

Αυτοαντισώματα και αυτοαντιγόνα σχετιζόμενα με την αυτοάνοση ηπατίτιδα και την επαγόμενη από τους ιούς ηπατιτίδων αυτοάνοση απόκριση
Σημαντικά εργαλεία στην κλινική πράξη και στη μελέτη της παθογένειας των αυτοάνοσων ηπατικών παθήσεων

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) αποτελεί μια όχι ιδιαίτερα σπάνια (επιπολασμός στη βόρεια Ευρώπη που κυμαίνεται μεταξύ 160–170 περιπτώσεων/10⁶ κατοίκους) χρόνια νεκροφλεγμονώδη ηπατική νόσο άγνωστης αιτιολογίας, που οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή του ήπατος, με αποτέλεσμα τη συχνή μετάπτωση σε κίρρωση και την αυξημένη θνητότητα, ιδιαίτερα αν η νόσος δεν διαγνωστεί έγκαιρα και αφηθεί χωρίς θεραπεία. Η νόσος χαρακτηρίζεται από την παρουσία (α) ανθρώπινων ηευκοκυτταρικών αντιγόνων (HLA A1-B8-DR3 και HLA DR4), (β) σημαντικού βαθμού υπεργαμμασφαιριναιμίας και (γ) διαφόρων μη οργανοειδικών αυτοαντισωμάτων (non-organ specific autoantibodies), καθώς και σχετιζόμενων με το ήπαρ αυτοαντισωμάτων (liver-related autoantibodies). Η αιτιολογία της νόσου είναι άγνωστη. Η ανίχνευση των ανωτέρω αυτοαντισωμάτων εξακολουθεί να αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο για τη διάγνωση της ΑΗ σε ασθενείς με χρόνια ή οξεία ηπατική νόσο και απουσία ιολογικών, μεταβολικών, γενετικών και τοξικών παραγόντων σχετιζόμενων με ηπατική βλάβη. Περιγράφεται η τρέχουσα ταξινόμηση και τα διάφορα αυτοαντισώματα και τα αυτοαντιγόνα-στόχοι αυτών, που έχουν αναφερθεί στην ΑΗ, καθώς και οι τρέχουσες απόψεις σχετικά με τη σημασία των ανωτέρω δεικτών στη διαφορική διάγνωση και τη μελέτη της παθογένειας της ΑΗ. Η ΑΗ ταξινομείται σε δύο κύριες υποκατηγορίες, την ΑΗ τύπου 1 (ΑΗ-1) και την ΑΗ τύπου 2 (ΑΗ-2). Η πρώτη χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντισωμάτων έναντι θείων μυϊκών ινών (SMA) ή και αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA). Η ανίχνευση αντισωμάτων κατά του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA), αντισωμάτων κατά του υποδοχέα της ασιαθλογλυκοπρωτεΐνης (αντι-ASGP-R) και αντισωμάτων κατά διαλυτών αντιγόνων ήπατος ή ήπατος-παγκρέατος (αντι-SLA/LP) μπορεί να βοηθήσει στην ταυτοποίηση ασθενών με ΑΗ που είναι αρνητικοί για ANA/SMA. Η ΑΗ-2 χαρακτηρίζεται από την παρουσία ειδικών αυτοαντισωμάτων κατά μικροσωμίων ήπατος-νεφρών (αντι-LKM-τύπου 1 ή σπάνια τύπου 3) ή και αντισωμάτων κατά κυτοσωμίων ήπατος τύπου 1 (αντι-LC1). Τα αντι-LKM-1 και αντι-LKM-3 ανιχνεύονται επίσης σε ορισμένους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (HCV) ή D, αντίστοιχα. Το κυτόχρωμα P450 2D6 (ΚΥΤΡ450 2D6) έχει χαρακτηριστεί ως το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LKM-1 στις περισσότερες περιπτώσεις τόσο ΑΗ-2 όσο και HCV-λοίμωξης. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει την έκφραση του ΚΥΤΡ450 2D6 στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, υποδεικνύοντας έναν ενδεχόμενο ρόλο αυτών των αντισωμάτων στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης ασθενών με ΑΗ ή αντι-LKM-1(+)/HCV(+) ασθενών. Το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LKM-3 έχει ταυτοποιηθεί ως η οικογένεια 1 των UDP-γλυκουρονικών τρανσφερασών. Για τους παραπάνω λόγους, η διάκριση μεταξύ ΑΗ και χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας (ειδικά της HCV-λοίμωξης) έχει

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2004, 21(6):502–527
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2004, 21(6):502–527

Γ.Ν. Νταλιέκος

Ερευνητικό Εργαστήριο Παθολογίας
και Ηπατολογικό Ιατρείο, Ιατρικό Τμήμα,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Autoantibodies and autoantigens associated with autoimmune hepatitis and viruses-induced autoimmune response: Significant tools in clinical practice and in the study of pathogenesis of autoimmune hepatic diseases

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

ANA
ANCA
Αντι-ASGP-R
Αντι-LC1
Αντι-LKM
Αντι-LM
Αντι-SLA/LP
Αυτοάνοση ηπατίτιδα
Ηπατίτιδα C
Ηπατίτιδα D
Κυτόχρωμα P450 1A2
Κυτόχρωμα P450 2A6
Κυτόχρωμα P450 2D6
SMA
Σύνδρομο αυτοάνοσης
πολυενδοκρινολογίας τύπου 1
Φορμυνοτρανσφεράση
της κυκλοδεαμινάσης
UDP-γλυκουρονική τρανσφεράση
UGA-suppressor-tRNA

ιδιαίτερη κλινική σημασία. Πρόσφατα, ταυτοποιήθηκε το αυτοαντιγόνο των αντι-SLA/LP ως μια πρωτεΐνη 50 kDa (UGA-suppressor tRNA). Το αυτοαντιγόνο των αντι-LC1 έχει επίσης προσδιοριστεί ως η φορμιννοτρανσφεράση της κυκλοδεαμινάσης, που αποτελεί ειδικό ένζυμο του ήπατος. Μέχρι στιγμής, μόνο οι τίτλοι των αντι-ASGP-R και των αντι-LC1 αυτοαντισωμάτων φαίνεται να έχουν κλινική σημασία, καθώς σχετίζονται με τη βαρύτητα της ΑΗ, την απάντηση στη θεραπεία, καθώς και την πρόγνωση ενδεχόμενων υποτροπών μετά από τη διακοπή της ανοσοκαταστολής. Το γεγονός αυτό πιθανόν να υποδηλώνει συμμετοχή των αντι-ASGP-R και των αντι-LC1 στην παθογένεια της ηπατοκυτταρικής βλάβης. Σε γενικές γραμμές, όμως, τα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στην ΑΗ δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως δείκτες παρακολούθησης της νόσου, καθώς δεν αποτελούν προγνωστικούς δείκτες της δραστηριότητας του νοσήματος ή της έκβασής του. Εκτενής αναφορά γίνεται επίσης στις τρέχουσες απόψεις μιας ειδικής μορφής ΑΗ, που αναπτύσσεται σε ένα σπάνιο γενετικό σύνδρομο, το σύνδρομο της αυτοάνοσης πολυενδοκρινολογικής τύπου 1, που συνδυάζεται με υποτροπιόζουσα καντιντίαση βλεννογόνων-δέρματος και εξωδερματική δυστροφία (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome, APECED). ΑΗ παρατηρείται στο 10–20% των περιπτώσεων APECED. Τα χαρακτηριστικά αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στην ΑΗ στο πλαίσιο του APECED είναι κατά μικροσωμίων ήπατος (αντι-LM). Παρόμοια αυτοαντισώματα έχουν βρεθεί σε περιπτώσεις φαρμακευτικής ηπατίτιδας από διυδραθαζίνη. Και στις δύο καταστάσεις, το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LM είναι το κυτόχρωμα P450 1A2. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι παρόμοιοι αυτοάνοσοι μηχανισμοί μπορεί να οδηγήσουν σε ηπατοκυτταρική καταστροφή σε γενετικά ευαίσθητα άτομα ανεξάρτητα από την πρωτογενή διαταραχή. Ο χαρακτηρισμός του «ρεπερτορίου» του συστήματος «αυτοαντιγόνο-αυτοαντίσωμα» συνεχίζει να αποτελεί ένα ελκυστικό και σημαντικό εργαλείο πρόσβασης για την ορθή διάγνωση και για τη σε βάθος μελέτη του μέχρι στιγμής άλυτου μυστηρίου της ρήξης της ηπατικής ανοσοακτικής ανοχής, που οδηγεί στην έναρξη και στην κλινική έκφραση της ΑΗ.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) αποτελεί μια σχετικά σπάνια χρόνια νεκροφλεγμονώδη ηπατική νόσο άγνωστης αιτιολογίας, που χαρακτηρίζεται από τη μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά στα επιδημιολογικά, γενετικά, κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών.¹ Ο μέσος υπολογιζόμενος επιπολασμός της νόσου στη βορειοδυτική Ευρώπη υπολογίζεται σε 160–170 ασθενείς/1.000.000 κατοίκους, ενώ η μέση ετήσια επίπτωση κυμαίνεται μεταξύ 0,7–1,9 νέες περιπτώσεις/100.000 κατοίκους.^{2–4} Το γεγονός αυτό εξηγεί γιατί το 10–20% περίπου του συνόλου των χρόνιων ηπατοπαθειών στη βόρεια Αμερική οφείλονται στην ΑΗ.^{4,5} Στη χώρα μας δεν υπάρχουν σαφή και ακριβή στοιχεία όσον αφορά στην επιδημιολογία της νόσου.⁶

Η ΑΗ επικρατεί μεταξύ των γυναικών (αναλογία ανδρών:γυναικών 1:4) και χαρακτηρίζεται από την παρουσία σημαντικού βαθμού διάχυτης υπεργαμμασφαιριναιμίας ακόμα και σε απουσία κίρρωσης, ανθρώπινων λευκοκυτταρικών αντιγόνων (HLA A1-B8-DR3 και HLA DR4) και διαφόρων μη οργανοειδικών αυτοαντισωμάτων (non-organ specific autoantibodies), καθώς και σχετιζόμενων με το ήπαρ αυτοαντισωμάτων (liver-related autoantibodies).^{5,7,8} Η νόσος ανταποκρίνεται ευνοϊκά στη χορήγηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής, αλλά αν δεν διαγνωστεί έγκαιρα και αφηθεί χωρίς θεραπεία οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή του ήπατος, με αποτέλεσμα τη συχνή μετάπτωση σε κίρρωση και την αυξημένη θνητότητα.^{4,5,7–9}

Η έναρξη της ΑΗ στις περισσότερες περιπτώσεις (60%) είναι ύπουλη, καθώς υπάρχουν για μεγάλο χρονικό διάστημα πριν από τη διάγνωση γενικά, μη ειδικά συμπτώ-

ματα, όπως κακουχία, ανορεξία, απώλεια βάρους, αρθραλγίες και μυαλγίες, αίσθημα αδυναμίας και εύκολης κόπωσης. Μέτριου βαθμού πυρετική κίνηση μπορεί να παρατηρηθεί (συνήθως έως 38 °C, αν και σπανιότερα έχει αναφερθεί έως και 40 °C).^{4,5,7,10–13} Στην κλινική εξέταση διαπιστώνονται συνήθως υπερτρίχωση, σταγονοειδής ακμή, πολλαπλές τηλεαγγειεκτασίες και ηπατοσπληνομεγαλία. Επίσης, μπορεί να συνυπάρχουν αμυγδαλίτις και ίκτερος. Δυστυχώς, οι περισσότεροι ασθενείς έχουν ήδη αναπτύξει κίρρωση τη στιγμή της διάγνωσης.^{4–6} Εντούτοις, ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών εμφανίζει κλινική εικόνα παρόμοια με αυτή της οξείας ιογενούς ηπατίτιδας (σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις χωρίς ίκτερο), ενώ σπάνια –και ιδιαίτερα σε παιδιά ηλικίας <10 ετών– μπορεί να εκδηλωθεί με τη μορφή οξείας κεραυνοβόλου ηπατικής ανεπάρκειας (2–8% του συνόλου των περιπτώσεων ΑΗ).^{4,5,11–13} Τέλος, σε ένα άγνωστο ποσοστό ασθενών η διάγνωση της ΑΗ τίθεται μετά από τυχαία κλινική ή εργαστηριακή εξέταση (ασυμπτωματική μορφή ΑΗ).

Πρέπει να τονιστεί ότι σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών η διάγνωση γίνεται στα τελικά στάδια της νόσου, οπότε κυριαρχεί η σημειολογία της κίρρωσης με ή χωρίς συνοδό πυλαία υπέρταση. Οι περιπτώσεις αυτές θεωρούνταν μέχρι πρόσφατα, μάλλον εσφαλμένα, ως κρυπτογενείς. Ενισχυτικά της παραπάνω θεώρησης αποτελούν τα ευρήματα των Kaymakoglu et al,¹⁴ καθώς και πρόδρομες μελέτες από τη χώρα μας,⁶ οι οποίες δείχνουν ότι σημαντικό ποσοστό των χρόνιων κρυπτογενών ηπατίτιδων ή και κίρρωσεων οφείλονται σε ΑΗ. Αντίθετα, οι Caldwell et al¹⁵ καθώς και οι Poonawala et al¹⁶ έχουν δείξει ότι η μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα

αποτελεί το σημαντικότερο μάλλον παράγοντα κινδύνου μετάπτωσης σε κίρρωση σε ασθενείς με κρυψιγενή χρόνια ηπατίτιδα στις ΗΠΑ.

Η ΑΗ μπορεί να συνδυάζεται με πολυάριθμα αυτοάνοσα νοσήματα ή σύνδρομα, όπως η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Hashimoto (η πιο συχνή διαταραχή), η νόσος Graves, η ελκώδης κολίτιδα, η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, το σύνδρομο Sjögren, η πολυμυοσίτιδα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η μικτή νόσος του συνδετικού ιστού κ.ά.^{5,7,8,11,12,17,18} Παρόμοιες αυτοάνοσες διαταραχές παρουσιάζουν συνήθως οι πρώτου βαθμού συγγενείς των ασθενών.^{4,5,8,11,12} Η νόσος μπορεί να υποτροπιάσει μετά από μεταμόσχευση ήπατος¹⁹ ή, σπάνια, να εμφανιστεί *de novo* στο μόσχευμα.²⁰

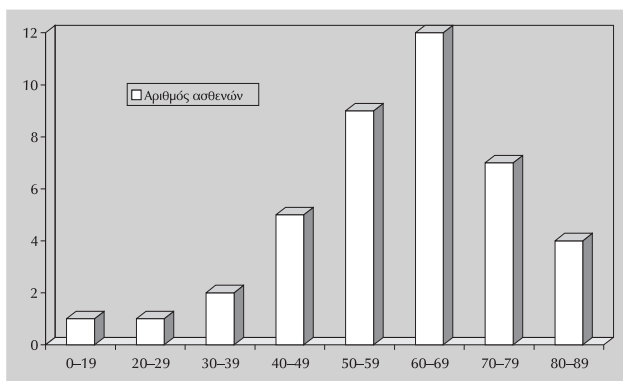
Η ηλικιακή κατανομή των ασθενών κατά τη στιγμή της προσβολής φαίνεται να μην είναι αυτή που πιστευόταν μέχρι πρόσφατα. Το αρχέτυπο νεαρό κορίτσι με τις συνοδές ενδοκρινολογικές διαταραχές που έπασχε από ΑΗ φαίνεται μάλλον να αποτελεί την εξαίρεση, καθώς πρόσφατες μελέτες από την Ιαπωνία, την Ουαλία αλλά και τη χώρα μας έδειξαν ότι οι περισσότεροι ασθενείς κατά την προσβολή της νόσου είναι ηλικίας μεταξύ 50–70 ετών (εικόνες 1 και 2).^{6,10–13,21–24}

Η ιστολογική εικόνα του ήπατος δεν είναι παθολογική για την ΑΗ, ενώ δεν υπάρχει ένας απλός ορολογικός δείκτης με σημαντική ειδικότητα για τη διάγνωση της νόσου, όπως για παράδειγμα συμβαίνει για τη διάγνωση των ιογενών ηπατιτίδων Α έως Ε.^{13,17} Επιπλέον, αν και η ανίχνευση διαφόρων αυτοαντισωμάτων αποτελεί σημαντικό ενισχυτικό στοιχείο για τη διάγνωση της ΑΗ, δεν φαίνεται να υπάρχει κάποιο αυτοαντίσωμα με αντίστοιχη διαγνωστική σημασία και ειδικότητα με εκείνη που παρουσιάζουν τα αντιμυτοχονδριακά αντισώματα (AMA) για τη διάγνωση της πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης (ΠΧΚ).^{13,17,25} Για τους παραπάνω λό-

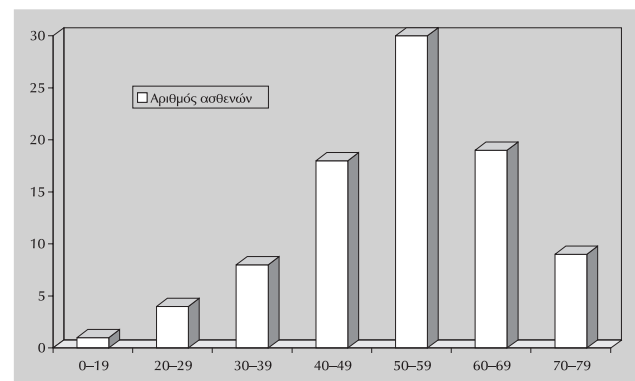
γους, τα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στην ΑΗ δεν μπορούν από μόνα τους να αποτελέσουν τους μοναδικούς δείκτες για τη διάγνωση της ΑΗ. Ουσιαστικά, η διάγνωση της ΑΗ είναι μια διάγνωση «εξ αποκλεισμού» άλλων παραγόντων (ιογενών, μεταβολικών, τοξικών, γενετικών) που οδηγούν σε χρόνιες ηπατοπάθειες.^{11,13}

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, γίνεται σαφές ότι η διάγνωση της ΑΗ είναι μερικές φορές δύσκολη.^{12,13} Το 1992, η Διεθνής Ομάδα Μελέτης της ΑΗ δημοσίευσε ένα περιγραφικό «πακέτο» κριτηρίων, το οποίο θα μπορούσε να εφαρμοστεί στην κλινική πράξη για τη διάγνωση και ταξινόμηση ασθενών που έπασχαν από «σίγουρη» ή «πιθανή» ΑΗ.²⁶ Επιπρόσθετα, υιοθετήθηκε ένα διαγνωστικό σύστημα βαθμολόγησης σε μια προσπάθεια αντικειμενικής επιλογής σχετικά ομοιογενούς ομάδας ασθενών με ΑΗ για ερευνητικούς σκοπούς.²⁶ Στα τέλη του 1998, η ίδια ομάδα τροποποίησε και απλούστευσε σημαντικά τα παραπάνω κριτήρια για τη διάγνωση της ΑΗ (πίνακες 1 και 2).¹¹ Η ερμηνεία αυτού του συστήματος βαθμολόγησης έχει ως ακολούθως: «Σίγουρη» ΑΗ, όταν το άθροισμα είναι >15 πριν από την έναρξη ανοσοκατασταλτικής αγωγής και >17 μετά από θεραπεία. «Πιθανή» ΑΗ, όταν το άθροισμα κυμαίνεται μεταξύ 10–15 πριν από την έναρξη θεραπείας και 12–17 μετά από θεραπεία. Οι σημαντικές παρατηρήσεις του πίνακα 2 (1–12) εξηγούνται στους πίνακες 3 και 4. Τα συστήματα αυτά υποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι η παρουσία συγκεκριμένων αυτοαντισωμάτων αποτελεί ένα σημαντικό στοιχείο για τη διάγνωση της ΑΗ, αλλά όχι το μόνο διαγνωστικό «εργαλείο».^{11,13,17,25,26}

Παρόλα αυτά, τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος σχετικά με το χαρακτηρισμό των σχετιζόμενων με το ήπαρ αυτοαντιγόνων-στόχων (liver-related target-autoantigens). Αυτό έχει οδηγήσει στην παρατήρηση ότι ορισμένα από τα μείζονα αυτοαντιγό-



Εικόνα 1. Κατανομή ασθενών με αυτοάνοση ηπατίτιδα κατά ηλικία (έτη).²¹



Εικόνα 2. Κατανομή ασθενών με αυτοάνοση ηπατίτιδα κατά ηλικία (έτη).¹⁰

Πίνακας 1. Τροποποιημένα περιγραφικά κριτήρια για τη διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας (ΑΗ).¹¹

Χαρακτηριστικά	Σίγουρη ΑΗ	Πιθανή ΑΗ
Βιοψία ήπατος	Περιπυλαία ηπατίτιδα μέτριας ή έντονης δραστηριότητας με ή χωρίς λοβιακή ηπατίτιδα ή πυλαιοφλεβική γεφυροποίηση νέκρωση, αλλά χωρίς κοκκιώματα, βλάβες χοληφόρων ή βλάβες που να συνηγορούν για άλλη αιτιολογία	Ίδια όπως και στη «σίγουρη ΑΗ»
Βιοχημικοί δείκτες	Τρανσαμινασαιμία, ιδιαίτερα (όχι όμως αποκλειστικά) με φυσιολογική ή ήπια αυξημένη αλκαλική φωσφατάση. Σερουλοπλασμίνη, α ₁ -αντιθρυψίνη, χαλκός: φυσιολογικά	Ίδια όπως και στη «σίγουρη ΑΗ». Μπορούν να περιλαμβάνονται ασθενείς με παθολογική σερουλοπλασμίνη ή με αυξημένο χαλκό ορού (προϋπόθεση ο αποκλεισμός νόσου Wilson)
Ανοσοσφαιρίνες ορού	Αύξηση 1,5× από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια των ολικών σφαιρινών, των γ-σφαιρινών ή των IgG ανοσοσφαιρινών	Οποιαδήποτε αύξηση ολικών σφαιρινών, γ-σφαιρινών ή IgG ανοσοσφαιρινών
Αυτοαντισώματα	Οροθετικότητα (>1:80) για ANA, SMA ή αντι-LKM-1. AMA αρνητικά. Χαμηλότεροι τίτλοι μπορεί να είναι σημαντικοί στα παιδιά	Ίδια όπως και στη «σίγουρη ΑΗ», αλλά σε τίτλους= 1:40. Μπορούν να περιλαμβάνονται ασθενείς αρνητικοί γι' αυτά τα αυτοαντισώματα αλλά θετικοί για άλλα (π.χ. p-ANCA, αντι-SLA/LP)
Ιολογικοί δείκτες	Οροαρνητικοί δείκτες για HAV, HBV και HCV-λοίωξη	Ίδια όπως και στη «σίγουρη ΑΗ»
Άλλοι αιτιολογικοί παράγοντες	Κατανάλωση αλκοόλ <25 g/ημέρα. Μην χρήση γνωστών ηπατοτοξικών παραγόντων	Κατανάλωση αλκοόλ <50 g/ημέρα. Μην χρήση ηπατοτοξικών παραγόντων. Ασθενείς που υπερβαίνουν τα 50 g μπορεί να περιλαμβάνονται, εφόσον η ηπατική βλάβη συνεχίζεται παρά τη διακοπή του αλκοόλ ή του ηπατοτοξικού παράγοντα

Οι συντμήσεις είναι όμοιες, όπως περιγράφονται στο κείμενο

να-στόχοι στην ΑΗ είναι ενεργά μικροσωματικά ένζυμα μεταβολισμού φαρμάκων, τοξικών ουσιών κ.λπ.^{17,25,27} Τα ένζυμα αυτά χρησιμεύουν στην έρευνα αυτής της αιτιολογικής ηπατικής νόσου. Η παρούσα ανασκόπηση θα εστιάσει στην υπάρχουσα πληροφορία που έχει αναδυθεί από το χαρακτηρισμό του «συστήματος» αυτοαντιγόνο-αυτοαντίσωμα στην ΑΗ, αλλά και σε ορισμένες περιπτώσεις χρονίων ιογενών ηπατιτίδων, παραθέτοντας τις τρέχουσες απόψεις για το ρόλο και τη σημασία αυτού του συστήματος στη διαφορική διάγνωση και τη μελέτη της παθογένειας της ΑΗ.

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ

Το 1994, ανάλογα με τα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται σε ασθενείς με ΑΗ, προτάθηκε η υποδιαίρεση της νόσου σε τρεις κύριους τύπους.^{5,13,28,29} Η ΑΗ τύπου 1 (ΑΗ-1) χαρακτηρίζεται κυρίως από την παρουσία αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA) ή και αντισωμάτων έναντι λείων μυϊκών ινών (SMA) και ήταν γνωστή παλαιότερα με τον όρο «κλασική ή λυκοειδής» ΑΗ, γιατί είχαν βρεθεί κύτταρα λύκου στον ορό των ασθενών.^{1,5,7,11} Πολύ συχνά, επίσης, ανιχνεύονται αντισώματα κατά του κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων (συν-

θέστερα με περιπυρηνικό φθορισμό, p-ANCA).^{5,8,11,17,25} Η ΑΗ τύπου 2 (ΑΗ-2) χαρακτηρίζεται κυρίως από την παρουσία ειδικών αυτοαντισωμάτων κατά μικροσωματικών αντιγόνων ήπατος-νεφρών (liver kidney microsomal antibodies, αντι-LKM τύπου 1 ή, σπάνια, τύπου 3)^{17,25,27,30} ή και αυτοαντισωμάτων κατά κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 (antibodies against liver cytosol type 1, αντι-LC1).^{17,25,31} Η ΑΗ τύπου 3 (ΑΗ-3) χαρακτηρίζεται από την ανίχνευση αντισωμάτων κατά διαλυτών ηπατικών αντιγόνων (antibodies against soluble liver antigens, αντι-SLA)³² ή κατά αντιγόνου ήπατος-παγκρέατος (antibodies against liver-pancreas antigen, αντι-LP).^{33,34}

Η μεγάλη ορολογική ετερογένεια των αυτοαντισωμάτων που ανιχνεύονται στην ΑΗ ενισχύει την αναγκαιότητα της ανωτέρω ταξινόμησης και δίνει ένα «σκελετό» για την επιστημονική ανάλυση αυτής της ετερογενούς ομάδας ασθενών.^{5,25} Επιπλέον, υποδεικνύει ότι η ΑΗ μπορεί να μην είναι μία μόνο νόσος με έναν υποκείμενο παθογενετικό μηχανισμό, αλλά πιο πιθανό μια ομάδα νόσων με παρόμοια κλινική έκφραση.^{17,25} Το τελευταίο υποστηρίζεται περαιτέρω από την ύπαρξη μιας ασυνήθους μορφής ΑΗ στο 10-20% των ασθενών με μια σπάνια γενετική πάθηση, το σύνδρομο αυτοάνοσης πολυενδοκρινοπάθειας τύπου 1 που συνδυάζεται με υπο-

Πίνακας 2. Τροποποιημένο σύστημα βαθμολόγησης για τη διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας (ΑΗ).¹¹

Παράμετρος/Χαρακτηριστικά	Βαθμός	Παρατηρήσεις
Φύλο: Θήλυ	+2	
Λόγος ALP/AST (ή ALT)		1
<1,5	+2	
1,5-3,0	0	
>3,0	-2	
Αύξηση ολικών σφαιρινών ή IgG		
>2,0× της ανώτερης φυσιολογικής	+3	
1,5-2,0× της ανώτερης φυσιολογικής	+2	
1,0-1,5× της ανώτερης φυσιολογικής	+1	
<1,0× της ανώτερης φυσιολογικής	0	
ANA, SMA ή αντι-LKM-1		2
Τίτλος >1:80	+3	
Τίτλος 1:80	+2	
Τίτλος 1:40	+1	
Τίτλος <1:40	0	
AMA: Θετικά	-4	
Δείκτες ιογενών ηπατιτίδων		3
Θετικοί/Αρνητικοί	-3/+3	
Χρήση ηπατοτοξικών παραγόντων		4
Ναι/Όχι	-4/+1	
Μέση κατανάλωση αλκοόλ		
<25 g/ημέρα	+2	
>60 g/ημέρα	-2	
Βιοψία ήπατος		
Περιπυλαία ηπατίτιδα	+3	
Διήθηση κυρίως από λεμφοκύτταρα ή και πλάσματοκύτταρα	+1	
Σχηματισμός ροζετών	+1	
Τίποτα από τα παραπάνω	-5	
Βλάβες χοληφόρων	-3	5
Άλλες βλάβες	-3	6
Άλλες αυτοάνοσες νόσοι	+2	7
Άλλες παράμετροι		8
Οροθετικότητα για άλλα αυτοαντισώματα	+2	9
HLA DR3 ή DR4	+1	10
Απόκριση στη θεραπεία		11
Πλήρης	+2	12
Υποτροπή	+3	12

τροπιάζουσα καντιντίαση βλεννογόνων-δέρματος και εξω-δερματική δυστροφία (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome, APECED).³⁵⁻⁴²

Πίνακας 3. Επεξήγηση των παρατηρήσεων του πίνακα 2.¹¹

1. Η σχέση ALP:AST (ή ALT) αναφέρεται στο βαθμό αύξησης πάνω από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια (ΑΦΟ), π.χ. (IU/L ALP/ΑΦΟ ALP):(IU/L AST/ΑΦΟ AST)
2. Με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού σε παρασκευάσματα αρουραίων ή για τα ANA και σε Hep-2 κύτταρα. Χαμηλότεροι τίτλοι (ιδιαίτερα των αντι-LKM-1) είναι σημαντικοί στα παιδιά και πρέπει να βαθμολογούνται τουλάχιστον με +1
3. Θετική ή αρνητική δοκιμασία για IgM αντι-HAV, HBsAg, IgM αντι-HBc, αντι-HCV και HCV-RNA. Εάν υπάρχει υποψία για λοίμωξη με άλλους -δυσνητικά ηπατοτρόπους ιούς- τότε μπορεί να γίνει έλεγχος (π.χ. για CMV και EBV)
4. Ιστορικό πρόσφατης ή τρέχουσας χρήσης γνωστών ή ύποπτων ηπατοτοξικών παραγόντων
5. Αναφέρονται σε βλάβες τυπικές για πρωτοπαθή χολική κίρρωση ή πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα ή και σημαντική περιπυλαία αντίδραση στα χοληφόρα με συνοδό αυξημένη συγκέντρωση χαλκού
6. Οποιαδήποτε άλλη αλλοίωση συμβατή με άλλης αιτιολογίας ηπατοπάθεια
7. Ιστορικό άλλων αυτοάνοσων νόσων ή συνδρόμων στον ασθενή ή στους συγγενείς πρώτου βαθμού
8. Οι βαθμοί για τα άλλα αυτοαντισώματα και τα HLA DR3 και DR4 προστίθενται μόνον όταν τα ANA, SMA και αντι-LKM-1 είναι αρνητικά
9. Περιλαμβάνουν τα p-ANCA, αντι-LC1, αντι-SLA/LP, αντι-ASGP-R και αντισώματα κατά σουλφατιδής (γλυκοσφιγγολιπίδιο της πλασματοκυτταρικής μεμβράνης των ηπατοκυττάρων)
10. Ισχύουν κυρίως για ασθενείς από τη βόρεια Ευρώπη και την Ιαπωνία. Ένας βαθμός μπορεί να προστεθεί για άλλα HLA τάξης II, για τα οποία υπάρχει δημοσιευμένη πληροφορία συσχέτισης με αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) σε άλλους πληθυσμούς
11. Εκτίμηση της απόκρισης στη θεραπεία (πίν. 4) μπορεί να γίνει οποτεδήποτε. Βαθμοί προστίθενται, όταν βελτιώνονται κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά που είχε ο ασθενής κατά την αρχική πρώτη επίσκεψη
12. Η πλήρης απόκριση στη θεραπεία και η υποτροπή ορίζονται στον πίνακα 4

Οι συντμήσεις είναι όμοιες, όπως περιγράφονται στο κείμενο

Εντούτοις, λόγω πρόσφατων κλινικών, ορολογικών και γενετικών ευρημάτων, προτάθηκε ότι οι ασθενείς με ΑΗ-3 δεν αποτελούν ιδιαίτερη υποομάδα ασθενών με ΑΗ, αλλά μάλλον ανήκουν στην ίδια ομάδα ασθενών με τους πάσχοντες από ΑΗ-1.^{5,11,28,43,44} Έτσι, προτείνεται πλέον η ταξινόμηση της ΑΗ σε δύο κύριες υποκατηγορίες, την ΑΗ-1, με θετικά ANA, SMA, p-ANCA ή και αντι-SLA/LP, και την ΑΗ-2, με θετικά αντι-LKM-1, αντι-LKM-3 ή και αντι-LC1 (πίν. 5).

Εκτός από τις ορολογικές διαφορές, η ΑΗ-2 φαίνεται να διαφέρει τόσο στην κλινική έκφραση όσο και στο γενετικό υπόβαθρο σε σχέση με την ΑΗ-1.^{5,13,17} Πράγματι, οι ασθενείς με ΑΗ-2 είναι νεότεροι κατά την εκδήλωση της νόσου, συνήθως έχουν υψηλές τιμές χολερυθρίνης και τρανσαμινασών και εμφανίζουν βαριά νόσο

Πίνακας 4. Πλήρης ανταπόκριση και υποτροπή στην αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ).¹¹

Ανταπόκριση	Ορισμός
<i>Πλήρης</i>	Ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω: (α) Σημαντική βελτίωση συμπτωμάτων και επάνοδος χολερυθρίνης, AST, ALT και σφαιρινών στα φυσιολογικά όρια εντός 1 έτους, με παραμονή στις φυσιολογικές τιμές για επιπρόσθετο διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών και ενώ χορηγείται θεραπεία συντήρησης. (β) Βιοψία ήπατος οποτεδήποτε στο παραπάνω διάστημα που να δείχνει ελάχιστη δραστηριότητα
<i>Υποτροπή</i>	Ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω: (α) Αύξηση AST ή ALT >2× ανώτερων φυσιολογικών τιμών. (β) Βιοψία ήπατος που να δείχνει ενεργό νόσο με ή χωρίς επανεμφάνιση των συμπτωμάτων, μετά από πλήρη ανταπόκριση

Οι συντμήσεις είναι όμοιες, όπως περιγράφονται στο κείμενο

Πίνακας 5. Κλινικά, ορολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά αυτοάνοσης ηπατίτιδας (ΑΗ) τύπου 1 (ΑΗ-1) και τύπου 2 (ΑΗ-2).^{5,13}

Τύπος ΑΗ	ΑΗ-1	ΑΗ-2
<i>Χαρακτηριστικά αυτοαντισώματα</i>	ANA, SMA p-ANCA αντι-ASGP-R αντι-SLA/LP	αντι-LKM-1 αντι-LKM-3 αντι-LC1 αντι-ASGP-R
<i>Ηλικία προσβολής</i>	Κυρίως ενήλικες HLA DR3(+): Συσχέτιση με πρόωμη προσβολή ΑΗ (<30 έτη) HLA DR4 (+): Συσχέτιση με όψιμη προσβολή ΑΗ (>30 έτη)	Κυρίως παιδιά και νεαροί ενήλικες
<i>Βιοχημικοί δείκτες κατά τη διάγνωση</i>	Χαμηλότερες τιμές χολερυθρίνης Χαμηλότερες AST, γ-GT Υψηλότερες τιμές IgA Χαμηλό C4	Υψηλότερες τιμές χολερυθρίνης, AST, γ-GT, χαμηλότερες τιμές IgA, χαμηλό C4
<i>Ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία</i>	Σε γενικές γραμμές καλή. 20% παρατεταμένη ύφεση μετά από διακοπή της θεραπείας. HLA DR4: Καλύτερη απόκριση HLA DR3: Συχνότερες υποτροπές, συχνότερη εξέλιξη σε κίρρωση	Σε γενικές γραμμές καλή. Όχι παρατεταμένη ύφεση μετά από διακοπή της θεραπείας. Εξέλιξη σε κίρρωση συχνή
<i>Γενετική προδιάθεση</i>	HLA A1-B8-DR3 και HLA DR4 Γυναικείο φύλο	HLA DR3, HLA DQ2 Γυναικείο φύλο
<i>Εξωηπατικές αυτοάνοσες εκδηλώσεις</i>	20-30% (πιο συχνές σε ενήλικες DR4-θετικούς από ό,τι σε ενήλικες DR3-θετικούς)	20-30%

Οι συντμήσεις είναι όμοιες, όπως περιγράφονται στο κείμενο

συγκρινόμενοι με τους ασθενείς με ΑΗ-1 (πίν. 5).^{5,11,17,30,45} Επιπρόσθετα, αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στους ασθενείς με ΑΗ-1, οι ασθενείς με ΑΗ-2 σπάνια παραμένουν σε μακροχρόνια ύφεση μετά από τη διακοπή της ανοσοκατασταλτικής αγωγής.^{9,45} Όσον αφορά στους γενετικούς παράγοντες, βρέθηκε ότι η συσχέτιση μεταξύ HLA DR3 και ΑΗ-2 ήταν μικρότερη σε σχέση με αυτή που παρατηρείται στην ΑΗ-1, ενώ έχει αναφερθεί συσχέτιση με-

ταξύ ΑΗ-2 και HLA DQ2.^{17,30,45,46} Παρόλα αυτά, οι ασθενείς με ΑΗ-2 αποτελούν μόνο ένα μικρό ποσοστό του συνόλου των ασθενών με ΑΗ (10%).^{5,8,9,11} Επιπλέον, η μακροχρόνια έκβαση στο σύνολο των ασθενών φαίνεται να είναι παρόμοια τόσο στην ΑΗ-1 όσο και στην ΑΗ-2.^{11,45} Γ' αυτόν το λόγο, η ταξινόμηση της ΑΗ στις δύο αυτές κύριες υποκατηγορίες είναι ακόμα και σήμερα αβέβαιη και αμφιλεγόμενη.^{11,13,26}

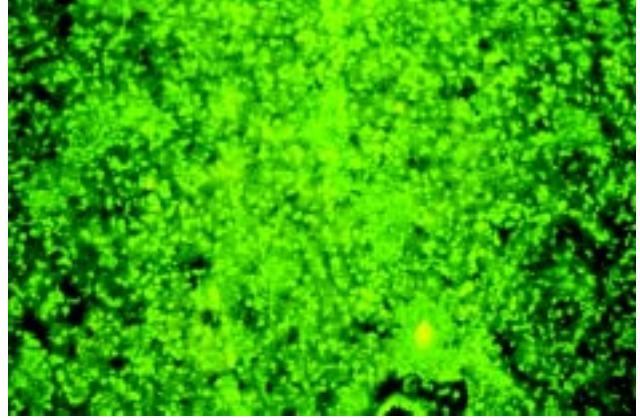
3. ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΑ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ ΤΥΠΟΥ 1

3.1. ANA και SMA

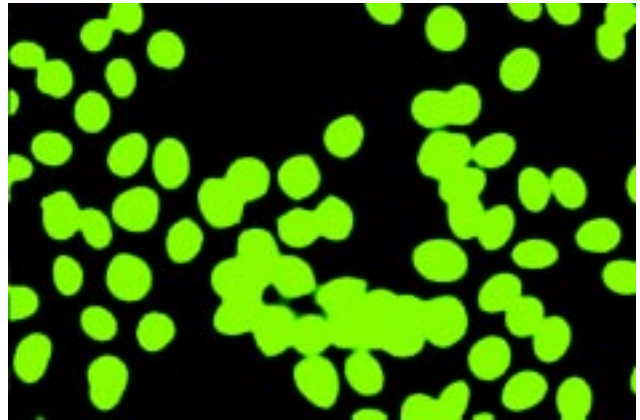
Η οροθετικότητα για ANA ή και SMA θεωρείται σχεδόν απαραίτητη προϋπόθεση για τη διάγνωση της ΑΗ-1.^{5,8,11,17,25,28} Σε τυπικές περιπτώσεις ΑΗ-1 και τα δύο αυτά αυτοαντισώματα ανιχνεύονται σε σημαντικούς τίτλους (>1:80 σε ενήλικες και >1:40 στα παιδιά) σχεδόν στο 50% των ασθενών, ενώ η ανίχνευση των ANA ως μοναδικού ορολογικού δείκτη της νόσου παρατηρείται στο 15% και των SMA ως μοναδικού δείκτη στο 35% των ασθενών.^{5,28,47}

Η συχνότερη και η πιο κλασική μέθοδος ανίχνευσης των ANA είναι επί σειρά ετών ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (ΕΑΦ), χρησιμοποιώντας κατεψυγμένες τομές ήπατος-νεφρών-στομάχου αρουραίων (εικ. 3), καθώς και κυτταρικές σειρές λαρυγγικού καρκινώματος (Hep-2 κύτταρα, εικ. 4).^{17,25,47,48} Χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα τα Hep-2 κύτταρα, έχουν παρατηρηθεί διάφοροι τύποι φθορισμού των ANA.⁴⁷⁻⁵² Το γεγονός αυτό οφείλεται στην παρουσία μεγάλης ποικιλίας αυτοαντιγόνων-στόχων στον πυρήνα των Hep-2 κυττάρων. Με βάση τα παραπάνω, τα ANA έχουν αναφερθεί να στρέφονται κατά διαφόρων αυτοαντιγόνων-στόχων, όπως απλής και διπλής έλικας DNA, tRNA, SSA-Ro, snRNPs, κυκλίνης A, λαμίνης A και C ή ιστονών.⁴⁷⁻⁵² Συχνότερα ανιχνεύεται ένας ομοιογενής ή διάχυτος φθορισμός (34-58%) ή ένας λεπτός στικτός τύπος ανοσοφθορισμού (21-34%).^{17,25,47-49} Εντούτοις, μέχρι στιγμής, δεν έχει ταυτοποιηθεί σε ασθενείς με ΑΗ-1 ένα ηπατο-ειδικό πυρηνικό αντιγόνο ή ένα ειδικό της νόσου ANA. Για τους λόγους αυτούς, επιπρόσθετη προσπάθεια ανεύρεσης των ANA-υποτύπων σε ασθενείς με ΑΗ-1 φαίνεται να έχει περιορισμένη κλινική σημασία στην καθημερινή κλινική πρακτική.^{11,17,25,47-52}

Τα SMA ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρών αρουραίων, λόγω του φθορισμού του τοιχώματος των αγγείων (εικ. 5), και σε υπόστρωμα στομάχου λόγω του φθορισμού «τύπου ινιδίων» της μυϊκής σπινθίδας (εικ. 6). Τα SMA κατευθύνονται έναντι πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού, όπως είναι η ακτίνη, η τροπονίνη, η βιμεντίνη και η τροπομοσοίνη. Στις περισσότερες περιπτώσεις ΑΗ-1, τα SMA έχουν ειδικότητα F-ακτίνης.⁵³ Το παραπάνω εύρημα απαντάται πολύ συχνότερα σε παιδιά με ΑΗ-1, όπου τα SMA μπορεί να αποτελούν το μοναδικό δείκτη της νόσου ακόμη και σε πολύ χαμηλούς τίτλους, όπως είναι η αραιώση 1:40.^{17,25} Οι Czaja et al⁵³ έχουν αναφέρει ότι η παρουσία



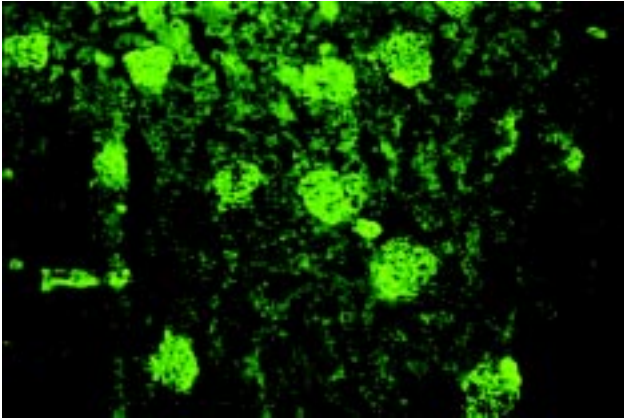
Εικόνα 3. Τυπικό πρότυπο φθορισμού αντιπυρηνικών αντισωμάτων με έμμεσο ανοσοφθορισμό σε κατεψυγμένη τομή ήπατος αρουραίου από ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1 (μεγέθυνση 10×).



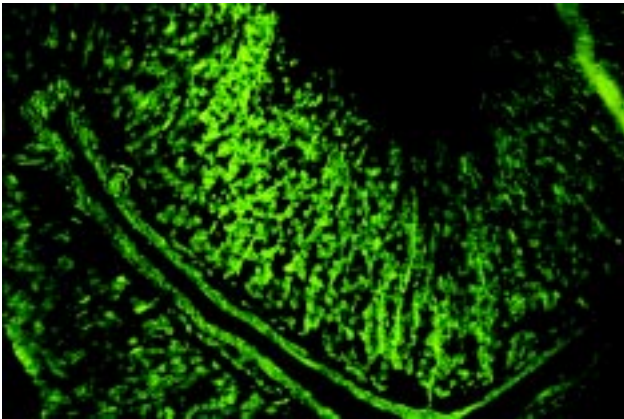
Εικόνα 4. Υψηλός τίτλος αντιπυρηνικών αντισωμάτων με διάχυτο ή ομοιογενές πρότυπο με έμμεσο ανοσοφθορισμό σε κύτταρα Hep-2 από ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1 (μεγέθυνση 40×).

SMA κατά F-ακτίνης του κυτταροσκελετού σε ασθενείς με ΑΗ-1 έχει μάλλον προγνωστική σημασία για την έκβαση των προσβληθέντων. Οι ασθενείς αυτοί φαίνεται να είναι νεότεροι, συνήθως HLA A1-B8-DR3-θετικοί, ανθεκτικοί στην ανοσοκατασταλτική αγωγή, και ο θάνατος ή η ανάγκη μεταμόσχευσης εμφανίζονται σχετικά πρώιμα σε σχέση με τους ασθενείς που είναι αρνητικοί για αντισώματα κατά F-ακτίνης.

Στην πλειονότητα των ασθενών, τόσο τα ANA όσο και τα SMA συνήθως εξαφανίζονται κατά τη διάρκεια της ανοσοκατασταλτικής αγωγής.⁵⁴ Εντούτοις, η εξαφάνιση των αυτοαντισωμάτων αυτών δεν αποτελεί προγνωστικό παράγοντα παρατεταμένης ύφεσης μετά από τη διακοπή της θεραπείας. Επιπλέον, ο τίτλος των ANA και SMA κατά τη διάγνωση ή η μείωσή τους στη διάρ-



Εικόνα 5. Αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών με έμμεσο ανοσοφθορισμό σε κατεψυγμένη τομή νεφρού αρουραίου από ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1. Το σήμα αφορά στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων (μεγέθυνση 10×).



Εικόνα 6. Αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών με έμμεσο ανοσοφθορισμό σε κατεψυγμένη τομή στομάχου αρουραίου από ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1. Το σήμα αφορά στις λείες μυϊκές ίνες στη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (μεγέθυνση 10×).

κεια της θεραπείας δεν αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη για την εκτίμηση της βαρύτητας και της έκβασης της νόσου.^{13,17,25,54} Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι τα ANA και τα SMA μάλλον δεν συμμετέχουν στην παθογένεια της AH-1 και ότι ο προσδιορισμός τους έχει μεγαλύτερη διαγνωστική παρά προγνωστική αξία.^{5,11,13,17,25}

ANA ή και SMA –συνήθως σε χαμηλούς τίτλους– ανιχνεύονται συχνά σε ασθενείς με οξείες ή χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες A, B ή C, αλλά στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις τα SMA δεν παρουσιάζουν ειδικότητα κατά F-ακτίνης.^{5,11,17,25,55–58} Ο εναρκτήριο μηχανισμός παραγωγής αυτών των αντισωμάτων στις χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες φαίνεται να είναι η διαρκής ηπατοκυτταρική καταστροφή που υπάρχει στις περιπτώ-

σεις αυτές, λόγω της χρονιότητας, και η οποία οδηγεί ενδεχομένως στην ανάδειξη «ίδιων» νεο-αντιγόνων.^{59–61} Εντούτοις, δεν συμφωνούν με αυτή την παραδοχή όλες οι μελέτες.⁶² Εναλλακτικά, η επαγωγή των ANA και SMA σε ασθενείς με χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της χορήγησης θεραπείας με α-ιντερφερόνη, αλλά και πάλι τα ευρήματα των περισσότερων μελετών δεν μπορούν να υποστηρίξουν μια τέτοια θεώρηση.^{58,63–66}

Πολύ πρόσφατα, μια πολύ σημαντική μελέτη από τη Μεγάλη Βρετανία έδειξε ότι ο κυρίαρχος μηχανισμός για την ανεύρεση των αντισωμάτων αυτών, τουλάχιστον σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV), είναι η μοριακή μίμηση μεταξύ της πολυπρωτεΐνης του HCV και αντιγονικών στόχων των ANA και των SMA του ξενιστή.⁶⁷ Σε γενικές γραμμές και από κλινικής σκοπιάς, η χορήγηση α-ιντερφερόνης στις περισσότερες περιπτώσεις χρόνιων ιογενών ηπατίτιδων με οροθετικότητα για ANA ή και SMA είναι ασφαλής, αν και περιστασιακά σε αυτούς τους ασθενείς είναι δυνατό να παρατηρηθούν αυτοπεριοριζόμενες αυτοάνοσες διαταραχές σε σχέση με εκείνους που είναι αρνητικοί για τα παραπάνω αυτοαντισώματα.^{66,68–71}

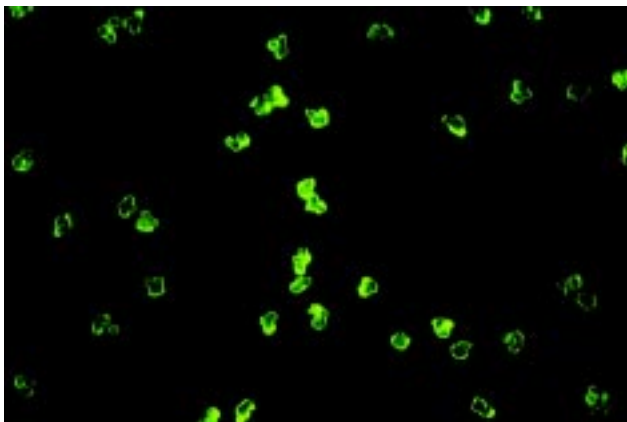
3.2. Αντισώματα κατά κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων (ANCA)

Τα αντισώματα αυτά στρέφονται κατά συστατικών του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων και των μονοκυττάρων. Κλασικά, τα ANCA ανιχνεύονται με ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα απομονωμένα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνα, μονιμοποιημένα σε απόλυτη αιθανόλη.⁷² Με την εφαρμογή της παραπάνω μεθόδου διακρίνονται δύο βασικοί υπότυποι ANCA: εκείνα που δίνουν τη χαρακτηριστική εικόνα διάχυτου ή κοκκιώδους φθορισμού στο κυτταρόπλασμα (c-ANCA) και εκείνα με χαρακτηριστικό περιπυρηνικό φθορισμό (p-ANCA). Και οι δύο τύποι ANCA αποτελούν πολύτιμους διαγνωστικούς και προγνωστικούς δείκτες σε ασθενείς με κοκκιωμάτωση Wegener και μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα, αντίστοιχα.^{72,73} Η πρωτεΐνάση-3 έχει ταυτοποιηθεί ως το μείζον αυτοαντιγόνο-στόχος των c-ANCA-θετικών ασθενών με κοκκιωμάτωση Wegener, ενώ η μυελοϋπεροξειδάση είναι το αυτοαντιγόνο-στόχος των p-ANCA στις περισσότερες περιπτώσεις ασθενών με μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα.^{72,73} Έκτοτε, ANCA (στις περισσότερες περιπτώσεις p-ANCA) έχουν ανιχνευθεί σε υψηλές συχνότητες και σε άλλες χρόνιες φλεγμονώδεις διαταραχές άγνωστης αιτιολογίας, όπως η φλεγμονώδης πάθηση των εντέρων (συχνότερα στην ελκώδη κολίτιδα σε

σχέση με τη νόσο Crohn)^{74,75} και η πρωτοπαθής σκληροκυτταρική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ), μια νόσος η οποία συχνά συσχετίζεται με την παρουσία ελκώδους κολίτιδας.^{75,76}

Επιπρόσθετα, πολλές πρόσφατες μελέτες έχουν αναφέρει την παρουσία υψηλών τίτλων p-ANCA στο 60–96% των ασθενών με ΑΗ-1 (εικ. 7)^{11,77–82} και σε μικρότερο ποσοστό σε ασθενείς με ΠΧΚ (συχνότητα 0–39%).^{78,82,83} Σπάνια έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις ΑΗ-1 με υψηλούς τίτλους c-ANCA.¹⁷ Αντίθετα, μέχρι στιγμής δεν έχουν ανιχνευθεί ANCA σε ασθενείς με ΑΗ-2.⁸¹ Σε γενικές γραμμές, οι τίτλοι ανίχνευσης των p-ANCA στην ΑΗ-1 είναι σημαντικά υψηλότεροι σε σχέση με άλλες χρόνιες ηπατικές παθήσεις.^{77,78} Η ανίχνευσή τους σε ασθενείς με ΑΗ-1, ΠΧΚ ή ΠΣΧ φαίνεται να σχετίζεται με πιο σοβαρή πορεία ή την παρουσία κίρρωσης.^{78,80,84} Οι τελευταίες παρατηρήσεις, όμως, δεν επιβεβαιώθηκαν σε πιο πρόσφατες μελέτες, καθώς, για παράδειγμα, παρά τον υψηλό επιπολασμό και την παρουσία υψηλών τίτλων p-ANCA σε ασθενείς με ΑΗ-1, οι Targan et al⁷⁷ δεν βρήκαν κάποια συσχέτιση μεταξύ αυτών των αυτοαντισωμάτων και των αμινοτρανσφερασών, των επιπέδων των γ-σφαιρινών, της IgG ανοσοσφαιρίνης και της παρουσίας ή απουσίας άλλων αυτοάνοσων διαταραχών.

Για τον προσδιορισμό της αντιγονοειδικότητας αυτών των αυτοαντισωμάτων χρησιμοποιούνται αντιγονο-ειδικές ανοσοενζυμικές μέθοδοι (ELISA), καθώς και μέθοδοι ανοσοαποτύπωσης.^{17,85} Με την εφαρμογή αυτών των τεχνικών έγινε εμφανές ότι τα αυτοαντιγόνα-στόχοι των ANCA σε ασθενείς με ΑΗ-1 ήταν πολλαπλά, περιλαμβανόμενα



Εικόνα 7. Περιπυρηνικός φθορισμός των αντισωμάτων κατά κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων (p-ANCA) με έμμεσο ανοσοφθορισμό σε απομονωμένα και μονιμοποιημένα σε απόλυτη αιθανόλη ανθρώπινα ουδετερόφιλα από ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1, που ήταν αρνητικός για αντιπυρηνικά αντισώματα (μεγέθυνση 40x).

βάνοντας την καθεψίνη G, την καταλάση, την α-ενολάση, τη λακτοφερίνη, την ακτίνη και την ομάδα των χρωμοσωμικών πρωτεϊνών υψηλής κινητικότητας (high mobility group non-histone chromosomal proteins, HMG1 και HMG2).^{17,78,80,82,84–87} Το γεγονός αυτό υποδεικνύει τη μικρή μάλλον κλινική σημασία του προσδιορισμού της αντιγονοειδικότητας των p-ANCA σε ασθενείς με ΑΗ-1.^{17,25,78,80,85} Επιπλέον, η Διεθνής Ομάδα Μελέτης της ΑΗ (International Autoimmune Hepatitis Group Meeting, Freiburg, Germany, 16.10.2003) έχει προτείνει –αντί του όρου p-ANCA– τον όρο p-ANNA (peripheral antineutrophil nuclear antibodies), καθώς τα αυτοαντιγόνα-στόχοι φαίνεται να αποτελούν τμήματα της περιφέρειας του πυρήνα, μάλλον, παρά του κυτταροπλάσματος.^{13,88}

Χαμηλοί τίτλοι ANCA ανιχνεύονται σπάνια σε ασθενείς με αλκοολική ή χρόνια ιογενή ηπατοπάθεια.^{78,81,89,90} Παρόλα αυτά, μια πρόσφατη μεγάλη μελέτη σε 516 ασθενείς με χρόνια ΗCV-λοίμωξη ανέφερε την παρουσία των ANCA στο 55,6% των ασθενών.⁹¹ Είναι ενδιαφέρον ότι στη μελέτη αυτή οι ερευνητές απέδειξαν με σύγχρονες τεχνικές την παρουσία ειδικότητας κατά πρωτεΐνας-3 (ειδικό αυτοαντιγόνο-στόχος των c-ANCA στην κοκκιωμάτωση Wegener) σε όλους τους ANCA-θετικούς/ΗCV-θετικούς ασθενείς.⁹¹ Εντούτοις, τα ευρήματα αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί, ενώ η κλινική τους σημασία πρέπει να προσδιοριστεί με προοπτικές μελέτες.

Συμπερασματικά, η ανίχνευση των ANCA ή, επί το ορθότερο, ANNA μπορεί να αποτελεί έναν επιπρόσθετο χρήσιμο δείκτη κατά τη διερεύνηση ασθενών για ΑΗ-1, ιδιαίτερα μάλιστα σε περιπτώσεις ΑΗ που είναι αρνητικές για ANA, SMA και αντι-LKM-1. Με την εξαίρεση ενός μόνο πρόσφατου άρθρου των Wu et al,⁹¹ η ανίχνευση σε σημαντικούς τίτλους των ANCA είναι μάλλον σπάνια σε ασθενείς με χρόνιας ιογενείς ηπατίτιδες.^{17,78,81,89} Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδειχθεί πολύ χρήσιμο στη διαφορική διαγνωστική μεταξύ ασθενών με ΑΗ και εκείνων με ιογενείς ηπατίτιδες που έχουν όμως οροθετικότητα για ANA ή SMA. Επιπλέον, καθώς τα ANCA φαίνεται να ανιχνεύονται σχετικά σπάνια στην ΠΧΚ,^{78,83} τα αυτοαντισώματα αυτά μπορεί να αποδειχθούν χρήσιμα για τη διάκριση μεταξύ «αμιγών» περιπτώσεων ΑΗ και περιπτώσεων ΠΧΚ που παρουσιάζουν ταυτόχρονα στοιχεία συνδρόμου επικάλυψης με ΑΗ.¹¹ Εντούτοις, λόγω της έλλειψης ειδικότητας για τη διάγνωση της ΑΗ και του αφανούς ρόλου τους –εάν υπάρχει– στην ΑΗ, δεν συνιστάται η ανίχνευσή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική διερεύνησης περιπτώσεων ΑΗ.^{13,17,25,85}

3.3. Αντισώματα κατά του υποδοχέα της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης

Ο υποδοχέας της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης (ASGP-R) είναι μια ηπατοειδική γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των κυττάρων. Η κύρια λειτουργία του αφορά στη σύνδεση και ενδοκυττάρωση γλυκοπρωτεϊνών που φέρουν τελικές ομάδες γαλακτόζης. Αυτοαντισώματα κατά του ASGP-R (αντι-ASGP-R) ανιχνεύονται στο 88% των ασθενών με ΑΗ (και στους δύο τύπους).^{25,85,92,93} Όμως, αντι-ASGP-R αυτοαντισώματα ανιχνεύονται επίσης σε ορισμένους ασθενείς με ΠΧΚ, χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες Β και C ή αλκοολική ηπατοπάθεια, με αποτέλεσμα η ειδικότητα του αντισώματος αυτού για τη διάγνωση της ΑΗ να μειώνεται αισθητά.^{11,17,25,85,92}

Είναι ενδιαφέρον ότι ο ASGP-R εκφράζεται κυρίως στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων που βρίσκονται στις περιπυλαίες περιοχές των ηπατικών λοβίων, εκεί δηλαδή όπου παρατηρούνται οι κύριες ιστολογικές βλάβες της ΑΗ (διαβρωτική νέκρωση ή περιπυλαία ηπατίτιδα).⁹⁴ Το εύρημα αυτό πιθανόν να υποδεικνύει τη συμμετοχή των αντι-ASGP-R αντισωμάτων στην ανοσοπαθogenεία της ΑΗ.⁹⁵ Εάν η εξαρτώμενη από αυτοαντίσωμα κυτταροτοξικότητα είναι ο κυρίαρχος παθογενετικός μηχανισμός στην ΑΗ, τότε το αυτοαντιγόνο-στόχος θα πρέπει να είναι «ορατό» από το ανοσιακό σύστημα (π.χ. έκφραση στην επιφάνεια του ηπατοκυττάρου) και να είναι οργανοειδικό, ώστε να εξηγήσει την οργανοειδικότητα της ΑΗ. Μέχρι τώρα, ο ASGP-R αποτελεί το αυτοαντιγόνο που πληροί τα παραπάνω κριτήρια,^{94,95} ενώ, επιπλέον, οι ασθενείς με ΑΗ εμφανίζουν μια αντιγονοειδική ανεπάρκεια ελέγχου της «αυτοδραστικότητας» έναντι του ASGP-R.^{1,96} Η παθογενετική σημασία των αντι-ASGP-R αντισωμάτων ενισχύεται και από μελέτες προσδιορισμού του τίτλου των αντισωμάτων αυτών σε διαδοχικούς ασθενείς με ΑΗ. Πράγματι, τα επίπεδα των αντι-ASGP-R αντισωμάτων βρέθηκαν να συσχετίζονται θετικά με την ενεργότητα της ΑΗ.^{5,92,97} Επιπρόσθετα, οι τίτλοι τους μειώνονται σημαντικά σε περιπτώσεις επιτυχούς ανταπόκρισης στην ανοσοκατασταλτική αγωγή, ενώ επανεμφανίζονται όταν η νόσος υποτροπιάσει.^{92,97}

Τα αντισώματα αυτά μπορεί να βοηθήσουν διαγνωστικά σε περιπτώσεις όπου πιθανολογείται η νόσος και οι άλλοι δείκτες είναι αρνητικοί. Εντούτοις, λόγω της παραδοχής ότι αντιπροσωπεύουν μάλλον ένα «γενικό» δείκτη ηπατικής αυτοανοσίας και λόγω περιορισμών στην ανίχνευσή τους (απαιτείται χημικά κεκαθαρισμένο ASGP-R, που δεν είναι ευρέως διαθέσιμος), δεν συνιστάται η ανίχνευσή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική διερεύνησης ύποπτων περιπτώσεων ΑΗ.^{13,17,25,85}

3.4. Αντισώματα κατά διαλυτών ηπατικών αντιγόνων (αντι-SLA) ή κατά αντιγόνου ήπατος-παγκρέατος (αντι-LP)

Τα αντι-SLA αυτοαντισώματα περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1987.³² Δεν ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ, αλλά συνήθως με ανταγωνιστικές μεθόδους ELISA ή ραδιοανοσοενzymικές μεθόδους.^{32,44,98} Το SLA ανευρίσκεται στο υπερκείμενο μετά από υπερφυγοκέντρηση (100.000 g) ηπατικού ομογενοποιημάτος και αντιπροσωπεύει πρωτεΐνη κυτοσολίων, η οποία δεν είναι ούτε οργανοειδική (non-organ specific) ούτε ειδική του είδους (non-species specific).⁹⁹ Εντούτοις, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις του συγκεκριμένου αντιγόνου παρατηρούνται στο ήπαρ και τους νεφρούς.

Οι ασθενείς αναπτύσσουν αντι-SLA αντισώματα είτε μόνα είτε σε συνδυασμό με SMA ή και ANA.^{28,43,44,100} Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι ομοιότητες στα γενετικά και κλινικά χαρακτηριστικά μεταξύ ασθενών με ΑΗ-1 (ANA ή και SMA-θετικοί) και ασθενών με ΑΗ με οροθετικότητα μόνο για αντι-SLA αντισώματα, σε συνδυασμό με την επικάλυψή τους –από πλευράς θετικότητας– σε ποσοστό 30% περίπου με τα ANA ή και SMA, έχουν οδηγήσει στη γενική παραδοχή ότι το αυτοαντίσωμα αυτό είναι μάλλον ένας επιπρόσθετος και σημαντικός δείκτης για τη διάγνωση της ΑΗ-1 παρά ένας δείκτης για την ύπαρξη τρίτης υποκατηγορίας ΑΗ (ΑΗ-3).^{11,17,28,43,44}

Τα αντι-LP αυτοαντισώματα περιγράφηκαν για πρώτη φορά από μια γερμανική ομάδα στο Tuebingen.³³ Όπως και το SLA, το LP αντιγόνο ανευρίσκεται στο υπερκείμενο μετά από υπερφυγοκέντρηση (100.000 g) ηπατικού και παγκρεατικού ομογενοποιημάτος, υποδεικνύοντας ότι και αυτό το αντιγόνο είναι μια διαλυτή πρωτεΐνη κυτοσολίων. Μέχρι πρόσφατα, τα αντι-LP θεωρούνταν διαφορετικά αυτοαντισώματα από τα αντι-SLA.³²⁻³⁴ Εντούτοις, η πρόσφατη μελέτη των Wies et al.¹⁰¹ δίνει πειστικά στοιχεία και επιβεβαιώνει προηγούμενες θεωρήσεις ότι το αντι-SLA και το αντι-LP είναι ένα και το αυτό αυτοαντίσωμα (αντι-SLA/LP). Αντίθετα με ό,τι είχε θεωρηθεί σε παλαιότερες μελέτες,^{98,102} η μελέτη των Wies et al.¹⁰¹ έδειξε ότι το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-SLA/LP (διαλυτή πρωτεΐνη των κυτοσολίων μοριακού βάρους 35–50 kDa) δεν ανήκε ούτε στις κυτταροκερατίνες 8 ή 18⁹⁸ ούτε στις πρωτεϊνικές υπομονάδες της S-τρανσφεράσης της γλυταθειόνης (GST, υπομονάδες: Ya, Yb1 και Yc).¹⁰²

Τα αποτελέσματα από άλλες δύο ανεξάρτητες μελέτες^{103,104} ήταν παρόμοια με αυτά των Wies et al.¹⁰¹ Επιπλέον, μετά από έλεγχο σε βιβλιοθήκη cDNA, οι τελευ-

ταίες αυτές μελέτες ταυτοποίησαν ως το αυτοαντιγόνο-στόχο των αντι-SLA/LP μια προηγούμενα άγνωστη αλληλουχία αμινοξέων, η οποία κωδικογραφεί μια UGA-κατασταλτική tRNA-σχετιζόμενη πρωτεΐνη.^{103,104} Η πρωτεΐνη αυτή πιστεύεται ότι εμπλέκεται στη συν-μετάφραση και ενσωμάτωση της σελινουκουστεΐνης στα ανθρώπινα κύτταρα.¹⁰⁵ Είναι εμφανές ότι η ταυτοποίηση του αυτοαντιγόνου των αντι-SLA/LP θα επιτρέψει την ανάπτυξη αξιόπιστων και διεθνώς διαθέσιμων διαγνωστικών δοκιμασιών για την τεκμηρίωση της ΑΗ, ενώ επιπλέον θα εφοδιάσει με νέα «όπλα» το ερευνητικό πεδίο στα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος.

Μέχρι στιγμής, τα αντισώματα αυτά δεν έχουν ανιχνευθεί χρησιμοποιώντας ELISA, σε ασθενείς με ΑΗ-2, ΠΧΚ, ΠΣΧ, χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες, αλκοολική ηπατοπάθεια ή μη ηπατικά αυτοάνοσα νοσήματα.^{32,44,100,106} Οι Ballot et al⁴⁴ έδειξαν επίσης ότι τα αντι-SLA/LP αντισώματα είναι διαφορετικά από τα αντι-LC1. Για τους παραπάνω λόγους, τα αντι-SLA/LP θεωρήθηκαν ως πολύτιμοι και ειδικοί εργαστηριακοί δείκτες της ΑΗ-1.^{43,44,100,101,103,104,106} Παρόλα αυτά, μια πρόσφατη μελέτη από τη Μεγάλη Βρετανία¹⁰⁷ έδειξε ότι τα αντι-SLA/LP μπορούν να ανιχνευθούν σε ασθενείς με ΑΗ-2 και σε παιδιά με ΠΣΧ. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν, αντί των κλασικών μεθόδων, μια πρωτότυπη αλλά και ευαίσθητη ποσοτική τεχνική, που στηρίζεται στην ανίχνευση των αντισωμάτων μετά από ανοσοκαθίζηση του ανασυνδυασμένου και ραδιοσημασμένου με ³⁵S-μεθειονίνη αυτοαντιγόνου (Radioligand assay, RLA).¹⁰⁷ Η μέθοδος αυτή είναι γνωστό ότι έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από τις κλασικές (ELISA, ανοσοαποτύπωση), καθώς μπορεί να ανιχνεύσει αντισώματα και κατά στερεοσκοπικών ή τρισδιάστατων επιτόπων (conformational epitopes).¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Τα πρωτότυπα αυτά ευρήματα χρειάζονται επιβεβαίωση και από άλλες ερευνητικές ομάδες και ιδιαίτερα εάν η αντιδραστικότητα κατά SLA/LP είναι επίσης ανιχνεύσιμη στην ΠΣΧ των ενηλίκων.

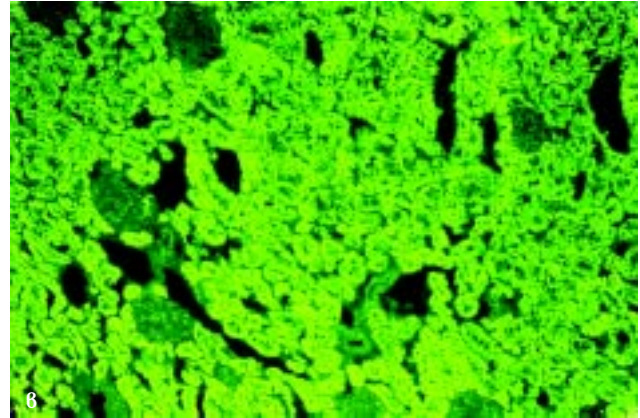
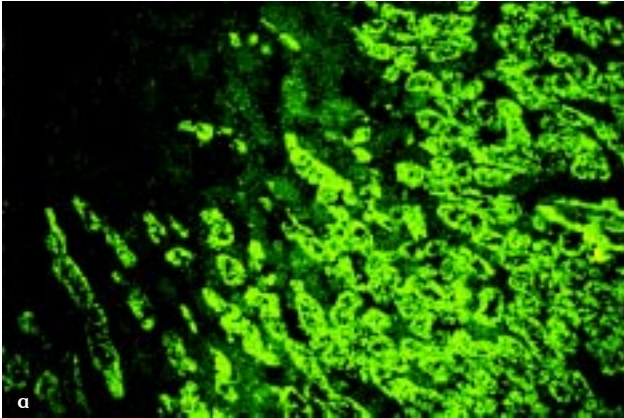
Από κλινικής σκοπιάς, τόσο οι πρόσφατες όσο και οι παλαιότερες μελέτες συμφωνούν ότι τα αντι-SLA/LP αντισώματα σχετίζονται με περισσότερο βαριά πορεία της ΑΗ.^{106,107,111} Τα παραπάνω ευρήματα πιθανόν υποδεικνύουν ότι τα αυτοαντισώματα αυτά μπορεί να έχουν παθογενετική σημασία, αν και η ακριβής λειτουργία και ο ρόλος τους στην αυτοανοσία είναι μέχρι τώρα αδιευκρίνιστα.^{1,17,25} Τέλος, η διερεύνηση για την παρουσία των αντι-SLA/LP πιστεύεται ότι θα είναι σημαντική και πολύ επιβοηθητική στην προσπάθεια μείωσης της ομάδας ασθενών με «κρυσπιγενή» ηπατίτιδα ή «κρυσπιγενή» κίρρωση.

4. ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΑ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ ΤΥΠΟΥ 2

4.1. Αντισώματα κατά μικροσωμίων ήπατος-νεφρών (αντι-LKM)

Τα αντι-LKM αυτοαντισώματα διακρίνονται σε τρεις τύπους (1-3).^{5,8,17,25,30,85,99,112} Τα αντι-LKM-1 είναι τα χαρακτηριστικά αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στην πλειονότητα των περιπτώσεων ΑΗ-2.^{5,30,85,113,114} Τα αντισώματα αυτά περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τους Rizzetto et al¹¹⁵ με την τεχνική του ΕΑΦ, χρησιμοποιώντας κατεψυγμένες τομές ήπατος-νεφρών αρουραίων. Το πρότυπο φθορισμού χαρακτηρίζεται, εκτός από το διάχυτο θετικό σήμα στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων, από αποκλειστική αντιδραστικότητα του Ρ3 τμήματος των εγγύς νεφρικών σωληναρίων³⁰ (εικ. 8α). Αντίθετα, τα AMA στην ΠΧΚ δίνουν θετικό φθορισμό τόσο στα εγγύς όσο και στα άπω νεφρικά σωληνάκια, γεγονός που καθιστά εύκολη τη διάκριση μεταξύ των δύο αυτών αντισωμάτων (εικ. 8β). Επιπρόσθετες μέθοδοι ανίχνευσης των αντι-LKM αποτελούν οι ανταγωνιστικές ELISAs και η ανοσοαποτύπωση. Με την ανοσοαποτύπωση, χρησιμοποιώντας εκχύλισμα ηπατικών και νεφρικών μικροσωμίων, ανιχνεύεται πρωτεϊνική ζώνη στα 50 kDa (αντι-LKM-1), ενώ σπανιότερα ανιχνεύονται ζώνες στα 55 kDa (αντι-LKM-3) καθώς και στα 64 kDa.^{5,17,25,85,99,114}

Το μείζον αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LKM-1 αντισωμάτων είναι το κυτόχρωμα P450 2D6 (ΚΥΤΡ450 2D6).^{114,116,117} Έχει δειχθεί ότι τα αυτοαντισώματα αυτά αναστέλλουν την ενζυμική δραστηριότητα του ΚΥΤΡ450 2D6 *in vitro*, αλλά όχι *in vivo*.¹¹⁸ Μελέτες ανίχνευσης ειδικών επιτόπων του ΚΥΤΡ450 2D6 που αναγνωρίζονται από τα αντι-LKM-1 αντισώματα ασθενών με ΑΗ-2 έδειξαν την παρουσία τουλάχιστον τεσσάρων γραμμικών επιτόπων.^{119,120} Οι επικρατέστεροι γραμμικοί επιτόποι του ΚΥΤΡ450 2D6 είναι οι αλληλουχίες αμινοξέων 257-269 και 321-351, οι οποίες αναγνωρίζονται στο 70% και 50% των περιπτώσεων ΑΗ-2, αντίστοιχα.^{119,120} Σε ορισμένες σπάνιες περιπτώσεις αναγνωρίζονται και οι επιτόποι 373-389 και 410-429.¹²⁰ Πρόσφατα, οι Klein et al¹²¹ και οι Kerkar et al¹²² ανακοίνωσαν την ύπαρξη και τρίτου επικρατούμενου επιτόπου του ΚΥΤΡ450 2D6 (αλληλουχία αμινοξέων 193-212), ο οποίος αναγνωρίζεται στο 70% και 93% των ασθενών με ΑΗ-2, αντίστοιχα. Εντούτοις, λόγω αδυναμίας αναστολής της ενζυμικής δραστηριότητας του ΚΥΤΡ450 2D6 μετά από τη χρήση αντισωμάτων ειδικών κατά των ανωτέρω επιτόπων, καθώς και λόγω της αδυναμίας απορρόφησης της αντι-ΚΥΤΡ450 2D6 δραστηριότητας με τη χρήση των ανωτέ-



Εικόνα 8. (α) Αντισώματα κατά μικροσωμίων ήπατος-νεφρών τύπου 1 (αντι-LKM-1) με σήμα φθορισμού μόνο από τα εγγύς σωληνάρια σε κατεψυγμένη τομή νεφρού αρουραίου (μεγέθυνση 10×). Η απουσία αντιδραστικότητας τόσο στα άπω σωληνάρια του νεφρού (βλέπε και εικ. 8β) όσο και στα τοιχωματικά κύτταρα του στομάχου αρουραίου διακρίνεται εύκολα τα αντι-LKM-1 αυτοαντισώματα από τα αντιμιτοχονδριακά. (β) Αντιμιτοχονδριακά αντισώματα με χαρακτηριστικό σήμα φθορισμού τόσο στα εγγύς όσο και στα άπω σωληνάρια σε κατεψυγμένες τομές αρουραίου (μεγέθυνση 10×). Στις περιπτώσεις αυτές υπάρχει αντιδραστικότητα και κατά των τοιχωματικών κυττάρων του στομάχου αρουραίου.

ρω ειδικών αντισωμάτων, έγινε σαφές ότι πρέπει να υπάρχουν και επιπρόσθετοι τρισδιάστατοι ή στερεοσκοπικά δομημένοι επίτοποιοι στο ΚΥΤΡ450 2D6.¹²³

Αξίζει να σημειωθεί ότι παρόμοια αυτοαντισώματα ανιχνεύονται επίσης στο 0–7% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C, ανεξάρτητα από το γονότυπο του ιού.^{11,17,58,85,124,125} Εντούτοις, δύο πρόσφατες μελέτες σε μικρό αριθμό παιδιατρικών και ενηλίκων ασθενών με HCV-λοίμωξη από τη νότια Ευρώπη αναφέρουν υψηλότερο επιπολασμό των αντι-LKM αυτοαντισωμάτων (έως και 10%).^{63,126} Στις περισσότερες περιπτώσεις HCV-λοίμωξης με θετικά αντι-LKM αντισώματα, το αυτοαντιγόνο-στόχος είναι το ίδιο με αυτό που περιγράφηκε παραπάνω για τους ασθενείς με AH-2, δηλαδή το ΚΥΤΡ450 2D6.^{17,25,108–110,116,120–124} Εντούτοις, ορισμένες μελέτες απέτυχαν να επιβεβαιώσουν την παραπάνω παραδοχή.^{63,126} Επιπρόσθετα, οι Miyakawa et al¹²⁷ ταυτοποίησαν το ΚΥΤΡ450 2E1 και το ΚΥΤΡ450 3A4 ως αυτοαντιγόνα-στόχους των αντι-LKM σε δύο ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και οροθετικότητα για το αντίσωμα. Όλα τα ανωτέρω ευρήματα υποδεικνύουν και ενισχύουν περαιτέρω την ετερογενή φύση της αυτοάνοσης απόκρισης που λαμβάνει χώρα στους αντι-LKM-θετικούς/HCV-θετικούς ασθενείς.

Αντίθετα με ό,τι έχει βρεθεί στην AH-2 (αναγνώριση μικρών, γραμμικών κυρίως επιτόπων στο ΚΥΤΡ450 2D6),¹¹⁹ στους ασθενείς με HCV-λοίμωξη και αντι-LKM-1 τα αντισώματα αυτά αναγνωρίζουν συχνότερα διαφορετικούς επιτόπους του ΚΥΤΡ450 2D6 (τόσο γραμμικούς όσο και τρισδιάστατους).^{120–123,128–133} Για παράδειγμα, ο μείζων γραμμικός επίτοπος 257–269, καθώς και ο πρόσφατα περιγραφείς 193–212, αναγνωρίζονται στο

70–93% των ασθενών με AH-2, αλλά μόνο στο 18–50% των αντι-LKM-θετικών/HCV-θετικών ασθενών.^{110,121,122,130} Επιπρόσθετα στοιχεία για την παρουσία τρισδιάστατων επιτόπων στις περιπτώσεις αντι-LKM-θετικών/HCV-θετικών δειγμάτων προέρχονται και από προηγούμενες μελέτες.^{126,129,132} Στις μελέτες αυτές, μόνο το 30% των αντι-LKM-θετικών/HCV-θετικών ορών είχαν αντιδραστικότητα 50 kDa με τη χρήση μεθόδων ανοσοαποτύπωσης, ενώ βρέθηκαν επιπρόσθετες ζώνες μοριακού βάρους 59 kDa, 70 kDa και 80 kDa.^{126,129,132} Παρόλα αυτά, ακόμη και εάν λαμβάνονταν υπόψη οι επιπρόσθετες ζώνες (οι οποίες δεν είναι χαρακτηριστικές του ΚΥΤΡ450 2D6), η αντιδραστικότητα με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης δεν αύξανε σημαντικά (45%).

Πρόσφατα, αναπτύχθηκε μια πρωτότυπη και περισσότερο ευαίσθητη και ειδική μέθοδος για την ανίχνευση των αντι-LKM-1 αυτοαντισωμάτων. Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια ποσοτική RLA, που στηρίζεται στην ανίχνευση αντισωμάτων κατά του ΚΥΤΡ450 2D6 μετά από ανοσοκαθίζηση ανασυνδυασμένου και ραδιοσημασμένου με ³⁵S-ΚΥΤΡ450 2D6 παραγόμενου μετά από *in vitro* μεταγραφή/*in vitro* μετάφραση, χρησιμοποιώντας ραδιοσημασμένη ³⁵S-μεθειονίνη.^{108–110,126,128} Αν και οι τίτλοι των αντι-LKM-1, χρησιμοποιώντας ημιποσοτική μέθοδο ανίχνευσης (τεχνική ΕΑΦ), ήταν συνήθως σημαντικά υψηλότεροι στους ασθενείς με AH-2 (HCV-αρνητικοί) σε σχέση με τους αντι-LKM-1-θετικούς ασθενείς που έπασχαν από χρόνια ηπατίτιδα C, μετά από τη χρήση της νέας ποσοτικής μεθόδου (RLA) έγινε σαφές ότι οι τίτλοι των παραπάνω αντισωμάτων δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο παθολογικών καταστάσεων.^{108–110}

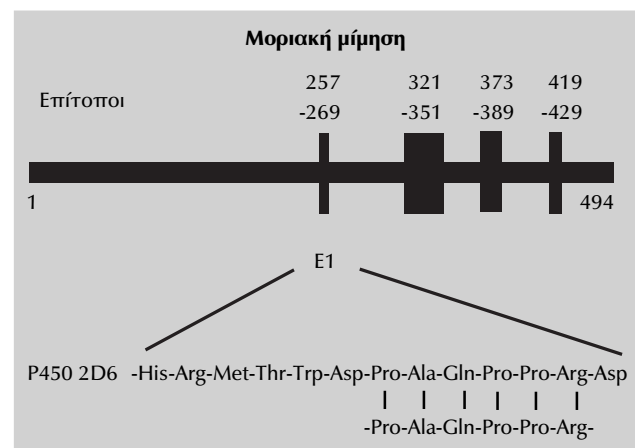
Η παρουσία των αντι-LKM-1 σε ορισμένους HCV-θετικούς ασθενείς οδήγησε στην πρόταση περαιτέρω υποδιαίρεσης της AH-2 σε AH-2a (νέοι ασθενείς, στην πλειοψηφία τους γυναίκες χωρίς HCV-λοίμωξη) και AH-2b (μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς, στην πλειοψηφία τους άνδρες με HCV-λοίμωξη).^{26,134} Εντούτοις, στις ημέρες μας, όπου οι εργαστηριακές δοκιμασίες για τη διάγνωση της HCV-λοίμωξης έχουν βελτιωθεί παρέχοντας μεγάλη αξιοπιστία, καθώς και με την ύπαρξη των τροποποιημένων περιγραφικών κριτηρίων για την επιβεβαίωση ή τον αποκλεισμό της AH, η χρήση μιας παρόμοιας υποδιαίρεσης της AH-2 δεν φαίνεται λογική. Πρακτικά, οι περισσότεροι HCV-θετικοί/αντι-LKM-1-θετικοί ασθενείς αντιπροσωπεύουν «πραγματικές» περιπτώσεις HCV-λοίμωξης με αυτοάνοσες εκδηλώσεις.^{11,135}

Από κλινικής σκοπιάς, συνιστάται ο έλεγχος ρουτίνας για την παρουσία των αντι-LKM αυτοαντισωμάτων σε HCV-θετικούς ασθενείς πριν, αλλά και κατά τη διάρκεια αντι-ϊικής θεραπείας, αφού η χορήγηση α-ιντερφερόνης μπορεί να «αποκαλύψει» ή να «ευοδώσει» την εκδήλωση AH.^{10,11,58,128,136-139} Επιπρόσθετα, πρόσφατα δείχθηκε ότι η μελέτη των επιτόπων του αυτοαντιγόνου (KYTP450 2D6) που αναγνωρίζουν τα αντι-LKM-1 αντισώματα ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C, σε συνδυασμό με την παρακολούθηση των τίτλων του αντισώματος με ΕΑΦ και με RLA, μπορεί να βοηθήσει στην αποκάλυψη των ασθενών εκείνων που δυνητικά διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ανεπιθύμητων αυτοάνοσων ηπατικών αντιδράσεων κατά τη διάρκεια της θεραπείας με α-ιντερφερόνη.¹²⁸

Αδιευκρίνιστοι παραμένουν οι μηχανισμοί παραγωγής και ο ρόλος των αντι-LKM-1 στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης. Τα παραπάνω οφείλονται στο γεγονός της ασαφούς αιτιολογίας της AH. Φαίνεται αρκετά πιθανό, ιογενείς λοιμώξεις από τον ιό του απλού έρπητα (HSV) ή άλλους άγνωστους μέχρι τώρα ιούς να επάγουν την αυτοάνοση διαδικασία σε γενετικά ευαίσθητα άτομα μέσω του μηχανισμού της μοριακής μίμησης, τουλάχιστον σε ορισμένους ασθενείς με AH-2.^{1,119} Οι Manns et al,¹¹⁹ χρησιμοποιώντας μεθόδους ανοσοαποτύπωσης, έλεγξαν την αντιδραστικότητα 26 LKM-θετικών ορών έναντι διαφόρων αλληλουχιών αμινοξέων ανασυνδυασμένου KYTP450 2D6. Έντεκα οροί αναγνώριζαν ένα μικρό γραμμικό επίτοπο με την αλληλουχία DPAQPPRD. Η αλληλουχία αυτή είχε σημαντικού βαθμού ομολογία αμινοξέων με την άμεση πρόωπη πρωτεΐνη IE 175 του HSV-τύπου 1 (HSV-1), τώρα γνωστή ως λοιμώδης κυτταρική πρωτεΐνη 4 (infected cell protein 4, ICP4) (εικ. 9). Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από μελέτες σε μονω-

ογενείς διδύμους, οι οποίες έδειξαν ότι η παρουσία AH-2 σχετιζόταν με ταυτόχρονη λοίμωξη από τον HSV-1 (μόνο ο ορός του διδύμου που έπασχε από AH-2 ήταν HSV-1-θετικός και αναγνώριζε την ICP4 ιική πρωτεΐνη).¹⁴⁰ Παρόλα αυτά, η συνολική θεώρηση της μοριακής μίμησης ως του κυρίαρχου παθογενετικού μηχανισμού της AH δεν είναι πειστική.

Εκτός από τη μοριακή μίμηση, άλλοι μηχανισμοί που μπορούν να συμμετέχουν στην έναρξη αυτοάνοσων αποκρίσεων είναι η χημική τροποποίηση «ιδίων» πρωτεϊνών και η ανοσιακή διασταυρούμενη απάντηση σε διαφορετικά αυτοαντιγόνα, που έχουν όμως σημαντική ομολογία αλληλουχιών αμινοξέων. Τα παραπάνω ενισχύονται από τα ευρήματα των Choudhury et al,¹⁴¹ οι οποίοι έδειξαν ότι ο δεύτερος σε συχνότητα γραμμικός επίτοπος του KYTP450 2D6, που αναγνωρίζεται από τα αντι-LKM-1 στην AH-2 (αλληλουχία αμινοξέων 321-351), εμφανίζει διασταυρούμενη αντίδραση με την αλληλουχία αμινοξέων 33-51 της καρβοξυπεπτιδάσης-H (αυτοαντιγόνο-στόχος των αυτοαντισωμάτων κατά των κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος στον ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη), καθώς και με την αλληλουχία αμινοξέων 307-325 της 21-υδροξυλάσης (αυτοαντιγόνο-στόχος στη νόσο Addison). Τα ευρήματα αυτά πιθανολογούν την ύπαρξη κοινής κεντρικής δομής τριών διαφορετικών αυτοαντιγόνων του KYTP450 2D6, της



Εικόνα 9. Γραμμικοί επίτοποι στο κυτόχρωμα P450 2D6 στην αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2. Ο επικρατών επίτοπος 257-269 παρουσιάζει ομολογία αλληλουχίας αμινοξέων με την άμεση πρόωπη πρωτεΐνη IE 175, που αποτελεί παράγοντα μεταγραφής του ιού του απλού έρπητα τύπου 1 (τώρα γνωστή και ως λοιμώδης κυτταρική πρωτεΐνη 4 ή infected cell protein 4). Αν και αυτό αποτελεί ένα ελκυστικό μοντέλο για την υπόθεση της μοριακής μίμησης, τα συνολικά στοιχεία γι' αυτήν δεν πείθουν ότι αποτελεί τον κυρίαρχο μηχανισμό εκδήλωσης της αυτοάνοσης ηπατίτιδας.

καρβοξυπεπτιδάσης-Η και της 21-υδροξυλάσης, η οποία –με τη σειρά της– μπορεί να ευθύνεται για την παρατηρούμενη στην πορεία της ΑΗ-2 ανάπτυξη πολλαπλών αυτοάνοσων ενδοκρinoπαθειών.

Δύο πρόσφατες μελέτες από τους Kerkar et al¹²² και τους Bogdanos et al¹⁴² ενισχύουν ακόμη περαιτέρω τις παραπάνω θεωρήσεις. Στην πρώτη μελέτη, οι συγγραφείς έδειξαν την ομοιότητα και τη διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ του επικρατούντος επιτόπου 193–212 του ΚΥΤΡ450 2D6 και ομόλογων αμινοξικών αλληλουχιών από δύο μη σχετιζόμενους ιούς (HCV 2977–2996 και CMV 121–140).¹²² Στη δεύτερη μελέτη, οι ερευνητές εξέτασαν εάν ο επικρατών επιτόπος 252–271 του ΚΥΤΡ450 2D6 και ομόλογες αμινοξικές αλληλουχίες από την NS5B και την Ε1 περιοχή της HCV πολυπρωτεΐνης, καθώς και ομόλογες αμινοξικές αλληλουχίες από την ICP4 πρωτεΐνη του HSV-1, αποτελούν στόχους χυμικής ανοσιακής απάντησης σε αντι-LKM-1-θετικούς και αντι-LKM-1-αρνητικούς ασθενείς με HCV-λοίμωξη και, επιπλέον, εάν αυτή η απάντηση είναι διασταυρούμενη.¹⁴² Οι συγγραφείς απέδειξαν για πρώτη φορά πειραματικά ότι μοριακές ομοιότητες μεταξύ του ΚΥΤΡ450 2D6, του HCV και του HSV μπορεί να οδηγήσουν στην παραγωγή των αντι-LKM-1 μέσω μιας διασταυρούμενης αντίδρασης σε γενετικά ευαίσθητα άτομα (ήταν ενδιαφέρον ότι μόνο οι HCV-θετικοί/αντι-LKM-1-θετικοί που ήταν HLA B51-θετικοί παρουσίαζαν διασταυρούμενη απάντηση). Τα ευρήματα αυτά πιθανολογούν ότι η πολλαπλή έκθεση σε ιούς που ομοιάζουν με τον ξενιστή μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό μονοπάτι για την ανάπτυξη αυτοανοσίας σε γενετικά ευαίσθητους πληθυσμούς.^{122,142}

Η συμμετοχή των αντι-LKM-1 αυτοαντισωμάτων στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης, τόσο στην ΑΗ-2 όσο και στις περιπτώσεις αντι-LKM-1-θετικών/HCV-θετικών ασθενών, φαίνεται πολύ πιθανή και ελκυστική, είτε μέσω άμεσης δέσμευσης των αντισωμάτων στο ηπατοκύτταρο, που θα οδηγήσει σε λύση των κυττάρων, είτε μέσω της επαγωγής από τα αντι-LKM-1 αντισώματα ειδικών ενεργοποιημένων Τ-λεμφοκυττάρων, με τελική έκφραση κυτταροτοξικότητας σε ιστολογικό επίπεδο (εξαρτώμενη από αυτοαντίσωμα κυτταροτοξικότητα).^{5,113,143-146} Προϋπόθεση, βεβαίως, τόσο για την παραγωγή των αντι-LKM-1 όσο και για την ενεργοποίηση και των δύο παθογενετικών μηχανισμών εμπλοκής τους στην ηπατική βλάβη αποτελεί η έκφραση του ΚΥΤΡ450 2D6 στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, κάτι που έχουν δείξει πρόσφατες μελέτες,^{143,144,147,148} ανεξάρτητα μάλιστα από τη φυσιολογική μικροσωματική του εντόπιση.^{143,147} Επιπλέον, πρόσφατα, οι Ma et al¹⁴⁹ έδειξαν ότι η αλληλουχία αμινοξέων 316–327 του ΚΥΤΡ450 2D6 βρίσκεται στην επιφάνεια

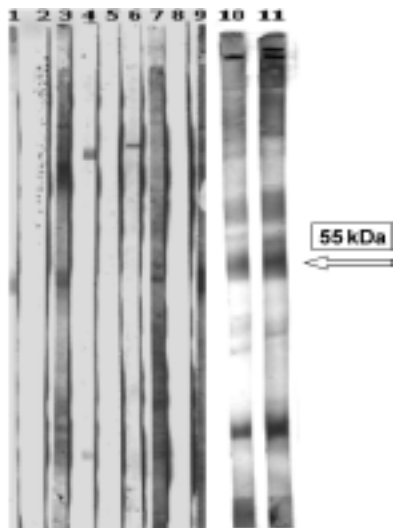
του τρισδιάστατου μορίου, υποδεικνύοντας την αλληλουχία αυτή ως «στόχο-κλειδί» για την παραγωγή των ανωτέρω αντισωμάτων.

Έως τώρα, τα αντι-LKM-2 αυτοαντισώματα έχουν ανιχνευθεί μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις φαρμακευτικών ηπατιτίδων (ιδιαίτερα στην επαγόμενη από πιενλικό οξύ) και ποτέ στην ΑΗ.^{5,17,85,113} Το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LKM-2 είναι το ΚΥΤΡ450 2C9.¹¹² Η δέσμευση ενός ενεργού μεταβολίτη του φαρμάκου με το ΚΥΤΡ450 2C9, το οποίο γίνεται έτσι αντιγονικός στόχος, θεωρείται ως ο επικρατέστερος μηχανισμός επαγωγής αυτών των αυτοαντισωμάτων.^{17,85,99,112}

Τα αντι-LKM-3 αυτοαντισώματα ανιχνεύονται μόνο ή σε συνδυασμό με τα αντι-LKM-1 στο 5–10% των ασθενών με ΑΗ-2.^{27,150} Σε αντίθεση με τα αντι-LKM-1 και αντι-LKM-2 αυτοαντισώματα, τα οποία στον ανοσοφθορισμό δίνουν θετικό σήμα μόνο σε ηπατικό και νεφρικό ιστό, τα αντι-LKM-3 μπορεί να δώσουν θετικό σήμα φθορισμού σε ιστό παγκρέατος, επινεφριδίων, θυρεοειδούς και στομάχου. Το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LKM-3 έχει ταυτοποιηθεί ως η οικογένεια 1 των UDP-γλυκουρονικών τρανσφερασών (UGT1, μοριακό βάρος 55 kDa).^{129,150,151} Είναι ενδιαφέρον ότι τα παραπάνω αυτοαντισώματα ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά στο 13% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα D, αλλά όχι σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β ή C.^{129,150-152} Εντούτοις, τρεις πρόσφατες δημοσιεύσεις έδειξαν την παρουσία των αντι-LKM-3 αντισωμάτων σε ορισμένους ασθενείς με HCV-λοίμωξη (εικ. 10).^{126,153,154} Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν και ενισχύουν περαιτέρω την παρουσία του φαινομένου της μεγάλης ετερογένειας της επαγόμενης από τον HCV αυτοάνοσης απόκρισης.

4.2. Αυτοαντισώματα κατά κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 (αντι-LC1)

Το 1988, ένα νέο αυτοαντίσωμα ανιχνεύθηκε σε ασθενείς με ΑΗ-2.³¹ Το αυτοαντίσωμα αυτό βρέθηκε να αντιδρά με μια πρωτεΐνη των κυτοσολίων του ήπατος (αντι-LC1) και είναι οργανοειδικό αλλά όχι ειδικό του είδους. Τα αντι-LC1 αυτοαντισώματα ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ (φθορισμός μόνο του ηπατικού παρεγχύματος, ενώ ο νεφρός δεν δίνει σήμα),^{31,155} με την οποία παρατηρείται χαρακτηριστικός κυτταροπλασματικός φθορισμός των ηπατοκυττάρων –ιδιαίτερα στις περιπυλαίες περιοχές– ενώ στις περιοχές γύρω από κεντρικές φλέβες διακόπεται. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LC1 δεν είναι ομότιμα κατανεμημένο, τουλάχιστον σε ιστικά παρσκευάσματα ήπατος αρουραίων. Εντούτοις, η ανίχνυσή



Εικόνα 10. Αντιδραστικότητα αντι-LKM θετικών ορών μετά από ανοσοαποτύπωση, χρησιμοποιώντας εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων, ανασυνδυασμένου κυτοχρώματος P450 2D6 (rKYTP450 2D6) και ανασυνδυασμένης ουριδινο-γλυκουρονικής μεταφοράσης (rUGT).

Λωρίδες 1 και 9: Οροί από έναν ασθενή με HCV-λοίμωξη (λωρίδα 1) αρνητικό για αντι-LKM-1 με έμμεσο ανοσοφθορισμό και ειδική ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA) και έναν ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 (λωρίδα 9, αντι-LKM-1-θετικός μάρτυρας). Μια ζώνη 50 kDa αναγνωρίζεται και στις δύο περιπτώσεις, χρησιμοποιώντας rKYTP450 2D6 (αντι-LKM-1).

Λωρίδες 2 και 8: Καμιά αντιδραστικότητα ορού υγιούς μάρτυρα σε εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων (λωρίδα 2) και σε rKYTP450 2D6 (λωρίδα 8).

Λωρίδα 3: Αντιδραστικότητα ορού από ασθενή με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 (αντι-LKM-1-θετικός μάρτυρας). Μια ζώνη 50 kDa αναγνωρίζεται σε εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων.

Λωρίδα 4: Αντιδραστικότητα ορού από ασθενή με HCV-λοίμωξη, θετικού για αντι-LKM με έμμεσο ανοσοφθορισμό (τίτλος: 1:80) αλλά αρνητικού με ειδική αντι-KYTP450 2D6 ELISA. Μια ζώνη 80 kDa αναγνωρίζεται, χρησιμοποιώντας εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων.

Λωρίδα 5: Αντιδραστικότητα ορού από ασθενή με HCV-λοίμωξη, θετικού για αντι-LKM με έμμεσο ανοσοφθορισμό (τίτλος: 1:160) αλλά αρνητικού με ειδική αντι-KYTP450 2D6 ELISA. Καμιά αντιδραστικότητα, χρησιμοποιώντας εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων.

Λωρίδα 6: Αντιδραστικότητα ορού από ασθενή με HCV-λοίμωξη, θετικού για αντι-LKM με έμμεσο ανοσοφθορισμό (τίτλος: 1:80) αλλά αρνητικού με ειδική αντι-KYTP450 2D6 ELISA. Μια ζώνη μοριακού βάρους μεγαλύτερου από 80 kDa αναγνωρίζεται, χρησιμοποιώντας εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων.

Λωρίδα 7: Ορός από έναν ασθενή με HCV-λοίμωξη (ίδιος με αυτόν της λωρίδας 1), αρνητικό για αντι-LKM-1 με έμμεσο ανοσοφθορισμό και ειδική ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA). Δύο ζώνες 50 και 55 kDa αναγνωρίζονται σε εκχύλισμα ανθρώπινων μικροσωμίων.

Λωρίδα 10: Αντιδραστικότητα γνωστού ορού με αντι-LKM-3 αντισώματα (αντι-UGT αντιδραστικότητα). Μια ζώνη 55 kDa αναγνωρίζεται, χρησιμοποιώντας rUGT.

Λωρίδα 11: Ορός από έναν ασθενή με HCV-λοίμωξη (ίδιος με αυτόν στις λωρίδες 1 και 7), αρνητικό για αντι-LKM-1 με έμμεσο ανοσοφθορισμό και ειδική ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA). Μια ζώνη 55 kDa αναγνωρίζεται, χρησιμοποιώντας rUGT (αντι-LKM-3).

τους με την τεχνική του ΕΑΦ είναι συνήθως δύσκολη, λόγω της συνύπαρξής τους στο 50% των περιπτώσεων με τα αντι-LKM-1 αυτοαντισώματα. Για τους παραπάνω λόγους απαιτούνται συνήθως άλλες μέθοδοι για την ανίχνευση των αντι-LC1, όπως η διπλή ανοσοδιάχυση, η ανάστροφη ανοσοηλεκτροφόρηση και μέθοδοι ανοσοαποτύπωσης.^{31,155-157} Τα αντι-LC1 ανιχνεύονται στο 30% των ασθενών με ΑΗ-2 και περίπου στο 50% όλων των περιπτώσεων με θετικά αντι-LKM-1 αυτοαντισώματα.¹⁵⁷ Αξίζει να σημειωθεί επίσης ότι τα αντισώματα αυτά μπορεί να αποτελούν το μοναδικό ορολογικό δείκτη ΑΗ περίπου στο 10% των ασθενών.³¹

Το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LC1 φαίνεται να είναι οργανοειδικό. Πρόκειται για το ένζυμο φορμιννο-τρανσφεράση της κυκλοδεαμινάσης (forminotransferase cyclodeaminase), το οποίο εμπλέκεται στο μεταβολισμό του φυλλικού οξέος.¹⁵⁸ Εντούτοις, άλλη ομάδα ερευνητών έδειξε ότι η argininosuccinate lyase (ASL) μπορεί να είναι το αυτοαντιγόνο-στόχος ενός αντισώματος που είχε παρόμοια «εμφάνιση» ανίχνευσης με διπλή ανοσοδιάχυση σε δείγματα ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος ή με χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες.¹⁵⁹

Τα αντι-LC1 θεωρούνταν μέχρι πρόσφατα ως περισσότερο ειδικοί εργαστηριακοί δείκτες για την ΑΗ-2 από ό,τι τα αντι-LKM-1, καθώς στις αρχικές μελέτες δεν συσχετιζόνταν με την HCV-λοίμωξη.^{31,155} Παρόλα αυτά, η μελέτη των Lenzi et al¹⁵⁷ έδειξε ότι ένα σημαντικό ποσοστό ενηλίκων ασθενών με αντι-LC1 είχαν και δείκτες HCV-λοίμωξης. Η σημασία αυτής της συσχέτισης παραμένει αβέβαιη και πρέπει να επιβεβαιωθεί.^{134,160} Σε αντίθεση με ό,τι είναι γενικά παραδεκτό για τα αντι-LKM-1 αντισώματα, οι τίτλοι των αντι-LC1 φαίνεται να συσχετίζονται με τη βαρύτητα και την ενεργότητα της νόσου, γεγονός που υποδεικνύει τον πιθανό παθογενετικό τους ρόλο στην έκφραση της ΑΗ-2.¹⁶¹ Εντούτοις, η κλινική σημασία των αντι-LC1 δεν έχει ακόμα καθοριστεί με ακρίβεια.

4. ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΑ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ ΤΟΥ APECED

ΑΗ ως κλινικό συστατικό του APECED εκδηλώνεται στο 10-20% των περιπτώσεων APECED.^{17,25,36-38,41,42,85} Το APECED φαίνεται να οφείλεται σε μεταλλαγές που συμβαίνουν σε ένα πρόσφατα ταυτοποιημένο γονίδιο, το αυτοάνοσο ρυθμιστικό γονίδιο (autoimmune regulator gene, *AIRE*).^{39,40,162} Το σύνδρομο αυτό αντιπροσωπεύει το μόνο γνωστό μέχρι στιγμής αυτοάνοσο σύνδρομο που σχετίζεται αιτιολογικά με μονογονιδιακή μεταλλα-

γή.^{39,40,162} Είναι ενδιαφέρον ότι ασθενείς με ΑΗ, χωρίς όμως στοιχεία που να συνηγορούν για την παρουσία APECED, δεν φέρουν τις μεταλλαγές αυτές στο *AIRE*, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι ασθενείς με ΑΗ είναι γενετικά διαφορετικοί από εκείνους με ΑΗ στο πλαίσιο του συνδρόμου.¹⁶³

Παρόμοια με ό,τι συμβαίνει στην ΑΗ-2, η εκδήλωση ΑΗ στο πλαίσιο του APECED συνδυάζεται με την παρουσία αντισωμάτων κατά συστατικών του ΚΥΤΡ450. Από μια μεγάλη μελέτη σε ασθενείς με APECED παρατηρήθηκε χαρακτηριστικό LKM-πρότυπο φθορισμού, καθώς και ένα άλλο πρότυπο που χαρακτηριζόταν από φθορισμό κυρίως στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων που βρίσκονται γύρω από φλέβες (σε αντίθεση με το διάχυτο ομοιογενή τύπο φθορισμού των αντι-LKM στο ηπατικό παρασκεύασμα), ενώ απουσίαζε σήμα φθορισμού στα ιστικά παρασκευάσματα των νεφρών.³⁶ Το ιδιαίτερο αυτό πρότυπο φθορισμού οφείλεται σε αυτοαντισώματα που ονομάστηκαν αντισώματα κατά μικροσωμίων ήπατος (liver microsomal antibodies, αντι-LM).^{36,113,164} Στην ανωτέρω μελέτη, το καθένα από τα αντι-LKM και τα αντι-LM αντισώματα ανιχνεύθηκαν στο 8% του συνόλου των ασθενών με APECED, ανεξαρτήτως της παρουσίας ΑΗ ως κλινικού συστατικού του συνδρόμου.³⁶ Τα ευρήματα αυτά έδειξαν ότι δύο ή περισσότερα μικροσωμιακά αντιγόνα αποτελούν ηπατικά αυτοαντιγόνα-στόχους στο APECED.

Πράγματι, μετά από έλεγχο των ορών των ασθενών με ανασυνδυασμένα αντιγόνα χρησιμοποιώντας τεχνικές ανοσοαποτύπωσης, έγινε σαφές ότι τέσσερα διαφορετικά ένζυμα του συμπλέγματος του ΚΥΤΡ450 αποτελούν ηπατικά αυτοαντιγόνα-στόχους στο APECED.^{36-38,165} Τα ένζυμα αυτά είναι το ΚΥΤΡ450 1A1, το ΚΥΤΡ450 1A2, το ΚΥΤΡ450 2A6 και το ΚΥΤΡ450 2B6.^{36-38,165} Από αυτά, το ΚΥΤΡ450 1A1, το ΚΥΤΡ450 2A6 και το ΚΥΤΡ450 2B6 εκφράζονται τόσο στο ήπαρ όσο και στο νεφρό δίνοντας το τυπικό LKM-πρότυπο φθορισμού, ενώ το ΚΥΤΡ450 1A2 δεν εκφράζεται στο νεφρό, δίνοντας έτσι το LM-πρότυπο φθορισμού. Μεταξύ των τεσσάρων αυτοαντισωμάτων, τα αντι-ΚΥΤΡ450 2A6 ανιχνεύονται συχνότερα στους ασθενείς με APECED (15,6%), ενώ τα αντι-ΚΥΤΡ450 1A2 σπανιότερα (6,3%).³⁶ Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και μετά από ευαίσθητες RLA μεθόδους, που χρησιμοποιήσαν ανασυνδυασμένα και ραδιοσημασμένα με ³⁵S-ΚΥΤΡ450 2A6 και ΚΥΤΡ450 1A2.

Αντίθετα με τα ευρήματα σε ασθενείς με APECED από τη Σαρδηνία,³⁸ η ανίχνευση των αντι-ΚΥΤΡ450 2A6 αυτοαντισωμάτων δεν σχετιζόταν με την παρουσία ΑΗ στην πιο πρόσφατη και μεγαλύτερη μελέτη σε ασθενείς

από τη Φινλανδία.³⁶ Επιπλέον, στην τελευταία μελέτη, τα αντι-ΚΥΤΡ450 1A2 αντισώματα ανιχνεύθηκαν μόνο στους ασθενείς που είχαν ταυτόχρονα ΑΗ στο πλαίσιο του συνδρόμου, υποδεικνύοντας τα αντισώματα αυτά ως ειδικούς εργαστηριακούς δείκτες για τη διάγνωση ΑΗ στο APECED.^{36,37} Τα αντι-ΚΥΤΡ450 2A6 αυτοαντισώματα μπορούν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης για την ύπαρξη APECED, εάν ανιχνευθούν σε έναν ασθενή με ΑΗ. Σε συμφωνία με τα παραπάνω ευρήματα είναι και το γεγονός της ανίχνευσης αντι-LKM/LM φθορισμού στο 50% των ασθενών με ΑΗ ως συστατικό του APECED, αλλά μόνο στο 11% των ασθενών με APECED που δεν είχαν ΑΗ.³⁶ Η ίδια μελέτη έδειξε την παρουσία ANA στο 22% των ασθενών με APECED ανεξάρτητα από την ύπαρξη ΑΗ. Για το λόγο αυτόν, η ανίχνευση των ANA δεν αποτελεί χρήσιμο εργαστηριακό δείκτη για τη διάγνωση ΑΗ στο APECED.³⁶

Αντίθετα, κανένας από τους ορούς των ασθενών με APECED δεν ελέγχθηκε θετικός για αντισώματα κατά αντιγόνων που θεωρούνται ειδικά της ΑΗ-1 ή της ΑΗ-2, όπως το SLA, το ΚΥΤΡ450 2D6 και η φορμιννο-τρανσφεράση της κυκλοδεαμινάσης (αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LC1).³⁶ Επιπλέον, το ΚΥΤΡ450 2A6 και το ΚΥΤΡ450 1A2 δεν βρέθηκαν να αποτελούν αυτοαντιγόνα-στόχους, τόσο σε περιπτώσεις ΑΗ-1 και ΑΗ-2 όσο και σε άλλα μη ηπατικά αυτοάνοσα νοσήματα.³⁶ Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι η ΑΗ (και οι δύο τύποι) και η ΑΗ ως κλινικό συστατικό του APECED χαρακτηρίζονται από την παρουσία διαφορετικών μοριακών αντιγονικών στόχων αυτοανοσίας. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η διάκριση μεταξύ των δύο καταστάσεων μπορεί να γίνει με βάση τις διαφορές στο πρότυπο ανίχνευσης των αυτοαντισωμάτων (πίνακες 6, 7).

Πρόσφατα, με τη χρήση ευαίσθητων τεχνικών (RLA), έχει διαπιστωθεί η παρουσία αντι-ΚΥΤΡ450 2A6 αντισωμάτων στο 2% ασθενών με χρόνια ΗCV-λοίμωξη.¹⁶⁶ Τα παραπάνω ευρήματα ενισχύουν την άποψη της χαμηλής ειδικότητας του αντισώματος αυτού ως δείκτη παρουσίας ΑΗ στο APECED. Ήταν ενδιαφέρον ότι τα ανωτέρω αντισώματα ανιχνεύθηκαν πιο συχνά σε ΗCV-θετικούς ασθενείς που ήταν θετικοί για αντι-LKM-1 (7,5%), ενώ δεν ανιχνεύθηκαν σε κανέναν από τους ασθενείς με ΑΗ-2, οι οποίοι, ως γνωστό, έχουν υψηλούς τίτλους αντι-LKM-1.¹⁶⁶ Η κλινική σημασία της ανίχνευσης των αντισωμάτων αυτών σε ΗCV-θετικούς/αντι-LKM-1-θετικούς ασθενείς δεν έχει προσδιοριστεί.

Τα αντι-LM αυτοαντισώματα περιγράφηκαν αρχικά σε ασθενείς με φαρμακευτική ηπατίτιδα επαγόμενη από διυδραλαζίνη.¹⁶⁷ Το αυτοαντιγόνο-στόχος των αντι-LM και σ' αυτή την περίπτωση είναι το ΚΥΤΡ450 1A2.¹⁶⁷

Πίνακας 6. Αντισώματα και αυτοαντιγόνα-στόχοι στην αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) και την ΑΗ του APECED.

ΑΗ-1 ή ΑΗ-2	ΑΗ στο APECED
ANA, SMA, ANCA, αντι-ASGP-R, αντι-SLA/LP (στόχος: UGA-κατασταλτική tRNA-σχετιζόμενη πρωτεΐνη), αντι-LKM-1 (στόχος: ΚΥΤΡ450 2D6), αντι-LKM-3 (στόχος: UGT1), αντι-LC1 (στόχος: φορμινιοτρανσφεράση της κυκλοδεαμινάσης)	ANA, αντι-LC (στόχος: άγνωστος), αντι-LKM (στόχοι: ΚΥΤΡ450 2A6, ΚΥΤΡ450 1A1 και ΚΥΤΡ450 2B6), αντι-LM (ειδικό αυτοαντίσωμα, στόχος: ΚΥΤΡ450 1A2)

Οι συντημήσεις είναι όμοιες, όπως περιγράφονται στο κείμενο

Πίνακας 7. Συσχετίσεις της παρουσίας αυτοαντισωμάτων κατά μοριακά προσδιορισμένων αυτοαντιγόνων του συμπλέγματος του ΚΥΤΡ450 (ΚΥΡ) σε ασθενείς με χρόνια ηπατικά νοσήματα.

Ανίχνευση αυτοαντισωμάτων με ραδιοδεσμευτική μέθοδο μετά από ανοσοκαθίζηση (RLA)			
Αντι-ΚΥΡ2D6	Αντι-ΚΥΡ2A6	Αντι-ΚΥΡ1A2	Χρόνια ηπατική νόσος
+	-	-	ΑΗ-2 (94-100%), HCV (0-10%)
-	+	-	HCV, APECED με ή χωρίς ηπατίτιδα
-	-	+	ΑΗ σε APECED, φαρμακευτική ηπατίτιδα
+	+	-	HCV (0-7%)
-	+	+	ΑΗ σε APECED

Οι συντημήσεις είναι όμοιες, όπως περιγράφονται στο κείμενο

Στις περιπτώσεις αυτές, η παραγωγή των αντι-LM έχει αποδοθεί στη δέσμευση ενός ενεργού μεταβολίτη του φαρμάκου με το ΚΥΤΡ450 1A2, το οποίο γίνεται έτσι αντιγονικός στόχος.¹⁶⁸ Αντίθετα, σε ασθενείς με APECED δεν έχει αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ ΚΥΤΡ450 1A2 και χρήσης φαρμάκων. Μέχρι στιγμής δεν είναι γνωστό εάν σε ασθενείς με APECED η συνεχής παρακολούθηση για την ανάπτυξη αντι-LM αντισωμάτων μπορεί να οδηγήσει σε πρόωπη διάγνωση ΑΗ ή ίσως και σε δυνατότητα «προφυλακτικής» ανοσοκατασταλτικής αγωγής για την αντιμετώπιση της ΑΗ στο πλαίσιο του APECED. Στοιχεία για το γεγονός ότι αυτοαντισώματα μπορεί να ανιχνευθούν πριν από την κλινική ή και εργαστηριακή εκδήλωση ενός νέου συστατικού του APECED προκύπτουν από μελέτες που έδειξαν ότι, σε περίπτωση φλοιοεπιπεφριδιακής ή ωοθηκικής ανεπάρκειας, τα αντίστοιχα αυτοαντισώματα ανιχνεύονται έως και 2-3 έτη πριν από τις αντίστοιχες κλινικές εκδηλώσεις.¹⁶⁹

Ένα άλλο ηπατικό αυτοαντιγόνο ταυτοποιήθηκε πρόσφατα σε ασθενείς με APECED. Πρόκειται για την αποκαρβοξυλάση των αρωματικών αμινοξέων (aromatic-L-amino acid decarboxylase, AADC).^{165,170} Το ένζυμο αυτό εκφράζεται στα κυττοσόλια των ηπατικών κυττάρων και αρχικά είχε χαρακτηριστεί ως αυτοαντιγόνο των β-κυτ-

τάρων του παγκρέατος.¹⁶⁵ Ο επιπολασμός των αντι-AADC αυτοαντισωμάτων είναι σημαντικά αυξημένος στους ασθενείς με APECED και λεύκη (88%), καθώς και σε εκείνους με ΑΗ στα πλαίσια του συνδρόμου (92%).^{5,17,42} Τα αντισώματα αυτά έχουν περιγραφεί μέχρι στιγμής μόνο στο APECED και ο ρόλος τους στην ΑΗ και τη λεύκη ως κλινικών συστατικών του συνδρόμου χρήζει περαιτέρω μελέτης.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η έγκαιρη διάγνωση της ΑΗ στην καθημερινή κλινική πρακτική είναι μεγάλης σημασίας, αφού η «αναγνώριση» της νόσου επηρεάζει την έκβασή της, καθώς οι περισσότεροι ασθενείς ανταποκρίνονται ευνοϊκά στη χορήγηση ανοσοκαταστολής. Επιπρόσθετα, πρόσφατα πρωτότυπα ευρήματα στα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα και στα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών ασθενών με ΑΗ πιθανολογούν τη δυνατότητα εναλλακτικών επαναστατικών μεθόδων αντιμετώπισης του νοσήματος αυτού, ακόμα και των ανθεκτικών μορφών.¹⁷¹ Διαγνωστικά κριτήρια για την ΑΗ έχουν κωδικοποιηθεί πρόσφατα από τη Διεθνή Ομάδα Μελέτης της ΑΗ.¹¹ Αυτά περιλαμβάνουν περιγραφικά κριτήρια και ένα σύ-

στημα βαθμολόγησης που στηρίζεται σ' ένα σύνολο δημογραφικών, κλινικών, ιστολογικών και εργαστηριακών παραμέτρων, όπως αυτά ορίστηκαν το 1993²⁶ και τροποποιήθηκαν το 1999 (πίνακες 1-4).¹¹ Τα κριτήρια αυτά συνεισφέρουν σημαντικά στη διαφορική διάγνωση του νοσήματος από άλλες μορφές χρόνιων ηπατοπαθειών (πίν. 8). Κλινικά, η διάκριση μεταξύ ΑΗ και χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας (ιδιαίτερα μεταξύ ΑΗ και ΗCV-λοίμωξης) είναι πολύ σημαντική, καθώς η θεραπεία με α-ιντερφερόνη, που δίνεται στις ιογενείς ηπατίτιδες, μπορεί να επάγει έξαρση ή και επιδείνωση λανθάνουσας ΑΗ, ενώ, αντίθετα, η ανοσοκατασταλτική θεραπεία, που βελτιώνει την επιβίωση σε περιπτώσεις ΑΗ, οδηγεί σε αυξημένο ιικό πολλαπλασιασμό και επιδείνωση της ηπατικής βλάβης στις περιπτώσεις ιογενών λοιμώξεων.^{128,136-138}

Η ανίχνευση των μη οργανοειδικών και των σχετιζόμενων με το ήπαρ αυτοαντισωμάτων εξακολουθεί να αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο για τη διάγνωση της ΑΗ. Πράγματι, η βήμα προς βήμα διαγνωστική εφαρμογή των διαφόρων δοκιμασιών για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων είναι θεμελιώδους αρχής για την εκτίμηση οξείας ή χρόνιας ηπατίτιδας άγνωστης αιτιολογίας. Σε ασθενείς με οξεία ή χρόνια αύξηση των αμινοτρανσφερασών, αρνητικό ιολογικό έλεγχο και αρνητικό ιστορικό προηγούμενης χρήσης αλκοόλ, φαρμάκων ή άλλων τοξικών ουσιών, θα πρέπει να γίνεται πρώτα έλεγχος για την παρουσία ANA, SMA και αντι-LKM-1. Ο προσδιορισμός των ANCA ή ANNA, τα οποία παρατηρούνται έως και στο 90% των ασθενών με ΑΗ-1, μπορεί να είναι χρήσιμος για την ανεύρεση ασθενών που είναι οροαρνητικοί για τα παραπάνω αυτοαντισώματα «πρώτης γραμμής», αλλά πρέπει να σημειωθεί ότι από τα ANCA ή ANNA απουσιάζει η ειδικότητα για τη νόσο. Πολλαπλά αυτοαντιγόνα-στόχοι έχουν ταυτοποιηθεί για τα μη οργανοειδικά αυτοαντισώματα, αλλά αυτά δεν

οδήγησαν στο χαρακτηρισμό ειδικών υποπληθυσμών των ασθενών ή στη διαφοροποίηση της στρατηγικής από πλευράς θεραπείας. Επιπλέον, τα περισσότερα από τα αυτοαντισώματα αυτά δεν φαίνεται να συμμετέχουν στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης στην ΑΗ.

Τα αντι-LKM-1 αυτοαντισώματα μπορεί να αποτελούν εξαίρεση της παραπάνω γενικής παραδοχής, καθώς πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το αυτοαντιγόνο-στόχος (ΚΥΤΡ450 2D6) των αυτοαντισωμάτων αυτών εκφράζεται στην εξωτερική επιφάνεια του ηπατοκυττάρου, ενώ ΑΗ-2 δεν έχει παρατηρηθεί σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν για μια αντιγονοεξαρτώμενη αυτοάνοση διαδικασία. Είναι πιθανόν ότι μεταλλαγές στο αυτοαντιγόνο μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολές στην τριτοταγή δομή του μορίου του, οι οποίες, με τη σειρά τους, μπορεί να επάγουν αυτοανοσία.

Αντισώματα κατά αντιγόνων σχετιζόμενων με το ήπαρ παρουσιάζουν παρόμοιους περιορισμούς. Τα αντι-ASGP-R και τα αντι-LC1 αυτοαντισώματα φαίνεται να σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία, υποδεικνύοντας μια πιθανή παθογενετική εμπλοκή στην εμφάνιση της ηπατοκυτταρικής καταστροφής. Εντούτοις, σε γενικές γραμμές, τα αυτοαντισώματα δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως δείκτες παρακολούθησης της θεραπείας, της δραστηριότητας ή της έκβασης της νόσου. Τα αντι-SLA/LP αυτοαντισώματα έχουν θεωρηθεί ως ειδικοί δείκτες για τη διάγνωση της ΑΗ-1. Παρόλα αυτά, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα αντι-SLA/LP μπορούν να ανιχνευθούν σε ασθενείς με ΑΗ-2 και σε παιδιά με ΠΣΧ. Ανεξάρτητα από την ειδικότητα για τη νόσο, που παρουσιάζει το συγκεκριμένο αυτοαντίσωμα, είναι εμφανές ότι ο προσδιορισμός του αναμένεται να περιορίσει την ομάδα της κρυπτιγούς ηπατοπάθειας, αναγνωρίζοντας ασθενείς που δεν είχαν διαγνωστεί ως ΑΗ, καθώς ήταν προηγουμένως ANA, SMA και αντι-LKM-1-αρνητικοί.

Στο APECED, τα αυτοαντισώματα στρέφονται κατά ειδικών συστατικών του συμπλέγματος του ΚΥΤΡ450 (π.χ. ΚΥΤΡ450 1A2, ΚΥΤΡ450 2A6, ΚΥΤΡ450 21, ΚΥΤΡ450 17 και ΚΥΤΡ450 1A1), τα οποία εκφράζονται στα όργανα που προσβάλλονται στην πορεία του συνδρόμου. Οι παρατηρήσεις αυτές αντικρούουν το επιχείρημα της μη συσχέτισής τους με την αιτιοπαθογένεια του συνδρόμου, καθώς και τη θεωρία της ανάπτυξής τους στο πλαίσιο ενός επιφανιόμενου εμφανιζόμενου δευτεροπαθώς μετά από την ιστική καταστροφή.

Ο εναρκτήριος μηχανισμός της αυτοανοσίας στην ΑΗ δεν είναι γνωστός. Η υπόθεση ότι διαφορετικές αιτίες

Πίνακας 8. Διαφορική διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας.

- Πρωτοπαθής χολική κίρρωση, πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα και αυτοάνοση χολαγγειίτιδα
- Οξείες και χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες [ιοί Α έως G/GB-C, αλλά και από τον ιό Epstein-Barr (EBV), τον ιό του απλού έρπητα (HSV) και τον κυτταρομεγαλοϊό (CMV)]
- Αλκοολική και μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα
- Φαρμακευτική ηπατίτιδα και κοκκιοματώδεις ηπατίτιδες
- Ανεπάρκεια α₁-αντιθρυψίνης και νόσος Wilson
- Χολαγγειοπάθεια που σχετίζεται με HIV-λοίμωξη
- Προσβολή του ήπατος σε συστηματικό ερυθματώδη λύκο
- Νόσος μοσχεύματος κατά ξενιστή

μπορεί να οδηγήσουν στη ρήξη της ανοσιακής ανοχής έναντι του ίδιου μοριακά αυτοαντιγόνου-στόχου φαίνεται ελκυστική. Για παράδειγμα, το ΚΥΤΡ450 1A2 είναι ο στόχος στην επαγόμενη από διυδραλαζίνη ηπατίτιδα και στην ΑΗ που εκδηλώνεται στο πλαίσιο του APECED, το ΚΥΤΡ450 2D6 στην ΑΗ-2 και σε ορισμένες περιπτώσεις ΗCV-λοίμωξης, το ΚΥΤΡ450 2A6 στο APECED και σε ορισμένες περιπτώσεις ΗCV-λοίμωξης, ενώ η UGT1

σε ορισμένες περιπτώσεις ΑΗ-2 και στη χρόνια ηπατίτιδα D ή C.

Ερευνητικά πρωτόκολλα, με στόχο τον προσδιορισμό της παθογένειας, της «ευαισθησίας» για την εκδήλωση της νόσου, δεικτών βαρύτητας της νόσου και για την κατανόηση της επιδημιολογίας της ΑΗ, αποτελούν μελλοντικές προκλήσεις στο δύσκολο ερευνητικό και κλινικό πεδίο της νόσου.⁹⁶

ABSTRACT

Autoantibodies and autoantigens associated with autoimmune hepatitis and viruses-induced autoimmune response: Significant tools in clinical practice and in the study of pathogenesis of autoimmune hepatic diseases

G.N. DALEKOS

*Research Laboratory of Internal Medicine and Department of Hepatology,
Medical School, University of Thessalia, Larissa, Greece*

Archives of Hellenic Medicine 2004, 21(6):502-527

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic necroinflammatory disease of the liver characterized by hypergammaglobulinemia, characteristic autoantibodies, association with HLA DR3 or DR4 and a favorable response to immunosuppressive treatment. The etiology is unknown. The detection of non-organ and liver-related autoantibodies remains the hallmark for the diagnosis of the disease in the absence of viral, metabolic, genetic, and toxic etiology of chronic hepatitis or hepatic injury. The current classification of AIH and the several autoantibodies/target-autoantigens found in this disease are reported. Current aspects on the significance of these markers in the differential diagnosis and the study of pathogenesis of AIH are also stated. AIH is subdivided into two major types; AIH type 1 (AIH-1) and type 2 (AIH-2). AIH-1 is characterized by the detection of smooth muscle autoantibodies (SMA) and/or antinuclear antibodies (ANA). Determination of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA), antibodies against the asialoglycoprotein receptor (anti-ASGP-R) and antibodies against to soluble liver antigens or liver-pancreas (anti-SLA/LP) may be useful for the identification of patients who are seronegative for ANA/SMA. AIH-2 is characterized by the presence of specific autoantibodies against liver and kidney microsomal antigens (anti-LKM type 1 or infrequently anti-LKM type 3) and/or autoantibodies against liver cytosol 1 antigen (anti-LC1). Anti-LKM-1 and anti-LKM-3 autoantibodies are also detected in some patients with chronic hepatitis C (HCV) and chronic hepatitis D (HDV). Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) has been documented as the major target-autoantigen of anti-LKM-1 autoantibodies in both AIH-2 and HCV infection. Recent convincing data demonstrated the expression of CYP2D6 on the surface of hepatocytes suggesting a pathogenetic role of anti-LKM-1 autoantibodies for the liver damage. Family 1 of UDP-glucuronosyltransferases has been identified as the target-autoantigen of anti-LKM-3. For these reasons the distinction between AIH and chronic viral hepatitis (especially of HCV) is of particular importance. Recently, the molecular target of anti-SLA/LP and anti-LC1 autoantibodies were identified as a 50 kDa UGA-suppressor tRNA-associated protein and a liver specific enzyme, the forminotransferase cyclodeaminase, respectively. Anti-ASGP-R and anti-LC1 autoantibodies appear to correlate closely with disease severity and response to treatment suggesting a pathogenetic role of these autoantibodies for the hepatocellular injury. In general, however, autoantibodies should not be used to monitor treatment, predict AIH activity or outcome. Finally, the current aspects on a specific form of AIH that may develop in some patients with a rare genetic syndrome, the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome (APECED) are also given. Autoantibodies against liver microsomes (anti-LM) are the specific autoantibodies detected in AIH as a disease component of APECED but also in cases of dihydralazine-induced hepatitis. Cytochrome P450 1A2 has been identified as the target-autoantigen of anti-LM autoantibodies in both APECED-related AIH and

dihydralazine-induced hepatitis. The latter may indicate that similar autoimmune pathogenetic mechanisms can lead to liver injury in susceptible individuals irrespective of the primary defect. Characterization of the autoantigen-autoantibody repertoire continues to be an attractive and important tool to get access to the correct diagnosis and to gain insight into the as yet unresolved mystery of how hepatic tolerance is given up and AIH ensues.

Key words: Antibodies against liver cytosol 1 antigen (anti-LC1), Antibodies against soluble liver antigens or liver pancreas (anti-SLA/LP), Antibodies against the asialoglycoprotein receptor (anti-ASGP-R), Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA), Antinuclear antibodies (ANA), Autoimmune hepatitis, Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome (APECED), Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 2A6, Cytochrome P450 2D6, Forminotransferase cyclodeaminase, Hepatitis C, Hepatitis D, Liver kidney microsomal autoantibodies (anti-LKM), Liver microsomal autoantibodies (anti-LM), Smooth muscle autoantibodies (SMA), UDP-glucuronosyltransferases, UGA-suppressor-tRNA

Βιβλιογραφία

1. CZAJA AJ. Understanding the pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:1224–1231
2. BERDAL JE, EBBESEN J, RYDNING A. Incidence and prevalence of autoimmune liver diseases. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1998, 118:4517–4519
3. BOBERG KM, AADLAND E, JAHNSEN J, RAKNERUD N, STIRIS M, BELL M. Incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis in a norwegian population. *Scand J Gastroenterol* 1998, 33:99–103
4. CZAJA AJ. Autoimmune hepatitis. In: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH (eds) *Gastrointestinal and liver disease. Pathophysiology/diagnosis/management*. 6th ed. WB Saunders Co, Philadelphia, USA, 1998:1265–1274
5. OBERMAYER-STRAUB P, STRASSBURG CP, MANNS MP. Autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2000, 32(Suppl 1):181–197
6. DALEKOS GN, ZACHOU K, MAKRI E, LIASKOS C, PLIAKA A, PAPADAMOU G ET AL. Autoimmune hepatitis type 1 (AIH-1) in Greece: clinical, laboratory and demographic characteristics. *Hepatogastroenterology* 2001, 48(Suppl 1):25
7. VAN DER BERG. Autoimmune hepatitis: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Scand J Gastroenterol* 1998, 225(Suppl):66–69
8. MANNS MP, STRASSBURG CP. Autoimmune hepatitis: clinical challenges. *Gastroenterology* 2001, 120:1502–1517
9. CZAJA AJ. Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis. *Drugs* 1999, 57:49–68
10. OMAGARI K, KINOSHITA H, KATO Y, NAKATA K, KANEMATSU T, KUSUMOTO Y ET AL. Clinical features of 89 patients with autoimmune hepatitis in Nagasaki prefecture, Japan. *J Gastroenterol* 1999, 34:221–226
11. ALVAREZ F, BERG PA, BIANCHI FB, BIANCHI L, BURROUGHS AK, CANCELO EL ET AL. International autoimmune hepatitis group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999, 31:929–938
12. KRAWITT EL. Can you recognize autoimmune hepatitis? *Postgrad Med* 1998, 104:145–149, 152
13. McFARLANE IG. Definition and classification of autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002, 22:317–324
14. KAYMAKOGLU S, CAKALOGLU Y, DEMIR K, TURKOGLU S, BADUR S, GUREL S ET AL. Is severe cryptogenic chronic hepatitis similar to autoimmune hepatitis? *J Hepatol* 1998, 28:78–83
15. CALDWELL SH, OELSNER DH, IEZZONI JC, HESPELHEID EE, BATTLE EH, DRISCOLL CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999, 29:664–669
16. POONAWALA A, NAIR SP, THULUVATH PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case control study. *Hepatology* 2000, 32:689–692
17. DALEKOS GN, ZACHOU K, LIASKOS C, GATSELIS N. Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis: an overview. *Eur J Intern Med* 2002, 13:293–303
18. PATHMAKANTHAN S, KAY EW, MURRAY FE. Autoimmune chronic active hepatitis associated with the presence of antiphospholipid antibodies. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998, 10:155–157
19. RATZIU V, SAMUEL D, SEBAGH M, FARGES O, SALIBA F, ICHAI P ET AL. Long-term follow-up after liver transplantation for autoimmune hepatitis: evidence of recurrence of primary disease. *J Hepatol* 1999, 30:131–141
20. KERKAR N, HADZIC N, DAVIES ET, PORTMANN B, DONALDSON PI, RELA M ET AL. *De novo* autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Lancet* 1998, 351:409–413
21. PARKER DR, KINGHAM JGC. Type I autoimmune hepatitis is primarily a disease of later life. *QJM* 1997, 90:289–296
22. TODA G, ZENIYA M, WATANABE F, IMAWARI M, KIYOSAWA K, NISHIOKA M ET AL. Present status of autoimmune hepatitis in Japan correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. Japanese National Study Group of Autoimmune Hepatitis. *J Hepatol* 1997, 26:1207–1212
23. NEWTON JL, BURT AD, PARK JB, MATHEW I, BASSENDINE MF, JAMES OF. Autoimmune hepatitis in older patients. *Age Ageing* 1997, 26:441–444
24. SCHRAMM C, KANZLER S, BUSCHENFELDE KH, GALLE PR, LOHSE AW. Autoimmune hepatitis in the elderly. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:1587–1591

25. STRASSBURG CP, MANNS MP. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002, 22:339–351
26. JOHNSON PJ, McFARLANE IG. Meeting report of the International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993, 18:998–1005
27. FABIEN N, DESBOS A, BIENBENU J, MAGDALOU J. Autoantibodies directed against the UDP-glucuronotransferases in human autoimmune hepatitis. *Autoimmune Rev* 2004, 3:1–9
28. CZAJA AJ, MANNS MP. The validity and importance of subtypes in autoimmune hepatitis: A point of view. *Am J Gastroenterol* 1995, 90:1206–1211
29. DESMET V, GERBER MA, HOOFNAGLE JH, MANNS MP, SCHEUER P. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994, 19:1513–1520
30. HOMBERG JC, ABUAF N, BERNARD O, ISLAM S, ALVAREZ F, KHALIL SH ET AL. Chronic active hepatitis associated with anti-liver kidney microsome antibody type I: A second type of “autoimmune hepatitis”. *Hepatology* 1987, 7:1333–1339
31. MARTINI E, ABUAF N, CAVALLI F, DURAND V, JOHANET C, HOMBERG JC. Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with autoimmune hepatitis type 2. *Hepatology* 1988, 8:1662–1666
32. MANNS M, GERKEN G, KYRIATSOUKIS A, STARITZ M, MEYER ZUM BUSCHENFELDE KH. Characterization of a new subgroup of autoimmune chronic active hepatitis by autoantibodies against soluble liver antigen. *Lancet* 1987, i:292–294
33. BERG PA, STECHEMESSER E, STRENZ J. Hypergammaglobulinaemische chronisch aktive Hepatitis mit Nachweis von Leber-Pankreas-spezifischen koplementbindenden Antikoerpern. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1981, 87:921–927
34. STECHEMESSER E, KLEIN R, BERG PA. Characterization and clinical relevance of liver-pancreas antibodies in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1993, 18:1–9
35. AHONEN P, MYLLARNIEMI S, SIPILA I, PERHEENTUPA J. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N Engl J Med* 1990, 322:1829–1836
36. OBERMAYER-STRAUB P, PERHEENTUPA J, BRAUN S, KAYSER A, BARUT A, LOGES S ET AL. Hepatic autoantigens in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Gastroenterology* 2001, 121:668–677
37. CLEMENTE MG, OBERMAYER-STRAUB P, MELONI A, STRASSBURG CP, ARANGINO V, TUKEY RH ET AL. Cytochrome P450 1A2 is a hepatic autoantigen in autoimmune polyglandular syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82:1353–1361
38. CLEMENTE MG, MELONI A, OBERMAYER-STRAUB P, FRAU F, MANNS MP, DE VIRGILIIS S. Two cytochromes P450 are major hepatocellular autoantigens in autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Gastroenterology* 1998, 114:324–328
39. THE FINISH-GERMAN APECED CONSORTIUM. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat Genet* 1997, 17:399–403
40. NAGAMINE K, PETERSON P, SCOTT HS, KUDOH J, MINOSHIMA S, HEINO M ET AL. Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet* 1997, 17:393–398
41. PERHEENTUPA J. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). *Horm Metab Res* 1996, 28:353–356
42. OBERMAYER-STRAUB P, STRASSBURG CP, MANNS MP. Autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Clin Rev Allergy Immunol* 2000, 18:167–183
43. KANZLER S, WEIDEMANN C, GERKEN G, LOHR HF, GALLE PR, MEYER ZUM BUSCHENFELDE KH ET AL. Clinical significance of autoantibodies to soluble liver antigen in autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999, 31:635–640
44. BALLOT E, HOMBERG JC, JOHANET C. Antibodies to soluble liver antigen: an additional marker in type 1 auto-immune hepatitis. *J Hepatol* 2000, 33:208–215
45. GREGORIO GV, PORTMAN B, REID F, DONALDSON PT, DOHERTY DG, McCARTNEY M ET AL. Autoimmune hepatitis in childhood: a 20 year experience. *Hepatology* 1997, 25:541–547
46. JURADO A, CARDABA B, JARA P, CUADRADO P, HIERRO L, DE ANDRES B ET AL. Autoimmune hepatitis type 2 and hepatitis C virus infection: Study of HLA antigens. *J Hepatol* 1997, 26:983–991
47. CZAJA AJ, NISHIOKA M, MORSHED SA, HACIYA T. Patterns of nuclear immunofluorescence and reactivities to recombinant nuclear antigens in autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1994, 107:200–207
48. STRASSBURG CP, MANNS MP. Antinuclear antibody (ANA) patterns in hepatic and extrahepatic autoimmune disease. *J Hepatol* 1999, 31:751
49. CZAJA AJ, CASSANI F, CATALETA M, VALENTINI P, BIANCHI FB. Antinuclear antibodies and patterns of nuclear immunofluorescence in type 1 autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1997, 42:1688–1696
50. STRASSBURG C, ALEX B, ZINDY F, GERKEN G, LUTTING B, BUSCHENFELDE KH ET AL. Identification of cyclin A as a molecular target of antinuclear antibodies (ANA) in hepatic and non-hepatic diseases. *J Hepatol* 1996, 25:859–866
51. CZAJA AJ, MORSHED SA, PARVEEN S, NISHIOKA M. Antibodies to single stranded and double-stranded DNA in antinuclear antibody-positive type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1997, 26:567–572
52. PARVEEN S, MORSHED SA, ARIMA K, NISHIOKA M, CZAJA AJ, CHOW WC ET AL. Antibodies to Ro/La, Cenp-B, and snRNPs antigens in autoimmune hepatitis of North America versus Asia: patterns of immunofluorescence, ELISA reactivities, and HLA association. *Dig Dis Sci* 1998, 43:1322–1331
53. CZAJA AJ, CASSANI F, CATALETA M, VALENTI P, BIANCHI FB. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1996, 24:1068–1073
54. CZAJA AJ. Behavior and significance of autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999, 30:394–401
55. DALEKOS GN, MANOUSSAKIS MN, ZERVOU E, TSANOS EV, MOUTSOPOULOS HM. Immunologic and viral markers in anti-HIV negative heroin addicts. *Eur J Clin Invest* 1993, 23:219–225
56. DALEKOS GN, MANOUSSAKIS MN, MERKOUROPOULOS MC, TSANOS EV. Autoimmunity and cellular immune activation before and after α -interferon administration in Greek patients with chronic viral hepatitis. A preliminary study. *Hell J Gastroenterol* 1993, 6:166–171

57. LOPEZ SI, SEIA J, ROY A, CUARTEROLO M, CANERO V, MARIA C ET AL. Anti-actin antibodies in acute viral hepatitis A in children. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1998, 30:261–264
58. 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 disease profile. *Hepatology* 1997, 26:561–566
59. LENZI M, BELLENTANI S, SACCOCCIO G, MURATORI P, MASSUTTI 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, 45:435–441
60. MURATORI P, MURATORI L, STROFFOLINI T, PAPPAS G, TERLIZZI P, FERRARI F ET AL. Prevalence of non-organ specific autoantibodies in HCV-infected subjects in the general population. *Clin Exp Immunol* 2003, 131:118–121
61. MASSARD J, JOHANET C, BEDOSSA P, POYNARD T, BUFFET C, DI MARTINO V. Impact of hepatitis C-associated autoantibodies (AAbs) on the liver pathology and the response to antiviral therapy (abstract). *J Hepatol* 2003, 38(Suppl 2):155
62. STROFFOLINI T, COLLOREDO G, GAETA GB, SONZOGNI A, ANGELETTI S, MARGINANI M ET AL. Does an “autoimmune” profile affect the severity of chronic hepatitis C? Results of an Italian survey (abstract). *J Hepatol* 2003, 38(Suppl 2):209
63. BORTOLOTTI F, VAJRO P, BALLI F, GIACCHINO R, CRIVELLARO C, BARBERA C ET AL. Non-organ specific autoantibodies in children with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996, 25:614–620
64. GREGORIO GV, PENSATI P, IORIO R, VEGNENTE A, MIELI-VERGANI G, VERGANI D. Autoantibody prevalence in children with liver disease due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol* 1998, 112:471–476
65. MURATORI P, MURATORI L, VERUCCHI G, ATTARD L, BIANCHI FB, LENZI M. Non-organ-specific autoantibodies in children with chronic hepatitis C: Clinical significance and impact on interferon treatment. *Clin Infect Dis* 2003, 37:1320–1326
66. GREGORIO GV, JONES H, CHOUDHOURI K, VEGNENTE A, BORTOLLOTTI F, MIELI-VERGANI G ET AL. Autoantibody prevalence in chronic hepatitis B virus infection: Effect of interferon alfa. *Hepatology* 1996, 24:520–523
67. GREGORIO GV, CHOUDHURI K, MA Y, PENSATI P, IORIO R, GRANT P ET AL. 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, 133:404–413
68. DALEKOS GN, HATZIS J, TSIANOS EV. Dermatologic disease during interferon-alpha therapy for chronic viral hepatitis. *Ann Intern Med* 1998, 128:409–410
69. DALEKOS GN, KISTIS K, BOUMBA D, VOULGARIS P, ZERVOU EK, DROSOS AA ET AL. Increased incidence of anticardiolipin antibodies in patients with hepatitis C is not associated with aetiopathogenetic link to antiphospholipid syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000, 12:67–74
70. ZACHOU K, LIASKOS C, CHRISTODOULOU DK, KARDASI M, PAPADAMOU G, GATSELIS N ET AL. Anti-cardiolipin antibodies in patients with chronic viral hepatitis are independent of beta2-glycoprotein I cofactor of features of antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest* 2003, 33:161–168
71. DALEKOS GN, CHRISTODOULOU D, KISTIS K, ZERVOU EK, HATZIS J, TSIANOS EV. A prospective evaluation of dermatological side effects during alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998, 10:933–939
72. VAN DER WOUDE FJ, RASMUSSEN N, LOBATTO S, WIIK A, PERMIN H, VAN ES LA ET AL. Autoantibodies against neutrophils and monocytes tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener’s granulomatosis. *Lancet* 1985, i:425–429
73. FALK RJ, JENNETTE JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* 1988, 318:1651–1657
74. DALEKOS GN, MANOUSSAKIS MN, GOUSSIA AC, TSIANOS EV, MOUTSOPOULOS HM. Soluble interleukin-2 receptors, antineutrophil cytoplasmic antibodies and other autoantibodies in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1993, 34:658–664
75. DUERR RH, TARGAN SR, LANDERS CJ, LaRUSSO NF, LINDSAY KL, WIESNER RH ET AL. Neutrophil cytoplasmic antibodies: a link between primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1991, 100:1385–1391
76. POKORNY CS, NORTON ID, McCAUGHAN GW, SELBY WS. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody: a prognostic indicator in primary sclerosing cholangitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1994, 9:40–44
77. TARGAN SR, LANDERS C, VIDRICH A, CZAJA AJ. High titer antineutrophil cytoplasmic antibodies in type-1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1995, 108:1159–1166
78. ROOZENDAAL C, DE JONG MA, VAN DEN BERG AP, VAN WIJK RT, LIMBURG P, KALLENBERG CGM ET AL. Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases. *J Hepatol* 2000, 32:734–741
79. TERJUNG B, HERZOG V, WORMAN HJ, CESTMANN I, BAUER C, SAUERBRUCH T ET AL. Atypical antineutrophil cytoplasmic antibodies with perinuclear fluorescence in chronic inflammatory bowel diseases and hepatobiliary disorders colocalize with nuclear lamina proteins. *Hepatology* 1998, 28:332–340
80. ROOZENDAAL C, KALLENBERG CGM. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases. *Hepato-gastroenterology* 1999, 46:3034–3040
81. ZAULI D, GHETTI S, GRASSI A, DESCOVICH C, CASSANI F, BALLARDINI G ET AL. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1997, 25:1105–1107
82. LINDGREN S, NILSSON S, NASSBERGER L, VERBAAN H, WIESLANDER J. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with chronic liver diseases: prevalence, antigen specificity and predictive value for diagnosis of autoimmune liver disease. Swedish Internal Medicine Liver Club. *J Gastroenterol Hepatol* 2000, 15:437–442
83. CLAISE C, JOHANET C, BOUHNIC Y, KAPEL N, HOMBERG JC, POU-PON R. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in autoimmune liver and inflammatory bowel diseases. *Liver Int* 1996, 16:1095–1100

84. MULDER AHL, HORST G, HAAGSMA EB, LIMBURG PC, KLEIBEUKER JH, KALLENBERG GM. Prevalence and characterization of neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune liver diseases. *Hepatology* 1993, 17:411–417
85. CZAJA AJ, HOMBURGER HA. Autoantibodies in liver disease. *Gastroenterology* 2001, 120:239–249
86. SOBAJIMA J, OZAKI S, UESUGI H, OSAKADA F, INOUE M, FUKUDA Y ET AL. High mobility group (HMG) non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2 are significant target antigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune hepatitis. *Gut* 1999, 44:867–873
87. ORTH T, GERKEN G, KELLNER R, MEYER ZUM BUESCHENFELDE KH, MAYET WJ. Actin is a target antigen of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune hepatitis type-1. *J Hepatol* 1997, 26:37–47
88. TERJUNG B, WORMAN HJ. Anti-neutrophil antibodies in primary sclerosing cholangitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001, 15:629–642
89. DALEKOS GN, TSANOS EV. Antineutrophil antibodies in chronic viral hepatitis (letter). *J Hepatol* 1994, 20:561
90. OHIRA H, TOJO J, SHINZAWA J, SUZUKI T, MIYATA M, NISHIMAKI T ET AL. Antineutrophil cytoplasmic antibody in patients with antinuclear antibody-positive chronic hepatitis C. *Fukushima J Med Sci* 1998, 44:83–92
91. WU YY, HSU TC, CHEN TY, LIU TC, LIU GY, LEE YJ ET AL. Proteinase 3 and dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) are major autoantigens in hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol* 2002, 128:347–352
92. TREICHEL U, McFARLANE BM, SEKI T, KRAWITT EL, ALESSI N, STICKEL F ET AL. Demographics of anti-asialoglycoprotein receptor autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1994, 107:799–804
93. CZAJA AJ, PFEIFER KD, DECKER RH, VALLARI AS. Frequency and significance of antibodies to asialoglycoprotein receptor in type 1 autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1996, 41:1733–1740
94. McFARLANE BM, SIPOS J, GOVE CD, McFARLANE IG, WILLIAMS R. Antibodies against the hepatic asialoglycoprotein receptor perfused *in situ* preferentially attach to periportal liver cells in the rat. *Hepatology* 1990, 11:408–415
95. McFARLANE IG. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Bioméd Pharmacother* 1999, 53:255–263
96. CZAJA AJ, MANNS MP, McFARLANE IG, HOOFNAGLE JH. Autoimmune hepatitis: The investigational and clinical challenges. *Hepatology* 2000, 31:1194–2000
97. TREICHEL U, GERKEN G, ROSSOL S, ROTTHAUWE HW, BUSCHENFELDE KH, PORALLA AS. Autoantibodies against the human asialoglycoprotein receptor: Effects of therapy in autoimmune and virus induced chronic active hepatitis. *J Hepatol* 1993, 19:55–63
98. WACHTER B, KYRIATSOULIS A, LOHSE AW, GERKEN G, BUSCHENFELDE KH, MANNS M. Characterization of liver cytokeratin as a major target antigen of anti-SLA antibodies. *J Hepatol* 1990, 11:232–239
99. MANNS MP. Cytoplasmic autoantigens in autoimmune hepatitis: Molecular analysis and clinical relevance. *Semin Liver Dis* 1991, 11:205–214
100. MANNS MP. Antibodies to soluble liver antigen: specific marker of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2000, 33:326–328
101. WIES I, BRUNNER S, HENNINGER J, HERKEL J, KANZLER S, BUSCHENFELDE KH ET AL. Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 2000, 355:1510–1515
102. WESIERSKA-GADEK J, GRIMM R, HITCHMAN E, PENNER E. Members of the glutathione S-transferase gene family are antigens in autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1998, 114:329–335
103. VOLKMAN M, MARTIN L, BAEURLE A, HEID H, STRASSBURG CP, TRAUTWEIN C ET AL. Soluble liver antigen: Isolation of a 35 kD recombinant protein (SLA-P35) specifically recognizing sera from patients with autoimmune hepatitis type 3. *Hepatology* 2001, 33:591–596
104. COSTA M, RODRIGUEZ-SANCHEZ JL, CZAJA AJ, GELPI C. Isolation and characterization of cDNA encoding the antigenic protein of the human tRNP(Ser)Sec complex recognized by autoantibodies from patients with type-1 autoimmune hepatitis. *Clin Exp Immunol* 2000, 121:364–374
105. GELPI C, SONTHEIMER E, RODRIGUEZ-SANCHEZ J. Autoantibodies against a serine tRNA-protein complex implicated in cotranslational selenocysteine insertion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:9739–9743
106. BAERES M, HERKEL J, CZAJA AJ, WIES I, KANZLER S, CANCELADO EL ET AL. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics. *Gut* 2002, 51:259–264
107. MA Y, OKAMOTO M, THOMAS MG, BOGDANOS DP, LOPES AR, PORTMANN B ET AL. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2002, 36:658–664
108. YAMAMOTO AM, JOHANET C, DUCLOS-VALLEE JC, BUSTARRET FA, ALVAREZ F, HOMBERG JC ET AL. A new approach to cytochrome CYP2D6 antibody detection in autoimmune hepatitis type-2 (AIH-2) and chronic hepatitis C virus (HCV) infection: A sensitive and quantitative radioligand assay. *Clin Exp Immunol* 1997, 108:396–400
109. MA Y, GREGORIO G, GAKEN J, MURATORI L, BIANCHI FB, MIELIVERGANI G ET AL. Establishment of a novel radioligand assay using eukaryotically expressed cytochrome P4502D6 for the measurement of liver kidney microsomal type-1 antibody in patients with autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1997, 26:1396–1402
110. SUGIMURA T, OBERMAYER-STRAUB P, KAYSER A, BRAUN S, LOGES S, ALEX B ET AL. A major CYP2D6 autoepitope in autoimmune hepatitis type 2 and chronic hepatitis C is a three-dimensional structure homologous to other cytochrome P450 autoantigens. *Autoimmunity* 2002, 35:501–513
111. CZAJA AJ, DONALDSON PT, LOHSE AW. Antibodies to soluble liver antigen/liver pancreas and HLA risk factors for type 1 autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2002, 97:413–419
112. BEAUNE P, DANSETTE PM, MANSUY D, KIFFEL L, FINCK M, AMAR C ET AL. Human antiendoplasmic reticulum autoantibodies appearing in a drug-induced hepatitis directed against a human liver cytochrome P450 that hydroxylates the drug. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987, 84:551–555

113. OBERMAYER-STRAUB P, STRASSBURG CP, MANNS MP. Targets proteins in human autoimmunity: Cytochromes P450 and UDP-glucuronosyltransferases. *Can J Gastroenterol* 2000, 14:429–439
114. MANNS M, JOHNSON EF, GRIFFIN KJ, TAN EM, SULLIVAN KF. The major target antigen of liver kidney microsomal autoantibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450 db1. *J Clin Invest* 1989, 83:1066–1072
115. RIZZETTO M, SWANA G, DONIACH D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. *Clin Exp Immunol* 1973, 15:331–344
116. GUEGUEN M, YAMAMOTO AM, BERNARD O, ALVAREZ F. Anti-liver kidney microsome antibody type 1 recognizes cytochrome P450 db1. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 159:542–547
117. ZANGER UM, HAURI HP, LOEPER J, HOMBERG JC, MEYER UA. Antibodies against human cytochrome P450 db 1 in autoimmune hepatitis type 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988, 85:8256–8260
118. MANNS M, ZANGER U, GERKEN G, SULLIVAN KF, MEYER ZUM BUSCHENFELDE KH, MEYER UA ET AL. Patients with type II autoimmune hepatitis express functionally intact cytochrome P450 db1 that is inhibited by LKM1 autoantibodies *in vitro* but not *in vivo*. *Hepatology* 1990, 12:127–132
119. MANNS MP, GRIFFIN KJ, SULLIVAN KF, JOHNSON EF. LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450 2D6, a cytochrome P450 monooxygenase. *J Clin Invest* 1991, 88:1370–1378
120. YAMAMOTO AM, CRESTEIL D, BONIFACE O, CLERC FF, ALVAREZ F. Identification and analysis of cytochrome P450 2D6 antigenic sites recognized by anti-liver kidney microsome type-1 antibodies (LKM1). *Eur J Immunol* 1993, 23:1105–1111
121. KLEIN R, ZANGER UM, BERG T, HOPF U, BERG PA. Overlapping but distinct specificities of anti-liver-kidney microsomes antibodies in autoimmune hepatitis type II and hepatitis C revealed by recombinant native CYP2D6 and novel peptide epitopes. *Clin Exp Immunol* 1999, 118:290–297
122. KERKAR N, CHOUDHURI K, MA Y, MAHMOUD A, BOGDANOS DP, MURATORI L ET AL. Cytochrome P4502D6 (193–212): A new immunodominant epitope and target of virus/self cross-reactivity in liver kidney microsomal autoantibody type 1-positive liver disease. *J Immunol* 2003, 170:1481–1489
123. DUCLOS-VALLEYE JC, HAJOUI O, YAMAMOTO AM, JACQZ-AIGRAIN E, ALVAREZ F. Conformational epitopes on CYP 2D6 are recognized by liver/kidney microsomal antibodies. *Gastroenterology* 1995, 108:470–476
124. NISHIOKA M, MORSHED SA, KONO K, HIMOTO T, PARVEEN S, ARIMA K ET AL. Frequency and significance of antibodies to P450IID6 protein in Japanese patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1997, 26:992–1000
125. CLIFFORD BD, DONAHUE D, SMITH L, CABLE E, LUTTING B, MANNS M ET AL. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995, 21:613–619
126. DALEKOS GN, MAKRI E, LOGES S, OBERMAYER-STRAUB P, ZACHOU K, TSIKRIKAS T ET AL. Increased incidence of anti-LKM autoantibodies in a consecutive cohort of HCV patients from central Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002, 14:35–42
127. MIYAKAWA H, KITAZAWA E, KIKUCHI K, FUJIKAWA H, KAWAGUCHI N, ABE K ET AL. Immunoreactivity to various human cytochrome P450 proteins of sera from patients with autoimmune hepatitis, chronic hepatitis B, and chronic hepatitis C. *Autoimmunity* 2000, 33:23–32
128. DALEKOS GN, WEDEMEYER H, OBERMAYER-STRAUB P, KAYSER A, BARUT A, FRANK H ET AL. Epitope mapping of cytochrome P450 2D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C under α -interferon treatment. *J Hepatol* 1999, 30:366–375
129. DURAZZO M, PHILIPP T, VAN PELT FNAM, LUTTING B, BORGHE-SIO E, MICHEL G ET AL. Heterogeneity of microsomal autoantibodies (LKM) in chronic hepatitis C and D virus infection. *Gastroenterology* 1995, 108:455–462
130. MURATORI L, LENZI M, MA Y, CATALETA M, MIELI-VERGANI G, VERGANI D ET AL. Heterogeneity of liver/kidney microsomal antibody type 1 in autoimmune hepatitis and hepatitis C virus related liver disease. *Gut* 1995, 37:406–412
131. HERZOG D, YAMAMOTO AM, JARA P, MAGGIORE G, SARLES J, ALVAREZ E. Sera of children with hepatitis C infection and anti-liver-kidney microsomes-1 antibodies recognize different CYP2D6 epitopes than adults with LKM+/HCV+ sera. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999, 29:551–555
132. MA Y, PEAKMAN M, LOBO-YEO A, WEN L, LENZI M, GAKEN J ET AL. Differences in immune recognition of cytochrome P450 2D6 by liver kidney microsomal (LKM) antibody in autoimmune hepatitis and chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 1994, 97:94–99
133. YAMAMOTO AM, CRESTEIL D, HOMBERG JC, ALVAREZ F. Characterization of anti-liver-kidney microsome antibody (anti-LKM1) from hepatitis C virus-positive and -negative sera. *Gastroenterology* 1993, 104:1762–1767
134. LUNEL F, ABUAF N, FFRANGEUL L, GRIPPON P, PERRIN M, LE COZ Y ET AL. Liver/kidney microsome antibody type 1 and hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1992, 16:630–636
135. MIYAKAWA H, KITAZAWA E, ABE K, KAWAGUCHI N, FUJIKAWA H, KIKUCHI K ET AL. Chronic hepatitis C associated with anti-liver/kidney microsome-1 antibody is not a subgroup of autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol* 1997, 32:769–776
136. RUIZ-MORENO M, RUA MJ, CARRENO V, QUIRONGA JA, MANNS M, BUSCHENFELDE KH ET AL. Autoimmune chronic active hepatitis type 2 manifested during interferon therapy in children. *J Hepatol* 1991, 12:265–266
137. TODROS L, SARACCO G, DURAZZO M, ABBATE ML, TOUSCOZ G, SCAGLIONE L ET AL. Efficacy and safety of interferon alpha therapy in chronic hepatitis C with autoantibodies to liver-kidney microsomes. *Hepatology* 1995, 22:1374–1378
138. MURATORI L, LENZI M, CATALETA M, GIOSTRA F, CASSANI F, BALLARDINI G ET AL. Interferon therapy in liver/kidney microsomal antibody type 1-positive patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1994, 21:199–203

139. DUMOULIN FL, LEIFELD L, SAUERBRUCH T, SPENGLER U. Autoimmunity induced by interferon-alpha therapy for chronic viral hepatitis. *Biomed Pharmacother* 1999, 53:242–254
140. MANNS MP, JENTZSCH M, MERGENER K. Discordant manifestation of LKM-1 antibody positive autoimmune hepatitis in identical twins (abstract). *Hepatology* 1990, 12:840
141. CHOULDRY K, GREGORIO GV, MELI-VERGANI G, VERGANI D. Immunological cross-reactivity to multiple autoantigens in patients with liver kidney microsomal type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1998, 28:1177–1181
142. BOGDANOS DP, LENZI M, OKAMOTO M, RIGOPOULOU EI, MURATORI P, MA Y ET AL. Multiple viral/self immunological cross-reactivity in liver kidney microsomal antibody positive hepatitis C virus infected patients is associated with the possession of HLA 51. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2004, 17:83–92
143. LOEPER J, LOUERAT-ORIOU B, DUPOUR C, POMPON D. Yeast expressed cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) exposed on the external face of plasma membrane is functionally competent. *Mol Pharmacol* 1998, 54:8–13
144. MURATORI L, PAROLA M, RIPALTI A, ROBINO G, MURATORI P, BELLOMO G ET AL. Liver/kidney microsomal antibody type 1 targets CYP2D6 on hepatocyte plasma membrane. *Gut* 2000, 46:553–561
145. LOHR HF, SCHLAACK JF, LOHSE AW, BOCHER WO, ARENZ M, GERKEN G ET AL. Autoreactive CD4+ LKM-specific and antidonotypic T-cell responses in LKM-1 antibody-positive autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1996, 24:1416–1421
146. ARENZ M, PINGEL S, SCHIRMACHER P, MEYER ZUM BUSCHENFELDE KH, LOHR HF. T cell receptor Vbeta chain restriction and preferred CDR3 motifs of liver-kidney microsomal antigen (LKM-1)-reactive T cells from autoimmune hepatitis patients. *Liver Int* 2001, 21:18–25
147. LOEPER J, LE BERRE A, POMPON D. Topology inversion of CYP2D6 in the endoplasmic reticulum is not required for plasma membrane transport. *Mol Pharmacol* 1998, 53:408–414
148. VERGANI D. LKM antibody: getting in some target practice. *Gut* 2000, 46:449–450
149. MA Y, THOMAS MG, OKAMOTO M, BOGDANOS DP, NAGL S, KERKAR N ET AL. Key residues of a major cytochrome P4502D6 epitope are located on the surface of the molecule. *J Immunol* 2002, 169:277–285
150. STRASSBURG CP, OBERMAYER-STRAUB P, ALEX B, DURAZZO M, RIZZETTO M, TUKEY RH ET AL. Autoantibodies against glucuronosyltransferases differ between viral hepatitis and autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1996, 111:1582–1592
151. PHILIPP T, DURAZZO M, TRAUTWEIN C, ALEX B, STRAUB P, LAMB JG ET AL. LKM-3 autoantibodies in chronic hepatitis D recognise the UDP-glucuronosyl-transferases. *Lancet* 1994, 344:578–581
152. CRIVELLI O, LAVARINI C, CHIABERGE E, AMOROSO A, FARCI P, NEGRO F ET AL. Microsomal autoantibodies in chronic infection with HBsAg associated delta (D) agent. *Clin Exp Immunol* 1983, 54:232–238
153. CSEPREGI A, NEMESANSZKY E, LUETTIG B, OBERMAYER-STRAUB P, MANNS MP. LKM3 autoantibodies in hepatitis C cirrhosis: a further phenomenon of the HCV-induced autoimmunity. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:910–911
154. BACHRICH T, THALHAMMER T, JAGER W, HASLMAYER P, ALIHODZIC B, BAKOS S ET AL. Characterization of autoantibodies against uridine-diphosphate glucuronosyltransferase in patients with inflammatory liver diseases. *Hepatology* 2001, 33:1053–1059
155. ABUAF N, JOHANET C, CHRETIEN P, MARTINI E, SOULIER E, LAPERCHE S ET AL. Characterization of liver cytosol antigen type 1 reacting with autoantibodies in chronic active hepatitis. *Hepatology* 1992, 16:892–898
156. MURATORI L, CATALETA M, MURATORI P, MANOTTI P, LENZI M, CASSANI F ET AL. Detection of anti-liver cytosol antibody type 1 (anti-LC1) by immunodiffusion, counterimmunoelectrophoresis and immunoblotting: comparison of three different techniques. *J Immunol Methods* 1995, 187:259–264
157. LENZI M, MANOTTI P, MURATORI L, CATALETA M, BALLARDINI G, CASSANI F ET AL. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. *Gut* 1995, 36:749–754
158. LAPIERRE P, HAJOUJI O, HOMBERG JC, ALVAREZ F. Forminotransferase cyclodeaminase is organ-specific autoantigen recognized by sera of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1999, 116:643–649
159. PELLI N, FENSOM AH, SLADE C, BOA F, MELI-VERGANI G, VERGANI D. Argininosuccinate lyase: a new autoantigen in liver disease. *Clin Exp Immunol* 1998, 114:455–461
160. OBERMAYER-STRAUB P, MANNS MP. Hepatitis C and D, retroviruses and autoimmune manifestations. *J Autoimmun* 2001, 16:275–285
161. MURATORI L, CATALETA M, MURATORI P, LENZI M, BIANCHI FB. Liver/kidney microsomal antibody type 1 and liver cytosol antibody type 1 concentrations in type 2 autoimmune hepatitis. *Gut* 1998, 42:721–726
162. RINDERLE C, CHRISTENSEN HM, SCHWEIGER S, LEHRACH H, YASPO ML. *AIRE* encodes a nuclear protein co-localizing with cytoskeletal filaments: Altered sub-cellular distribution of mutants lacking the PHD zinc fingers. *Hum Mol Genet* 1999, 8:277–290
163. VOGEL A, LIERMANN H, HARMS A, STRASSBURG CP, MANNS MP, OBERMAYER-STRAUB P. Autoimmune regulator *AIRE*: evidence for genetic differences between autoimmune hepatitis and hepatitis as part of the autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Hepatology* 2001, 33:1047–1052
164. OBERMAYER-STRAUB P, MANNS MP. The autoimmune polyglandular syndromes. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1999, 12:293–315
165. GEBRE-MEDHIN G, HUSEBYE ES, GUSTAFSON J, WINQVIST O, GOKSOYR A, RORSMAN F ET AL. Cytochrome P450IA2 and aromatic L-amino acid decarboxylase are hepatic autoantigens in autoimmune polyendocrine syndrome type I. *FEBS Lett* 1997, 412:439–445

166. DALEKOS GN, OBERMAYER-STRAUB P, BARTELS M, MAEDA T, KAYSER A, BRAUN S ET AL. Cytochrome P450 2A6: A new hepatic autoantigen in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2003, 39:800–806
167. BOURDI M, LARREY D, NATAF J, BERNUAU J, PESSAYRE D, IWASAKI M ET AL. Anti-liver endoplasmic reticulum autoantibodies are directed against human cytochrome P450 1A2: A specific marker of dihydralazine-induced hepatitis. *J Clin Invest* 1990, 85:1967–1973
168. BEAUNE PH, PESSAYERE D, DANSETTE P, MANSUY D, MANNS MP. Autoantibodies against cytochromes P450: Role in human diseases. *Adv Pharmacol* 1994, 30:199–245
169. AHONEN P, MIETTINEN A, PERHEENTUPA J. Adrenal and steroidal cell antibodies in patients with autoimmune polyglandular disease type I and risk of adrenocortical and ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1987, 64:494–500
170. RORSMAN F, HUSEBYE ES, WINQUIST O, BJOERK E, KARLSSON FA, KAEMPE O. Aromatic-L-aminoacid decarboxylase, a pyridoxal phosphate-dependent enzyme, is a beta-cell autoantigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92:8626–8629
171. KYRIAKOU D, ALEXANDRAKIS M, ZACHOU K, PASSAM F, STATHAKIS N, DALEKOS GN. Hemopoietic progenitor cells and bone marrow stromal cells in patients with autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2003, 39:679–685

Corresponding author:

G.N. Dalekos, Academic Liver Unit, Medical School, University of Thessaly, 22 Papakiriazi street, GR-412 21 Larissa, Greece
e-mail: dalekos@med.uth.gr

