencia de la pérdida de autotolerancia por fracaso de los mecanismos responsables de su mantenimiento frente a los antígenos propios. Sin embargo, estos mecanismos no parecen ser suficientes por sí solos, sino que se necesita de la existencia de otros factores predisponentes para el desarrollo de autoanticuerpos o de enfermedad autoinmune (EAI).

Diversos estudios clínicos han demostrado la presencia de alteraciones autoinmunes después de infecciones víricas, debido a que los virus pueden romper la tolerancia inmunológica y estar directamente implicados en la aparición de la enfermedad autoinmune (1,2). Se pueden generar por varios mecanismos como son la producción de interferón, alterando la red idiotipo-antiidiotipo y activando policlonalmente los linfocitos B anergizados (3).

Los autoanticuerpos son considerados como el principal sello de las enfermedades autoinmunes, aunque pueden estar presentes en individuos asintomáticos. Las viriasis han sido asociadas con dos fenómenos, uno que supone la aparición de autoanticuerpos sin daño tisular ni signos clínicos de enfermedad, y otro que puede preceder al daño orgánico y desencadenar una clara EAI.

En caso de daño severo por los virus infectantes, los autoanticuerpos son específicos del tejido lesionado y participan en la citotoxicidad mediada por células o en la formación de inmunocomplejos con fijación de complemento y citólisis (4). Así, los autoanticuerpos patógenos poseen características peculiares para provocar lesiones, suelen ser de la clase IgG, y tienen la capacidad de activar el complemento (5).

La determinación de los autoanticuerpos es una parte esencial en la práctica clínica y de laboratorio para el estudio de las EAI sistémicas y/o específicas de órgano, son marcadores sensibles y precoces de la EAI y, por ello, se utilizan habitualmente para su diagnóstico. Los autoanticuerpos pueden preceder en muchas ocasiones a la aparición de los signos clínicos de la enfermedad, e incluso permanecer presentes sin ningún tipo de manifestación clínica durante largos periodos de tiempo. De hecho, en muchas ocasiones persisten aún en fases de remisión de la enfermedad.

Los mecanismos por los cuales estos autoanticuerpos provocan las lesiones responsables de las manifestaciones clínicas son diversos. Los autoanticuerpos pueden causar la destrucción directa de la célula diana por su unión directa a la membrana celular bloqueando o alterando los receptores o su función, por un mecanismo de citotoxicidad directa, por formación de complejos inmunes *in situ* o por citólisis debido a la activación del complemento.

Respecto a la relación entre enfermedad hepática y autoinmunidad, es de interés considerar si las reacciones autoinmunes transitorias inducidas por la infección viral contribuyen al daño hepático, o si los virus pueden desencadenar desórdenes autoinmunes del hígado en ciertos individuos susceptibles. Por otra parte, aunque la distinción entre enfermedad hepática autoinmune y viral tiene importancia desde el punto de vista terapéutico, en la actualidad la relación entre virus hepatotrópicos y autoinmunidad no está aún plenamente comprendida (6,7).

La infección por virus C (VHC) está involucrada en un número creciente de enfermedades no hepáticas, muchas de las cuales tienen una base autoinmune. El virus de la hepatitis C puede actuar como desencadenante de hepatitis autoin-

mune (HAI) en individuos genéticamente predispuestos. Se han involucrado varios mecanismos por los cuales los virus hepatotrópicos pueden inducir alteraciones autoinmunes y/o HAI. Entre estos mecanismos se han descrito el mimetismo o imitación molecular, la asociación entre las proteínas virales y los componentes celulares que pueden dar lugar a reacciones cruzadas entre algunos epítomos de los virus y los antígenos del huésped, o la estimulación en la producción de interferón endógeno. Se supone que el virus puede dar lugar a clonas de linfocitos B, productoras de autoanticuerpos, y cuya activación es capaz de desencadenar una respuesta autoinmune, así como liberar antígenos durante la necrosis hepatocelular capaces de desencadenar la aparición de autoanticuerpos (8).

En algunos estudios se ha descrito la inducción de anticuerpos antinucleares (ANA) por el virus de la hepatitis C (9). Se ha observado que en la hepatitis crónica por VHC la prevalencia de ANA, anticuerpos antimúsculo liso (SMA) y antimicrosomales hepáticos y renales (LKM) es más alta que en la población general y que en otras hepatopatías virales (6), aunque su presencia es menos frecuente y a concentración más baja que en la HAI. Además, los SMA no van dirigidos frente a las fibras de actina y el patrón de los ANA suele ser moteado, a diferencia de la HAI que suele ser homogéneo (10,11).

Se han encontrado anticuerpos frente al virus de la hepatitis C en el 80% de los pacientes con positividad para autoanticuerpos anti-LKM-1 (12). El virus de la hepatitis C podría ser capaz de desencadenar autoinmunidad a través de un mecanismo de mimetismo molecular ya que el epítomo del citocromo P-450 presenta similitud con una secuencia de aminoácidos del virus de la hepatitis C (16).

Por tanto, la realización del presente trabajo se justifica por la importancia de aclarar la presencia de fenómenos autoinmunes en la hepatitis crónica por virus C, ya que puede tener relevancia desde el punto de vista terapéutico, debido a que el uso de fármacos inmunomoduladores, como el interferón, serían perjudiciales en la EAI al exacerbar el proceso de autoinmunidad, y, por el contrario, el uso de medicamentos inmunosupresores, adecuados para la HAI, podrían producir deterioro de la función hepática y perpetuar la enfermedad viral cuando es erróneamente etiquetada de autoinmune (14,17).

## Objetivos

La hepatitis crónica por virus C es muy frecuente en nuestro medio, pero aún existen pocos estudios que permitan conocer la importancia científica de la presencia de las alteraciones autoinmunes en esta enfermedad, así como su posible implicación en la terapéutica con interferón.

Los objetivos planteados del presente trabajo han sido:

- 1) Conocer en nuestro medio la frecuencia de marcadores serológicos de autoinmunidad en sujetos supuestamente sanos (grupo control), para compararla con el grupo de pacientes con hepatitis crónica por virus C.

- 2) Analizar en los pacientes con hepatitis crónica por virus C la prevalencia de los principales marcadores serológicos de autoinmunidad y sus factores determinantes, considerando como variables la edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, vía de transmisión de la infección, genotipo del virus de la hepatitis C, alteraciones bioquímicas y la histología hepática, que

podrían estar relacionados con la presencia y concentración de los autoanticuerpos.

3) Comparar las características epidemiológicas, biológicas, genotípicas e histológicas de los pacientes con hepatitis crónica por virus C según presenten o no marcadores serológicos de autoinmunidad.

## Material y Métodos

### Pacientes

La población objeto del estudio quedó constituida por un total de 395 pacientes, 224 varones y 171 mujeres de edad comprendida entre 15 y 65 años, con hepatitis crónica por virus C procedentes de la Unidad Monográfica de Hepatitis Crónica Viral del Hospital de Gran Canaria «Dr. Negrín». Los sujetos de referencia (Grupo control) se obtuvieron de un colectivo de donantes del Banco de Sangre del mismo Hospital. Esta población de referencia se compuso de 255 sujetos supuestamente sanos, 134 varones y 121 mujeres, de edad comprendida entre 18 y 65 años.

Los criterios de inclusión de los sujetos de referencia en el grupo control fueron la presencia de concentración catalítica de alanina aminotransferasa y aspartato amino transferasa dentro de sus límites de referencia y serología infecciosa negativa para las siguientes magnitudes: antígeno de superficie de la hepatitis B (HbsAg), anticuerpos frente al virus de la hepatitis C, anticuerpos frente a los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y/o 2 (tabla I).

**Tabla I. Características de los sujetos estudiados**

Características	Grupo VHC	Población de Referencia
Tamaño muestral (n)	395	255
Edad media (años); $\bar{x} \pm s$	46,6 $\pm$ 12	42,7 $\pm$ 14
Intervalo años	15-65	18-65
Género (varones/mujeres)	224/171	134/121
Porcentaje (%)	57/43	52,5/47,5
Tiempo de evolución (meses)	62,8 $\pm$ 55,7	—
Intervalo (meses)	6-372	—
Histología (%):		
HCA { Leve	152/315 (48%)	—
Moderada	93/315 (30%)	—
Severa	70/315 (22%)	—

HCA: hepatitis crónica activa.

Como criterios de inclusión de los pacientes en el estudio se consideraron la hipertransaminasemia, con actividades catalíticas enzimáticas de ALT superiores a las de referencia durante un periodo igual o superior a seis meses y la presencia de anticuerpos antiviral de la hepatitis C positivo confirmado por ELISA de tercera generación. Los criterios de exclusión fueron la edad superior a 65 años, pacientes con serología vírica positiva para el virus de la hepatitis B (VHB) y de la inmunodeficiencia humana (VIH), pacientes con insuficiencia renal crónica en tratamiento sustitutivo, diálisis peritoneal y hemodiálisis, pacientes hemofílicos y aquellos con enfermedad de Wilson y con hemocromatosis. Así mismo, fueron excluidos del estudio aquellos pacientes en tratamiento o que habían recibido tratamiento con fármacos antivirales, immuno-

moduladores y/u otros fármacos susceptibles a desencadenar alteraciones autoinmunes en los seis meses precedentes al estudio.

Se ha realizado un estudio descriptivo durante un periodo de tiempo de 5 años siendo las variables analizadas en los pacientes la edad y género, tiempo conocido de hipertransaminasemia, resultado histológico de la biopsia hepática, marcadores de infección de la hepatitis C, determinaciones analíticas específicas de hepatopatía y los autoanticuerpos como determinaciones analíticas específicas de autoinmunidad.

Como factores de riesgo relacionados con la hepatitis vírica se consideraron los antecedentes de transfusiones de sangre o hemoderivados, adicción a drogas por vía parenteral, tatuajes, practicas sexuales de riesgo: promiscuidad sexual y/o homosexual, antecedentes de intervenciones quirúrgicas y manipulaciones dentarias, entre otras.

Se consideró como tiempo conocido de evolución de la enfermedad al intervalo de tiempo transcurrido desde que se objetivó la alteración de las transaminasas hasta que se realizó el estudio autoinmune expresado en meses.

Como otras enfermedades asociadas a la hepatitis crónica por virus C, se analizó la presencia de la hepatitis crónica por virus B y/o D, presencia de marcadores serológicos positivos de VIH, enfermedad reumática autoinmune y enfermedad tiroidea.

Para la valoración de la biopsia hepática se establecieron 3 categorías. Las lesiones histológicas de buen pronóstico se consideraron la hepatitis crónica persistente y la hepatitis crónica activa leve, como lesiones de evolución variable la hepatitis crónica activa moderada, y lesiones de mal pronóstico la hepatitis crónica activa severa y cirrosis. En la clasificación anatomopatológica de las hepatitis se han seguido los criterios de Scheuer (18).

Para el análisis de los marcadores virales de hepatitis por virus B (VHB), hepatitis por virus D (VHD), VIH y virus de la hepatitis C se determinaron las siguientes magnitudes: HbsAg, HbeAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HBc (IgM), anti-HBe, anti-Delta y anticuerpos frente al VIH (anti-VIH). Para el estudio confirmatorio de la presencia de virus de la hepatitis C se analizaron los anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (anti-virus de la hepatitis C) y el RNA del virus de la hepatitis C (RNA-VHC). También se realizó el genotipado del virus de la hepatitis C.

### Instrumentación y magnitudes

Para la detección de los anticuerpos anti-virus de la hepatitis C se utilizó un inmunoanálisis enzimático de tercera generación en fase sólida de tipo sandwich (HCV EIA 3.0 de Abbott Laboratories, Abbott Park, EEUU) y para la detección del RNA-VHC se utilizó el sistema Amplicor-HCV (Roche Diagnostic Systems, Inc., Branchburg, NJ, EEUU) (19).

Para la determinación del genotipo de virus de la hepatitis C se utilizó el Inno-Lipa HCV II (Innogenetics N.V. Belgium) (20). Los anticuerpos frente al VHD en suero se determinaron por inmunoanálisis enzimático cualitativo en fase sólida de tipo competitivo (Anti-Delta EIA de Abbott Laboratories, Abbott Park, EEUU), y para la determinación de anti-VIH en suero se ha utilizado un inmunoanálisis enzimático cualitativo de tercera generación en fase sólida (Anti-HIV-1/HIV-2 EIA Plus de Abbott Laboratories, Abbott Park, EEUU).

En un analizador Hitachi 917 (Roche Mannheim, GmbH Alemania), se determinaron en suero, las siguientes magnitudes bioquímicas: alaninoaminotransferasa y aspartatoaminotransferasa, gamma glutamiltransferasa, lactato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina y proteína.

La determinación de las hormonas tiroideas se realizó en el Sistema IMX (Abbott Laboratories, Abbott Park, EEUU). Para la determinación de la tiroxina no unida a proteína se utilizó el equipo IMX Free T4 y para la tirotrópina el equipo Ultrasensitive hTSH II, basados ambos en el inmunoanálisis enzimático de micropartículas.

Las determinaciones de las inmunoglobulinas G, A y M (IgG, IgA y IgM), de los componentes 3 y 4 del complemento (C3 y C4) y del factor reumatoide (FR) se efectuaron por nefelometría en un nefelómetro BN-II (Dade-Behring, Marburg, Alemania).

La determinación cualitativa de los anticuerpos contra las distintas estructuras antigénicas tisulares, nucleares, citoplasmáticas y orgánulos subcelulares se realizó mediante la técnica de elección para la investigación de autoanticuerpos, la inmunofluorescencia indirecta sobre cultivos celulares y/o tejidos específicos. Los resultados se expresaron en u.arb./L considerando como positivo alto las concentraciones superiores o iguales a 160 u.arb./L e inferiores a 1280 u.arb./L, positivo bajo las superiores o iguales a 20 e inferiores a 160 u.arb./L y negativo las concentraciones inferiores a 20 u.arb./L. Se analizaron los resultados de la determinación en suero de los siguientes autoanticuerpos: ANA, anti-ácido desoxirribonucleico (ds-DNA), anti-músculo liso (SMA), anti-células parietales (PCA), anti-mitocondrias (MA), anti-microsomiales hepáticos y renales (LKM), anti-tiroideos microsomiales (TA-m), anti-tiroideos tiroglobulina (TA-t), anti-citoplasma de la célula Hep-2 (CITO) y anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA).

Los ANA y anti-citoplasma de la célula Hep-2 se determinaron sobre cultivos de células epiteliales humanas (HEP-2) (Inova Diagnostics, San Diego, EEUU), los ds-DNA sobre cultivos de *Crithidia lucillae*, los SMA, PCA, MA, LKM sobre sus tejidos específicos de estómago y médula de riñón de rata, los TA-m y TA-t sobre tejido de tiroides de mono (BioSystems de Atom, Barcelona, España) y los ANCA sobre neutrófilos humanos fijados con etanol y formol (Inova Diagnostics, San Diego, EEUU). Las lecturas de inmunofluorescencia se realizaron en un microscopio Olympus BX50 con un equipo de fluorescencia modelo Olympus BX-URAFL-2 con lámpara de vapor de mercurio de 100w a las 24 horas de la realización de la técnica.

#### Tratamiento estadístico

Para calcular el tamaño muestral se utilizó el programa R-Sigma (Horus Software) para un poder estadístico del 80% y un nivel de significación de  $P < 0,05$  y para el estudio estadístico se utilizó el programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS. Versión 7.0).

Se realizó un análisis exploratorio previo para detectar errores, observar la distribución de los datos y preparar las pruebas de contraste de hipótesis. En el estudio estadístico descriptivo se calcularon las medidas de centralización (media) y de dispersión (desviación estándar) para las variables cuantitativas y para las cualitativas, la frecuencia para cada una de las categorías.

Para los contrastes de hipótesis de variables cualitativas, hemos calculado la correspondiente tabla de contingencia y me-

dido la asociación entre ambas, mediante la Chi cuadrado, aplicando la corrección de Yates cuando fue necesario. En los casos en que el número de datos era reducido, se utilizó la prueba exacta de Fisher.

Mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov se verificó si los datos se ajustaban a una distribución normal. Para la comparación de medias se usó la prueba de la *t* de Student cuando las distribuciones fueron normales y la prueba no paramétrica de la *U* de Mann-Whitney en distribuciones no normales. Hemos considerado como significativo los valores de *P* inferiores a 0,05.

Se utilizó un modelo de regresión múltiple para analizar la influencia de un conjunto de variables sobre la variable dicotómica, presencia o no de autoanticuerpos (21). Para el análisis multivariado de regresión logística escalonado, se incluyeron las variables que presentaron significación estadística en el análisis univariado.

## Resultados

### Estudio comparativo de la presencia de autoanticuerpos entre pacientes con hepatitis crónica por virus C y sujetos sanos

Al comparar la presencia de autoanticuerpos positivos en el grupo control de sujetos sanos con la de pacientes con hepatitis crónica por virus C, se encontró una mayor frecuencia estadísticamente significativa de autoanticuerpos en el grupo de hepatitis C (72% vs 27,5%;  $P < 0,001$ ).

Los ANA fueron los autoanticuerpos que presentaron una mayor prevalencia tanto en la hepatitis crónica por virus C como en el grupo control, siendo significativamente superior la frecuencia de éstos en el grupo de hepatitis crónica por virus C (51% vs 16,5%;  $P < 0,001$ ). También se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en la frecuencia de positividad de los SMA, PCA, TA-m y ANCA (tabla II).

**Tabla II. Frecuencia de los distintos autoanticuerpos en sujetos sanos y pacientes con VHC**

Autoanticuerpo	<i>n</i> C / VHC	Grupo C Total	VHC Total	<i>P</i>
AutoAc	255/395	70 (27,5%)	285 (72%)	<0,001
ANA	255/395	42 (16,5%)	202 (51%)	<0,001
SMA	255/388	9 (3,5%)	75 (19,5%)	<0,001
PCA	255/342	10 (3,9%)	32 (9,4%)	0,010
LKM	255/324	—	7 (2,2%)	0,020
TA-m	255/372	10 (3,9%)	59 (15,9%)	<0,001
ANCA	255/268	3 (1,2%)	15 (5,6%)	0,007
CITO	255/249	—	92 (37%)	<0,001

Grupo C: Grupo Control

ANA: anticuerpos antinucleares; SMA: anticuerpos antimúsculo liso; PCA: anticuerpos anticélulas parietales gástricas; LKM: anticuerpos antimicrosomiales hepáticos y renales; TA-m: anticuerpos antimicrosomiales; ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo; CITO: anticuerpos anticitoplasma de célula Hep-2

**Tabla III. Frecuencia de los distintos autoanticuerpos según su concentración en sujetos sanos y pacientes con VHC**

Autoanticuerpos	n C/VHC	Grupo C <160u.a./L	VHC <160u.a./L	Grupo C ≥160u.a./L	VHC ≥160u.a./L	P
AutoAc	255/395	55 (21,5%)	140 (35,5%)	15 (6,0%)	134 (34%)	<0,001
ANA	255/395	36 (14%)	113 (29%)	6 (2,5%)	90 (23%)	<0,001
SMA	255/388	9 (3,5%)	64 (16,5%)	—	11 (3%)	<0,001
PCA	255/342	3 (1,2%)	13 (3,8%)	7 (2,7%)	19 (5,6%)	p=0,032
TA-m	255/372	8 (3,1%)	49 (13,1%)	2 (0,8%)	10 (2,7%)	<0,001
ANCA	255/268	3 (1,2%)	12 (4,5%)	—	3 (1,2%)	p=0,018
CITO	255/248	—	53 (21,5%)	—	39 (15,7%)	<0,001

Grupo C: Grupo Control

ANA: anticuerpos antinucleares; SMA: anticuerpos antimúsculo liso; PCA: anticuerpos anti-células parietales gástricas; TA-m: anticuerpos antimicrosomales; ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo; CITO: anticuerpos anticitoplasma de célula Hep-2

Los anticuerpos ds-DNA, MA y LKM solo presentaron positividad en el grupo de pacientes con hepatitis crónica por virus C y asociados a enfermedad clínicamente manifiesta. Ningún sujeto del grupo control presentó positividad frente a estos autoanticuerpos.

La mayor prevalencia de autoanticuerpos positivos en el grupo de hepatitis crónica por virus C respecto al control se observó tanto a concentraciones bajas (<160 u.arb./L) como altas (≥160 u.arb./L) (tabla III), y por igual en varones que en mujeres.

La diferencia de autoanticuerpos a concentración alta ( $P=0,001$ ;  $OR=3,51$ ;  $IC(95\%)=1,89-6,51$ ) se muestra en la tabla IV.

En el grupo control no se observó diferencias significativas en la frecuencia de positividad de autoanticuerpos entre varones y mujeres (27,6% vs 27,3%;  $P=1,000$ ), mientras que en el de los pacientes con hepatitis crónica por virus C la positividad fue más prevalente en las mujeres (80,7% vs 65,6%;  $P<0,001$ ) (tabla V).

En función de la edad, encontramos que la prevalencia de positividad de los distintos autoanticuerpos fue superior en los

**Tabla IV. Frecuencia de autoanticuerpos positivos con relación a su concentración en sujetos sanos y pacientes con VHC.**

GRUPO	CONTROL (n=70)	VHC (n=274)
<160 u.arb./L (n=195)	55 (28%)	140 (72%)
≥160 u.arb./L (n=149)	15 (10%)	134 (90%)

sujetos mayores de 45 años, tanto en el grupo control como en el de hepatitis crónica por virus C, siendo estadísticamente significativo para la presencia de autoanticuerpos en general y en particular para los ANA ( $P<0,001$ ), SMA ( $P<0,001$ ), TA-m ( $P=0,002$ ) y CITO ( $P<0,001$ ). Los anticuerpos ds-DNA, MA, LKM, y CITO solo presentaron positividad en pacientes con hepatitis crónica por virus C, siendo negativos en el grupo control (tabla VI).

**Tabla V. Frecuencia de positividad de los distintos autoanticuerpos en los pacientes y en sujetos supuestamente sanos en función del sexo**

Auto anticuerpos	Grupo C Varones	VHC Varones	P	Grupo C Mujeres	VHC Mujeres	P
AutoAc	37/134 (27,6%)	147/224 (65,6%)	<0,001	33/121 (27,3%)	138/171 (80,7%)	<0,001
ANA	24/134 (18%)	99/224 (44%)	<0,001	18/121 (15%)	104/171 (61%)	<0,001
SMA	7/134 (5,2%)	40/219 (19%)	<0,001	2/121 (1,7%)	35/169 (20,7%)	<0,001
LKM	—	2 /179 (1,1%)	0,509	—	5/145 (3,4%)	0,065
TA-m	2/134 (1,5%)	22/210 (10,5%)	0,001	8/121 (6,7%)	37/162 (23%)	<0,001
ANCA	—	6/145 (4,2%)	0,030	3/121 (2,4%)	9/123 (7,3%)	0,136

Grupo C: Grupo Control

ANA: anticuerpos antinucleares; SMA: anticuerpos antimúsculo liso; LKM: anticuerpos antimicrosomales hepáticos y renales; TA-m: anticuerpos antimicrosomales; ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo.

**Tabla VI. Frecuencia de positividad de los distintos autoanticuerpos en los pacientes con VHC y en los sujetos supuestamente sanos en función de la edad**

Auto anticuerpos	Grupo C ≤45 años	VHC ≤45 años	P	Grupo C >45 años	VHC >45 años	P
AutoAc	31/132 (23,5%)	124/180 (69%)	<0,001	39/123 (32%)	161/215 (75%)	<0,001
ANA	18/132 (13,5%)	32/180 (45,5%)	<0,001	24/123 (19,5%)	120/215 (56%)	<0,001
SMA	3/132 (2,3%)	30/177 (17%)	<0,001	6/123 (5%)	45/211 (21%)	<0,001
PCA	3/132 (2,3%)	6/152 (4%)	0,511	7/123 (5,7%)	26/190 (14%)	0,025
LKM	—	4/152 (2,6%)	0,126	—	3/172 (1,7%)	0,268
TA-m	3/132 (2,3%)	20/173 (11,6%)	0,002	7/123 (6%)	39/199 (19,6%)	<0,001
ANCA	—	3/126 (2,5%)	0,115	3/123 (2,4%)	12/142 (8,5%)	0,059
CITO	—	31/113 (27,5%)	<0,001	—	61/136 (45%)	<0,001

Grupo C: Grupo Control

ANA: anticuerpos antinucleares; SMA: anticuerpos antimúsculo liso; PCA: anticuerpos anti-células parietales gástricas; LKM: anticuerpos antimicrosomales hepáticos y renales; TA-m: anticuerpos antimicrosomales; ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo; CITO: anticuerpos anticitoplasma de célula Hep-2

Factores asociados a la presencia de autoanticuerpos en sujetos sanos y en pacientes con hepatitis crónica por virus C

En el análisis de regresión multivariado para estudiar en el grupo control y en el de hepatitis crónica por virus C la influencia de las variables que presentaron significación en el análisis univariado tales como la edad, género e infección por virus de la hepatitis C (variables independientes), que pudieran influir en la presencia o ausencia de autoanticuerpos (variable dependiente), encontramos que los factores asociados a la presencia de autoanticuerpos positivos fueron el género femenino y la presencia del virus de la hepatitis C. Los pacientes con hepatitis crónica por virus C tenían un riesgo 2,6 veces superior de presentar autoanticuerpos que aquellos individuos sin hepatitis C (tabla VII).

**Tabla VII. Factores asociados a la presencia de autoanticuerpos en el grupo de sujetos sanos y sujetos con hepatitis crónica por VHC**

Variable dependiente	Variable independiente	OR	IC (95%)	P
AutoAc (+) vs AutoAc (-)	Género femenino	1,21	1,01-1,45	0,033
	VHC	2,65	2,22-3,17	<0,001

OR: odds ratio

Al utilizar dicho modelo para analizar la influencia de estas mismas variables sobre la presencia de autoanticuerpos a concentraciones altas, se apreció que las variables independientes

**Tabla VIII. Factores asociados a la presencia de autoanticuerpos a concentraciones altas en el grupo de sujetos sanos y sujetos con hepatitis crónica por VHC**

Variable dependiente	Variable independiente	OR	IC (95%)	P
≥160 u.arb./L vs Negativos y <160 u.arb./L	Género femenino	1,34	1,09-1,65	0,005
	Edad >45 años	1,37	1,11-1,69	0,003
	VHC	2,99	2,25-3,97	<0,001

OR: odds ratio

que se asociaron fueron el género femenino, la infección por virus de la hepatitis C y la edad superior a 45 años (tabla VIII).

Cuando se consideró como variable dependiente la presencia de los ANA se observó que solo el virus de la hepatitis C era el factor asociado con un riesgo 2,3 veces superior respecto al grupo control. Referente a la presencia de TA-m se encontró que, además del virus de la hepatitis C, el género femenino era otro factor asociado (tabla IX).

**Tabla IX. Factores asociados a la presencia de los distintos autoanticuerpos en el grupo de sujetos sanos y pacientes con hepatitis crónica por VHC.**

Variable dependiente	Variable independiente	OR	IC (95%)	P
ANA(+) vs ANA(-)	VHC	2,32	1,91-2,82	<0,001
TA-m (+) vs TA-m (-)	Género femenino	1,56	1,19-2,06	0,001
	VHC	2,19	1,55-3,11	<0,001

OR: odds ratio

ANA: anticuerpos antinucleares; TA-m: anticuerpos antimicrosomales

## Discusión

En los últimos años se ha observado que el virus de la hepatitis C se puede asociar a diferentes alteraciones inmunológicas con manifestaciones extrahepáticas que incluyen la presencia de crioglobulinemia, factor reumatoide y de autoanticuerpos (22,23), como los anti-LKM, ANA y/o SMA (15,24,25). También pueden aparecer EAI como la tiroiditis autoinmune (26) o alteraciones en las glándulas salivares similares al síndrome de Sjögren, capilaritis linfocítica, (27) liquen plano, hipotiroidismo autoinmune, púrpura trombocitopénica, síndrome de CREST (22), síndrome antifosfolípido (28), poliartritis, glomerulonefritis membranosa, poliartritis nodosa y vasculitis (23,29).

En nuestro grupo de pacientes con hepatitis crónica por virus C las manifestaciones extrahepáticas parecen ser menores a las descritas por otros autores. Esto pudiera ser debido a los diferentes factores ambientales y/o genéticos.

El 72% de los 395 pacientes con hepatitis crónica por virus C presentaron positividad frente a alguno de los distintos autoanticuerpos determinados, y casi la mitad de los casos (47%) tenían concentraciones altas ( $\geq 160$  u.arb./L), siendo significativamente mayor que en el grupo control (27%). El 63% de los que tenían autoanticuerpos positivos no reunían criterios clínicos de enfermedad autoinmune, mientras que un 9% presentaban EAI clínicamente manifiesta con autoanticuerpos como marcadores serológicos de su enfermedad.

Los ANA positivos se encontraron en el 16% de los sujetos del grupo control y en poco más de la mitad de los pacientes con hepatitis crónica por virus C (52%), tanto a concentraciones bajas como altas por igual.

Sin embargo, los anticuerpos anticitoplasma de la célula Hep-2, los SMA y TA-m fueron más frecuentes en los pacientes con hepatitis crónica por virus C a concentraciones bajas.

Los anticuerpos ds-DNA, MA y anti-LKM solo mostraron positividad en el grupo de hepatitis crónica por virus C con EAI clínicamente manifiesta, siendo siempre negativos en el grupo control, lo que coincide con lo publicado por otros autores al señalar que su presencia puede ser considerada como un dato específico de enfermedad (22,30).

Abuaf et al (30) determinaron los anticuerpos no órgano-específicos ANA, SMA y anti-LKM en un grupo de 272 pacientes con hepatitis crónica por virus C y 100 sujetos donantes de sangre, encontrando una mayor frecuencia en el grupo de hepatitis crónica por virus C (46%) que en el de donantes de sangre. La presencia de ANA, SMA y anti-LKM fue del 18, 25 y 5%, respectivamente.

Por otro lado, Pawlotsky et al (22) en un estudio de 61 pacientes con hepatitis crónica por virus C observaron que el 70% presentaban FR positivo y que el 41% tenía al menos un autoanticuerpo positivo a concentraciones significativas ( $\geq 160$  u.arb./L). Los ANA estaban presentes en el 21% de los pacientes y en tan solo el 10% de los controles, y al considerar concentraciones  $\geq 160$  u.arb./L estos porcentajes disminuían al 13% y 2% respectivamente. En cuanto a los SMA, la frecuencia de positividad fue del 21% para los pacientes y del 2% para los controles, y para concentraciones  $\geq 160$  u.arb./L disminuían al 7% en pacientes con hepatitis crónica por virus C y a ninguno de los sujetos del grupo control. Los anticuerpos anti-tiroideos microsomales fueron positivos en el 2% de los pacientes y en un 3% de los controles. Los autoanticuerpos anti-LKM positivos se observaron en el 5% del grupo de hepatitis crónica por virus C. (22).

En relación a los ANCA, este autoanticuerpo ha sido considerado como un posible marcador de autoinmunidad en la HAI (positivo en un 50% de los casos), aunque también se ha encontrado en un porcentaje bajo en la hepatitis crónica por virus C (3% y 5%) (31,32). En nuestro estudio hallamos una prevalencia de ANCA del 5,6% en los pacientes con hepatitis crónica por virus C y del 1,2% en los controles, correspondiendo a 3 mujeres de edad superior a 45 años y a concentraciones bajas ( $< 160$  u.arb./L), lo que parece coincidir con lo publicado hasta ahora (31).

La prevalencia de autoanticuerpos en el presente trabajo está básicamente en la misma línea a la descrita por otros autores en Europa (22,30,33) y en EEUU (7,34), ya que se coincide al encontrar una prevalencia significativamente superior de autoanticuerpos en los pacientes con virus de la hepatitis C respecto a la población sana del grupo control.

Además, nuestro estudio mostró que había una mayor frecuencia de positividad de autoanticuerpos en las mujeres que

en los varones (80,7% vs 65,6%;  $P < 0,001$ ), que también se observó para los ANA (61% vs 44%) y TA-m (23% vs 10%). Por el contrario, en el grupo de sujetos controles no hallamos diferencias significativas en la frecuencia de positividad de autoanticuerpos entre varones y mujeres (27,6% vs 27,3%;  $P = 1,000$ ).

En relación con la edad, la prevalencia de los autoanticuerpos fue superior a partir de los 45 años, tanto en el grupo control como en el de hepatitis crónica por virus C. Igualmente sucedió de forma particular con los ANA y TA-m.

En general, la edad media de los pacientes con autoanticuerpos fue superior a los que no lo presentaban. Al considerar conjuntamente la edad y género, observamos que independientemente de la edad existía una mayor frecuencia de autoanticuerpos positivos en el grupo de mujeres.

Pawlotsky et al y Clifford et al (22,35) publicaron que la presencia de autoanticuerpos era similar en hombres y mujeres, sin encontrar diferencias entre la edad media de los pacientes según presentara o no autoanticuerpos, discrepando de nuestros resultados. Posiblemente esos hallazgos puedan explicarse por el escaso número de pacientes incluidos en dicho estudio ( $n=61$  y  $n=92$ , respectivamente). Sin embargo, Cassani et al (36), en un grupo de 290 pacientes con virus de la hepatitis C encontraron una mayor frecuencia significativa de anticuerpos positivos en mujeres sin relación con la edad. Al igual que en nuestro estudio, Tran et al y Huang et al (37,38) publicaron la existencia de una alta prevalencia de los TA-m en mujeres.

En relación a las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes no encontramos diferencias significativas entre los parámetros bioquímicos, el tiempo de evolución, la histología ni la presencia de RNA viral según tuvieran o no autoanticuerpos positivos. Sin embargo, observamos que el tiempo de evolución y la presencia del genotipo 1b del virus de la hepatitis C eran significativamente mayor en aquellos pacientes con autoanticuerpos a concentraciones altas respecto a los que presentaban concentraciones bajas. Por otro lado, se encontró que el antecedente de transfusión se asociaba a una mayor frecuencia de autoanticuerpos positivos.

En suma, nuestros resultados indican que el sexo femenino, el aumento de edad, el mayor tiempo de evolución de la enfermedad, el antecedente de transfusión y el genotipo 1b del virus de la hepatitis C son los factores que se asocian a una mayor frecuencia de autoanticuerpos positivos.

En cuanto a la relación del genotipo viral y presencia de autoanticuerpos, también coincide con lo publicado por Huang et al que observan que las mujeres con hepatitis crónica por virus C y TA-m positivos tenían una mayor prevalencia de los genotipos 1b y 2b, lo que sugiere que el genotipo viral pudiera estar relacionado de alguna manera con la autoinmunidad en esta entidad (38).

Pena et al (39) hallaron, mediante un análisis de regresión multivariado, que la única variable independiente que influyó en la distribución del genotipo fue el mecanismo de transmisión, y que la edad y sexo eran dependientes de dicha variable.

En el estudio de Cassani et al (36), al comparar los pacientes con autoanticuerpos positivos frente a los negativos, no se encontraron diferencias en cuanto a la edad, genotipo viral ni presencia de cirrosis. No obstante, los pacientes con autoanticuerpos positivos se caracterizaron por tener una lesión necroinflamatoria más severa, actividad catalítica de la ALT/AST y concentraciones séricas de IgG más elevadas que los que no presentaban autoanticuerpos.

Rostaing et al (33) publicaron que los marcadores serológicos de autoinmunidad no se relacionaron con las concentraciones de ALT, fenotipo del HLA-DR, ni genotipo del virus de la hepatitis C. Nuestros pacientes con concentraciones altas de autoanticuerpos presentaban mayores concentraciones de inmunoglobulinas que los que tenían autoanticuerpos a concentraciones bajas, sin hallar diferencias en las otras magnitudes bioquímicas ni en la gravedad de la lesión histológica, similar a lo descrito por otros autores (22).

En el presente trabajo, el análisis de regresión multivariado para conocer los factores que pueden influir o no en la presencia de autoanticuerpos mostró que su presencia se asociaba al género femenino (con un riesgo de 1,2) y al virus de la hepatitis C (riesgo de 2,6).

Las variables independientes asociadas a concentraciones altas de autoanticuerpos correspondían al género femenino, la presencia del virus de la hepatitis C y la edad superior a 45 años. El riesgo para desarrollar autoanticuerpos a concentraciones altas fue de 1,34 veces mayor en mujeres, de 1,37 para la edad superior a 45 años y de 2,99 para la infección por virus de la hepatitis C.

Cuando consideramos como variable dependiente la presencia de cada uno de los distintos autoanticuerpos, encontramos que la existencia del virus de la hepatitis C supone un riesgo 2,3 veces mayor a presentar ANA positivos y de 2,2 veces para los TA-m.

En esta línea de investigación, dentro de los pocos trabajos publicados, destaca el de Luo et al (41) que en un estudio similar al nuestro, realiza un análisis de regresión multivariado en el que ninguno de los factores considerados (edad, sexo, antecedente de transfusión, magnitudes bioquímicas, crioglobulinemia, cirrosis y genotipo del virus de la hepatitis C entre otros) fueron de valor predictivo para la presencia de autoanticuerpos en la hepatitis crónica por virus C. En otro estudio recientemente publicado (42) sobre un grupo de 226 pacientes con hepatitis crónica por virus C se observó que la prevalencia de autoanticuerpos no órgano-específicos (ANA, SMA, anti-LKM) fue del 25%, no encontrándose asociación con el genotipo del virus de la hepatitis C pero sí con la viremia (RNA-VHC). El riesgo calculado para la presencia de autoanticuerpos fue de 5,1 veces mayor en los pacientes con hepatitis crónica por virus C que en los controles.

Nuestro estudio demuestra que existe una alta prevalencia de marcadores serológicos de autoinmunidad en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C independientemente de la situación clínica del paciente, siendo más frecuente en el sexo femenino y con la edad. La presencia de autoanticuerpos a concentraciones bajas parece no ser clínicamente significativo, aunque autores como Bell et al, en un reciente estudio (43), indican que la existencia de autoanticuerpos a concentraciones bajas en la hepatitis crónica por virus C puede ser un factor de riesgo para desarrollar disfunción autoinmune durante el tratamiento con interferón, mientras que su ausencia predeciría un bajo riesgo.

Es difícil conocer si la aparición de reacciones autoinmunes puede contribuir al empeoramiento de la enfermedad hepática, o si la presencia de autoanticuerpos es más bien consecuencia que la causa de la lesión del hígado. El papel del daño autoinmune podría cambiar de acuerdo al patrón de marcadores serológicos que se presente. Así, podría estar ausente cuando los autoanticuerpos son negativos, ser de leve o moderada importancia en los casos de autoinmunidad «viral» o muy relevante

cuando existe concentración alta de autoanticuerpos con reactividad similar a la hallada en la HAI.

Por lo tanto, se deben realizar nuevos estudios de marcadores serológicos de autoinmunidad en la hepatitis crónica por virus C que nos permitan conocer con más precisión el significado de los distintos patrones de autoinmunidad que pueden presentarse, así como su papel en la expresión clínica de la enfermedad.

## Conclusiones

Más del 50% de los pacientes con hepatitis crónica por virus C tienen autoanticuerpos.

El sexo femenino y la infección por virus de la hepatitis C se asocian a su presencia.

La presencia de autoanticuerpos a concentraciones altas se asocia, además, con la edad superior a 45 años.

La infección por virus de la hepatitis C en estos pacientes implica un riesgo 2,3 veces superior a presentar ANA positivos que en los sujetos supuestamente sanos.

La presencia de virus de la hepatitis C en la mujer conlleva un riesgo 1,5 veces mayor de presentar TA-m positivos respecto al grupo control.

Factores genéticos del individuo, más que el genotipo del virus, probablemente condicione la aparición de autoanticuerpos.

Correspondencia:  
M<sup>l</sup>. Alarcón Torres  
Hospital de Gran Canaria  
«Doctor Negrín»  
Servicio de Análisis Clínicos  
C/ Barranco de la Ballena s/n  
35020 Las Palmas de Gran Canaria  
ialator@gobiernodecanarias.org

## Bibliografía

1. Williams RC. Infection and autoimmunity. En: Talal N, ed. Autoimmunity: genetic, immunologic, virologic, and clinical aspects. New York: Academic Press, 1977: 457-9.
2. Oldstone MB. Viruses and autoimmune disease. Scand J Immunol 1997; 46: 320-5.
3. Ada GL, Rosse NR. The initiation and early development of autoimmune diseases. Clin Immunol Immunopathol 1988; 41: 3-9.
4. Schattner A, Rager-Zisman B. Virus induced Autoimmunity. Rev Infect Dis 1990; 12: 204-22.
5. Humbel RL. Autoimmunité, auto-anticorps et maladies auto-immunes. En: Humbel RL. Auto-anticorps et maladies auto-immunes. Paris: Elsevier Ed. 1994; 19-21.
6. Bianchi F. Autoimmune hepatitis: the lesson of the discovery of hepatitis C virus. J Hepatol 1993; 18: 273-5.
7. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Immunologic features and HLA associations in chronic viral hepatitis. Gastroenterology 1995; 108: 157-64.
8. McFarlane IG. Autoimmunity and hepatotropic viruses. Semin Liver Dis 1991; 11: 223-33.
9. Manns MP. Autoinmunidad y virus de la hepatitis C. Gastroenterol y Hepatol 1993; 16: 347-51.
10. Koskinas J, McFarlane BM, Nouri-Aria KT, Tibbs CJ, Mizokami M, Donaldson PT et al. Cellular and humoral immune reactions against autoantigens and hepatitis C viral antigens in chronic hepatitis C. Gastroenterology 1994; 107: 1436-42.
11. Lunel F. Hepatitis C virus and autoimmunity: Fortuitous association or reality? Gastroenterology 1994; 107: 1550-5.
12. Lenzi M, Ballardine G, Fusconi M, Casani F, Selli L, Volta U et al. Type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Lancet 1990; 335: 258-9.
13. Lenzi M, Johnson PJ, McFarlane IG, Ballardini G, Smith HM, McFarlane BM et al. Antibodies to hepatitis C virus in autoimmune liver disease: evidence for geographical heterogeneity. Lancet 1991; 338: 277-80.
14. Michel G, Ritter A, Gerken G, Meyer Zum Buschenfeldel KH, Decker R, Manns MP. Anti-GOR and hepatitis C virus in autoimmune liver diseases. Lancet 1992; 339: 267-9.



15. Lunel F, Abuaf N, Frangeul L, Gripon P, Perrin M, LE Coz Y et al. Liver-kidney microsome antibody type I and hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1992; 16: 630-6.
16. Manns MP, Griffin KJ, Sullivan KF, Johnson EF. LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase. *J Clin Invest* 1991; 88: 1370-8.
17. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis. Evolving concepts and treatment strategies. *Dig Dis Sci* 1995; 40(2): 435-56.
18. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 567-71.
19. Young KK, Resnick RM, Myers TW. Detection of hepatitis C virus RNA by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 882-6.
20. Stuyver L, Rossau R, Wyseur A, Duhamel M, Vanderborgh B, Van Heuverswyn H et al. Typing of hepatitis C virus isolates and characterization of new subtypes using a line probe assay. *J Gen Virol* 1993; 74: 1093-102.
21. Viscuta Vinacua B. Análisis estadístico con SPSS para Windows. Vol II. Ed: Mc Graw Hill 1997: 52-69.
22. Pawlotsky JM, Ben Yahia M, Andre C, Voisin MC, Intrator L, Roudot-Thoraval F et al. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 1994; 19: 841-8.
23. Strassburg CP, Obermayer-Straub P, Manns MP. Autoimmunity in hepatitis C and D virus infection. *J Viral Hepat* 1996; 3: 49-59.
24. Pawlotsky JM, Deforges L, Bretagne S, Andre C, Metreau JM, Thiers V et al. Hepatitis C virus infection can mimic type I autoimmune chronic active hepatitis. *Gut* 1993; 34: S66-68.
25. Magrin S, Craxi A, Fabiano G, Fiorentino G, Almasio P, Palazzo U et al. Hepatitis C virus replication in autoimmune chronic hepatitis. *J Hepatol* 1991; 13: 364-7.
26. Pateron D, Hartmann Dj, Duclos-Valle JC, Jouanolle H, Beaugrand M. Latent autoimmune thyroid disease in patients with chronic HCV hepatitis. *J Hepatol* 1992; 16: 244-5.
27. Haddad J, Deny P, Munz-Gotheil C, Ambrosini JC, Trinchet JC, Pateron D et al. Lymphocytic sialadenitis of Sjögren syndrome associated with chronic hepatitis C virus liver disease. *Lancet* 1992; 339: 321-3.
28. Prieto J, Yuste JR, Beloqui O, Civeira Mp, Riezo JI, Aguirre B et al. Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis C: implication of hepatitis C virus as the cause of the antiphospholipid syndrome. *Hepatology* 1996; 23: 199-204.
29. Hadziyannis SJ. The spectrum of extrahepatic manifestations in hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1997; 4: 9-28.
30. Abuaf N, Lunel F, Giral P, Borotto E, Laperche S, Poupon R et al. Non-organ specific autoantibodies associated with chronic C virus hepatitis. *J Hepatol* 1993; 18: 359-64.
31. Warny M, Brenard R, Cornu C, Tomasi JP, Geubel AP. Anti-neutrophil antibodies in chronic hepatitis and the effect of alpha-interferon therapy. *J Hepatol* 1993; 17: 294-300.
32. Hardanson S, Labrecque DR, Mitros FA et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody in inflammatory bowel and hepatobiliary disease. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 277-81.
33. Rostaing L, Modesto A, Cisterne JM, Izopet J, Oksman F, Duffaut M et al. Serological markers of autoimmunity in renal transplant patients with chronic hepatitis C. *Am J Nephrol* 1998; 18: 50-6.
34. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB, Taswell HF, Homburger HA. Evidence against hepatitis viruses as important causes of severe autoimmune hepatitis in the United States. *J Hepatol* 1993; 18: 342-52.
35. Clifford BD, Donahue D, Smith L, Cable E, Lutttig B, Manns M et al. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; 21: 613-9.
36. 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.
37. Tran A, Quaranta JF, Benzaken S, Thiers V, Chau Ht, Hastier P et al. High prevalence of thyroid autoantibodies in a prospective series of patients with chronic hepatitis C before interferon therapy. *Hepatology* 1993; 18: 253-7.
38. Huang MJ, Tsai SL, Huang BY, Shenn IS, Yeh CT, Liaw YF et al. Prevalence and significance of thyroid autoantibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: a prospective controlled study. *Clin Endocrinol* 1999; 50: 503-9.
39. Pena MJ, Mosquera MM, Perez MC, Rodriguez San Roman JL, Martin JM, Avalos O et al. Prevalencia de genotipos del virus de la hepatitis: epidemiología y características histológicas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1998; 16: 456-60.
40. Pawlotsky JM, Roudot-Thoraval F, Simmonds P, Mellor J, Ben Yahia MB, Andre C et al. Extrahepatic immunologic manifestations in chronic hepatitis C and hepatitis C virus serotypes. *Ann Intern Med* 1995; 122: 169-73.
41. Luo JC, Hwang SJ, Li CP, Lu RH, Chan CY, Wu JC et al. Clinical significance of serum autoantibodies in Chinese patients with chronic hepatitis C: Negative role of serum viral titre and genotype. *J Gastroenterol and Hepatol* 1998; 13: 475-79.
42. Lenzi M, Bellentani S, Saccoccio G, Muratori P, Masutti F, Muratori L et al. 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; 45: 435-41.
43. Bell TM, Bansal AS, Shorthouse C, Sanford N, Powell EE. Low titre autoantibodies predict autoimmune disease during interferon-alpha treatment of chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 419-22.