

FENOMENE AUTOIMUNE DE OVERLAP ÎN HEPATITELE CRONICE ALE COPILULUI

**Dr. Daniela Păcurar, Dr. Gabriela Leșanu, Dr. Cristina Becheanu, Dr. Raluca Vlad,
Prof. Dr. Dumitru Orășeanu**

Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu”, București

REZUMAT

Pacienții cu hepatopatii cronice pot prezenta fenomene imunologice serologice sau chiar un veritabil sindrom de overlap. Aceste sindroame prezintă caractere comune biochimice și histopatologice pentru cel puțin două dintre afecțiunile autoimune hepatice sau pentru o afecțiune autoimună hepatică și o altă afecțiune hepatică cronică nonimună (infecție hepatică VHC, VHB, boala Wilson, steatoza hepatică non-alcoolică). Evoluția hepatitelor autoimune sau sindroamelor de overlap este adesea către ciroză și insuficiență hepatică fără terapie adecvată. Criteriile de diagnostic, scorurile de prognostic sau factorii de predicție pentru apariția sindroamelor de overlap nu sunt încă pe deplin stabilite. Fenomene de overlap serologic sunt descrise, și în alte afecțiuni hepatice în afara celor imune recunoscute. În infecția cronică cu virus hepatitic C pot fi identificate mai multe tipuri de reacții imunologice. În steatoza hepatică nonalcoolică prevalența crescută a autoanticorpilor sugerează prezența fenomenului imun precum și posibilitatea folosirii acestora ca factori de predicție pentru severitate. Tratamentul medical al fenomenelor autoimune, dar și al bolii de bază conduce la o terapie personalizată ca asociere terapeutică, doze, durată.

Cuvinte cheie: hepatită, hepatopatii, sindrom overlap

Pacienții cu hepatopatii cronice pot prezenta fenomene imunologice serologice izolate sau care constituie un veritabil sindrom de overlap. Aceste sindroame prezintă caractere comune biochimice și histopatologice pentru cel puțin două din afecțiunile autoimune hepatice de tipul hepatitei autoimune (HAI), ciroză biliară primitivă (CBP), colangită autoimună (AIC), colangită sclerozantă primitivă (CSP) sau pentru o afecțiune autoimună hepatică și o altă afecțiune hepatică cronică: infecție hepatică cu virus hepatitic B (VHB) sau virus hepatitis C (VHC), boala Wilson, steatoza hepatică non-alcoolică (NASH/NAFLD).

Hepatita autoimună (HAI) reprezintă o inflamație a țesutului hepatic, în general fără remisiune, determinată de pierderea toleranței imune la autoantigenele hepatice. Modelul patogenetic al hepatitei autoimune afirmă că un trigger extern, de mediu, în condiții de insuficiență toleranță imună la pacienți cu predispoziție genetică colaborează în apariția unei leziuni hepatice mediate de limfocitele T prin identificarea unor antigene hepatice distincte. Apar

astfel leziuni necroinflamatorii persistente, progresive, urmate de procese fibrotice hepatice (1). Caracteristic, această afecțiune prezintă diferite tipuri de autoanticorpi: anticorpi antinucleari (ANA), anticorpi anti mușchi neted (ASMA), anticorpi anti microzomi hepatice și renali (LKM1).

Diagnosticul serologic al hepatitei autoimune are la bază determinarea autoanticorpilor (ANA, ASMA, LKM1) prin tehnica imunofluorescenței, sau ELISA atunci când există dubii de diagnostic din cauza similitudinii anticorpilor LKM1 cu cei antimitocondriali.

Acești autoanticorpi, caracteristici în titru de peste 1:40 pentru diagnosticul diferitelor tipuri de hepatite autoimune pot fi pozitivi și la copiii sănătoși fără istoric familial de boli autoimune. Prevalența autoanticorpilor (2) la pacienții sănătoși este de 3% pentru ANA, 2,6% pentru ASMA și 1,1% pentru AMA.

Elementele definitorii pentru diagnosticul pozitiv al hepatitei autoimune conform Practice Guidelines, elaborate în 2010 de American

Adresa de corespondență:

Dr. Daniela Păcurar, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu”, B-dul Iancu de Hunedoara Nr. 30-32, București
e-mail: danapacurar@yahoo.com

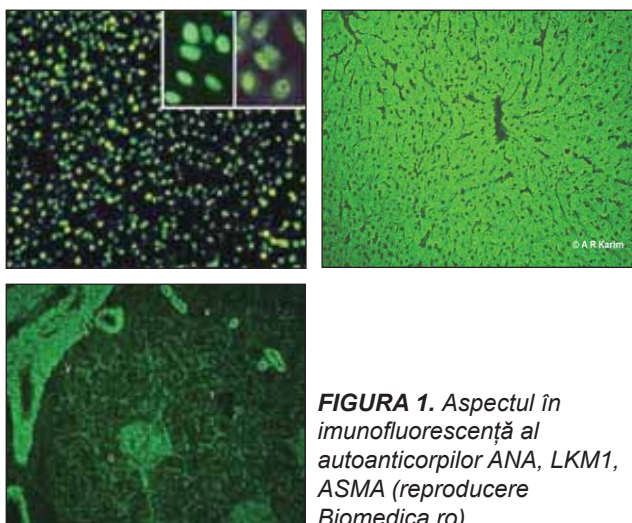


FIGURA 1. Aspectul în imunofluorescență al autoanticorpilor ANA, LKM1, ASMA (reproducere Biomedica.ro)

Association for the Study of Liver Diseases sunt prezentate în Tabelul 1.

TABELUL 1. Elemente de diagnostic în hepatita autoimună (1)

Parametru	Factor	Puncte
Sex	Feminin	+ 2
Fosfataza alcalină/AST	> 3	2
Fosfataza alcalină/ALT	< 1,5	+ 2
IgG > N	> 2	+ 3
ANA, ASMA sau LKM 1	> 1:80	+ 3
	1: 80	+ 2
	1:40	+ 1
	< 1:40	0
AMA	Pozitivi	- 4
Markeri virali	Pozitivi	3
	Negativi	+ 3
Medicamente	Da	- 4
	Nu	+ 1
Alcool	< 25 g/zi	+ 2
	> 60 g/zi	- 2
Aspect histologic	Hepatita de interfață	+ 3
	Plasmocitoza	+ 1
	Rozete	+ 1
	Nici una de mai sus	5
	Modificări ducte biliare	3
	Alte modificări	- 3
Dezordini imune	Tiroidita, colita, sinuzita, altele	+ 2
Răspuns la tratament	Complet	+ 2
	recurentă	+ 3
Parametri adiționali-opționali Auto-Ac hepatici definiți	Anti SLA/LP/ anti-actin/ pANCA	+ 2
HLA	DR3 sau DR4	+ 1

Stabilirea diagnosticului se face prin calcularea unor scoruri folosind elementele anterior prezentate. Înaintea inițierii terapiei se consideră diagnostic pozitiv de hepatită autoimună definită la un scor mai mare de 15 puncte și hepatită autoimună

probabilă la un scor cuprins între 10 puncte și 15 puncte. La pacienții care au primit terapie imunosupresoare anterior momentului calculării scorului se consideră hepatită autoimună definită la un scor mai mare de 17 puncte și hepatită autoimună probabilă la un scor cuprins între 12 puncte și 17 puncte (1). Pentru diagnosticul hepatitei autoimune în pediatrie se folosește același sistem de scor.

Asocierea tipurilor de autoanticorpi determină clasificarea hepatitelor autoimune în două tipuri cu modele evolutive, date imunologice, prognostic, răspuns la terapie diferite (Tabelul 2).

TABELUL 2. Clasificarea hepatitelor autoimune

Caracteristică	HAI tip 1	HAI tip 2
Vârsta debut	Curba bimodală HLA DR3 debut 10-20 ani HLA DR4 debut după 30 ani (45-70)	Copil (2-14)
Autoanticorpi	Heterogen ANA, ASMA (anti-actin), pANCA, SLA /LP	Bine definit LKM 1 (CYP2D6), LKM 3 (UGT 1A)
Serologic	Creștere ușoară bilirubină, transaminaze, IgA, nemodificat IgG crescute pronunțat	Creștere marcată bilirubină, transaminaze, Reducere IgA (ocazional) IgG crescute moderat
Predispoziție genetică	HLA A1, HLA B8, HLA DR3, HLA DR4 Sex feminin 78%	HLA DR3, HLA DQ2, HLA B14 Sex feminin 89%
Afecțiuni autoimune	20-30% în special la HLA DR3	20-30%
Răspuns la imunosupresie	Bun-20% răspuns susținut la oprire terapie HLA DR4: răspuns mai bun HLA DR3: recăderi frecvente HLA DR4: progresie spre ciroză	Bun – fără răspuns susținut la oprirea terapiei Progresie spre ciroză frecvent

Mecanismele de producere și întreținere a fenomenului de overlap în afecțiunile hepatice este încă neclar, existând mai multe ipoteze propuse pentru explicația patogenică a acestuia: coincidența a două afecțiuni autoimune independente care evoluează la același pacient, prezența unui teren genetic particular ce determină apariția unei entități „deosebite” autoimune, reprezentarea unei „secvențe” din spectrul continuu al două boli autoimune (3).

Așa cum am menționat anterior, sindromul de overlap hepatic apare în momentul asocierii caracterelor biochimice, imunologice și histopatologice a minimum două tipuri de afecțiuni hepatice, din care cel puțin una are mecanism recunoscut ca autoimun, în pediatrie aceasta fiind hepatita autoimună.

OVERLAP HAI – HEPATITE CRONICE VIRALE (HAI – VHB/VHC)

În infecțiile cu virusuri hepatice, virus hepatitic B (VHB) și, în special, virus hepatitic C (VHC)

sunt descrise numeroase afectări pluriorganice, extrahepatice, al căror mecanism de producere este potențial imunologic.

Mecanismul persistenței virusului hepatitic B dovedește că VHB infectează ficatul, rinichii, pancreasul, splina, măduva osoasă, sângele periferic, monocitele, limfocitele, dar virusul nu este direct citopatic. Efectul VHB pe aceste țesuturi este necunoscut, virusul se replică în hepatocite, antigenele virale apar pe suprafața hepatocitului, leziunea hepatică este mediată de sistemul imunitar, LT citotoxice anti AgHBc infiltrază ficatul și determină necroză. În plus, VHB interferează cu producția de citokine și IFN. De asemenea, mecanismul vindecării infecției nu este complet cunoscut, în infecția cronică fiind implicată incompetența sistemului imun.

Mecanismul injuriei hepatice a VHC nu este complet elucidat; au fost descrise două efecte: direct citopatic și mediat imun (sunt descriși histopatologic foliculi limfoizi numeroși în spațiul port cu L_B , L_T , L_T anti VHC citotoxice prezenți în ficat). VHC este un virus limfotrop care determină o stimulare persistentă a sistemului limfatic, stimularea antigenică cronică prin VHC determină activarea L_B policlonale, se formează complexe imune cu VHC, Ac anti VHC, FR monoclonal IgM, IgG policlonale și complement.

Se pot descrie astfel două tipuri de fenomene imunologice nelegate de terapia antivirală la pacienții infectați cu virusuri hepatitice:

- fenomene autoimune induse viral (fals overlap), descrise atât în infecția acută, cât și în infecția cronică, în special în formele de boală hepatică ușoară-medie. Datele referitoare la etiopatogenie sunt incomplete: mecanismul patogenetic imunologic constă în depunerea locală, pluriorganică a complexelor imune circulante cu antigene virale, dar sunt descrise și alte mecanisme precum formarea locală de complexe imune induse de antigenele virale sau reacția directă a virusului cu țesutul extrahepatice.
- Fenomene autoimune independente de infecția virală – real overlap.

OVERLAP HAI – HEPATITĂ CRONICĂ VHC

Hepatita cronică cu VHC poate mima o hepatită autoimună (nivel de autoanticorpi fără specificitate de organ ridicat și asocierea manifestărilor autoimune) sau hepatita cronică cu VHC poate coexista cu hepatita autoimună. Argumente pentru prezența fenomenelor serologice autoimune în infecția cu

VHC sunt: prezența autoanticorpilor în infecția VHC, prevalența totală a autoanticorpilor în infecția VHC fiind de 30%. Tabloul clinic al hepatitei VHC nu este modificat de prezența autoanticorpilor. În schimb, studiile arată că prevalența infecției VHC la HAI este aceeași cu cea din populația generală, dar aproximativ 5% dintre pacienții cu HAI au Ac anti VHC fals pozitivi (4,5).

Numeroase tipuri de anticorpi fără specificitate de organ sunt descriși ca fiind pozitivi în infecția VHC. Anticorpii anti LKM1 au o prevalență de 7% în infecția cu VHC. Anticorpii anti LKM1 sunt anticorpi anti câț P4502D6 (apar ca reacție încrucișată cu proteinele VHC, rezultat al mimetismului molecular la nivel L_B) (6). În infecția VHC fără HAI asociată anticorpii anti LKM1 sunt în titru redus, de tip heterogen cu multipli epitopi, în timp ce în HAI reală Ac LKM 1 sunt în titru crescut, de tip omogen, cu autoepitopi mici și liniari (7). Date fiind aceste considerații, consensul general este că terapia cu IFN este sigură la VHC cu Ac LKM1 pozitivi (8). Alți autoanticorpi fără specificitate de organ prezenți în infecția VHC sunt FR, ANA, ASMA, anticorpi anti receptor pentru asialoglicoproteină, descris 2001, anticorpi anti cardiolipin. Au fost descriși, de asemenea, o serie de autoanticorpi specifici precum anticorpii antitiroidieni: antitiroglobulina, antimiosomi tiroidieni, antipeptide definite (20 tipuri diferite), antipeptide nedefinite (21 tipuri diferite derivate de linii celulare Hep2) (9).

Luând în considerare toate aceste afirmații și constatări, putem spune că în hepatita cu virus hepatitic C cu fenomene de autoimunitate se descriu trei entități distincte:

- Fals overlap VHC-HAI – boală virală care determină fenomen autoimun. Terapia antivirală cu Interferon și Ribavirină rămâne singura soluție pentru tratament.
- Adevărat overlap VHC-HAI – boală virală este real asociată cu HAI. Această situație reflectă o dezordine autoimună indusă de inflamația cronică produsă de VHC. În timpul evoluției titrurile de autoanticorpi sunt mult crescute (ANA, ASMA, LKM1) > 1:320 (7); sunt prezenți anticorpi anti epitop VHC specific GOR (unica situație în care aceștia sunt prezenți). Această asociere HAI-VHC beneficiază de dublă terapie antivirală cu interferon și ribavirină și imunosupresoare cu corticosteroizi.
- HAI cu serologie falsă Ac VHC. În acest caz infecția VHC este exclusă prin negativitatea ARN-VHC, anticorpii anti GOR sunt negativi.

OVERLAP HEPATITĂ AUTOIMUNĂ – BOALĂ WILSON

Nu sunt studii care să ateste prezența sindromului de overlap inter boala Wilson și HAI.

OVERLAP HEPATITĂ AUTOIMUNĂ – STEATOZĂ HEPATICĂ NON-ALCOOLICĂ (HAI-NAFLD/NASH)

Datele care atestă asocierea posibilă între fenomenul autoimun sau hepatită autoimună și steatoza hepatică non-alcoolică sau steatohepatită sunt obținute doar din studii clinice.

Un studiu efectuat de Loria și colab. pe 84 de pacienți adulți cu steatoză hepatică non-alcoolică asupra prevalenței anticorpilor fără specificitate de organ (NOSA) evidențiază prezența acestora la 35,7% din populația studiată (ANA pozitivi la 21,4%, ASMA pozitivi la 4,7%) (10). Acest procent este mai mare decât cel prezent în populația generală pentru aceleași tipuri de autoanticorpi. Se observă, de asemenea, că prezența autoanticorpilor este mai mare la sexul feminin, la persoane cu vârsta mai mare. Titrul ANA > 1:100 se corelează statistic cu rezistența la insulină crescută. Deși o treime din pacienți prezentau markeri serologici pentru fenomen autoimun, doar în 3/84 cazuri biopsia hepatică a evidențiat overlap HAI-NASH.

Într-un alt studiu efectuat de Yatsuji și colab. pe 212 pacienți adulți cu NASH se observă prezența autoanticorpilor de tip ANA pozitivi la 33% dintre pacienții studiați, și ANA asociat cu ASMA pozitivi la 1,4% dintre pacienții lotului. Titrurile ANA > 1:80 se corelează cu necroinflamație mai severă (11). De asemenea, autorii observă că obezitatea masivă cu BMI peste 30 kg/m² reprezintă factor unic de predicție pentru ANA pozitivi cu titruri > 1:80 (11).

Concluzia acestor studii este că examenul histopatologic este esențial și, fără examen histo-

patologic, sistemul de scor pentru diagnostic în HAI nu se poate aplica la pacienții cu steatoză hepatică non-alcoolică.

Studiul pe populație pediatrică realizat de Patton și colab. cuprinde 176 de copii cu vârsta medie de 12,4 ani; 77% băieți se referă la corelații clinico-histopatologice la copiii cu steatoză hepatică non-alcoolică (12). Autorii observă o prevalență a autoanticorpilor de tip ANA pozitivi la 18% dintre copiii obezi studiați și ASMA pozitivi la 32% dintre pacienți. Corelând prezența și titrul ASMA cu gradul necroinflamației hepatice, au concluzionat ca ASMA este un factor de predicție pentru un scor de necroinflamație mai ridicat și chiar poate deveni marker non invaziv de apreciere a severității histologice în NAFLD la copil.

CONCLUZII

Pacienții cu hepatopatii cronice pot prezenta fenomene imunologice serologice sau chiar un veritabil sindrom de overlap având caractere comune biochimice și histopatologice pentru cel puțin două dintre afecțiunile autoimune hepatice sau pentru o afecțiune autoimună hepatică și o altă afecțiune hepatică cronică nonimună.

Criteriile de diagnostic, scorurile de prognostic sau factorii de predicție pentru apariția sindroamelor de overlap nu sunt încă pe deplin stabilite.

În infecția cronică cu virus hepatitis C pot fi identificate minimum trei tipuri de reacții imunologice, având consecințe terapeutice importante.

În steatoza hepatică non-alcoolică prevalența crescută a autoanticorpilor sugerează prezența fenomenului imun, precum și posibilitatea folosirii acestora (a anticorpilor ASMA) ca marker non-invazivi de apreciere a severității histologice.

Tratamentul medical al fenomenelor autoimune și al bolii de bază determină necesitatea unor scheme terapeutice empirice personalizate.

Overlap and other autoimmune phenomena in pediatric chronic hepatic disease

**Daniela Pacurar, Gabriela Lesanu, Cristina Beceanu, Raluca Vlad,
Dumitru Oraseanu**

“Grigore Alexandrescu” Emergency Childrens Hospital, Bucharest

ABSTRACT

Patients with chronic liver disease can present serological immune associations or a real overlap syndrome. The hepatic overlap syndrome includes biochemical and histological features either for two autoimmune hepatic diseases or for one autoimmune hepatitis and another chronic hepatic disease (chronic viral hepatitis B or C, Wilson's disease, fatty liver disease). In the absence of appropriate treatment, the natural course of autoimmune hepatitis and overlap syndromes is towards cirrhosis and liver failure. The diagnostic criteria, prognostic scores and predictive factors for overlap syndromes are not yet established. The serological immune reactions are also found in liver disease other than autoimmune hepatitis. In chronic viral hepatitis C different types of immunological manifestations are oftenly associated. In non-alcoholic fatty liver disease the high prevalence of self-antibodies indicates the presence of an autoimmune response; on the other hand these antibodies can help predict the severity of the disease. The medical therapy of either the autoimmune reaction or the underlying hepatic disease should use an individualized algorithm regarding drug associations, dosing and duration of treatment.

Key words: hepatitis, overlap syndrome

Patients with chronic liver disease can present serological immune associations or a real overlap syndrome. The hepatic overlap syndrome includes biochemical and histological features either for two autoimmune hepatic diseases: autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC), primary sclerosing cholangitis (PSC), autoimmune cholangitis (AIC) or for one autoimmune hepatitis and another chronic hepatic disease: chronic viral hepatitis B (VHB) or C (VHC), Wilson's disease (WD), non-alcoholic steatohepatitis (NASH/NAFLD).

Autoimmune hepatitis (AIH) represents an inflammation of the hepatic tissue, with no resolution in time, produced by the loss of immune tolerance to liver self-antigens. The pathogenic model of autoimmune hepatitis starts with an environmental trigger acting on a low immune tolerance threshold in genetically predisposed patients and results in T-cells mediated hepatic injury. Persistent necro-inflammatory lesions develop, followed by hepatic fibrosis (1). Specifically this disease is characterized by the detection of different types of self-antibodies: antinuclear antibodies (ANA), antimithochondrial antibodies (AMA), antismooth muscle antibodies (ASMA), antiliver-kidney microsome antibodies (LKM1).

The serological diagnosis of autoimmune hepatitis consists of detecting these self-antibodies

(ANA, ASMA, LKM1) through immunofluorescence or ELISA technique, when there is doubt in distinguishing LKM1 from antimithochondrial antibodies.

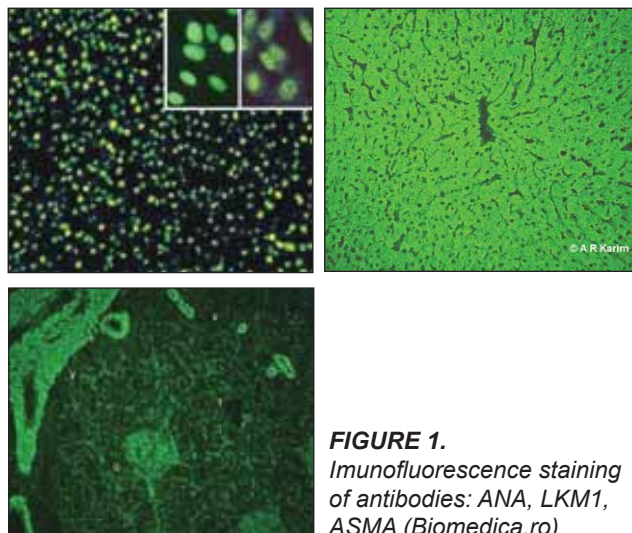


FIGURE 1.
Imunofluorescence staining of antibodies: ANA, LKM1, ASMA (Biomedica.ro)

These antibodies (Fig. 1), specifically elevated over 1:40, are used in the diagnosis of different types of autoimmune hepatitis, but they may be falsely positive in healthy children with no family history of autoimmune disease. The prevalence of a false positive result (2) in healthy children is 3% for ANA, 2.6% for ASMA and 1.1% for AMA.

The diagnostic criteria for autoimmune hepatitis al according to 2010 Practice Guidelines of American Association for the Study of Liver Diseases are illustrated in table 1.

TABLE 1. Diagnostic criteria for autoimmune hepatitis (1)

Parameter	Factor	Puncte
Sex	Female	+ 2
Alkaline phosphatase/AST	> 3	2
Alkaline phosphatase /ALT	< 1.5	+ 2
IgG > N	> 2	+ 3
ANA, ASMA or LKM 1	> 1:80	+ 3
	1: 80	+ 2
	1:40	+ 1
	< 1:40	0
AMA	Positive	- 4
Viral serologies	Positive	3
	Negative	+ 3
Medication	Yes	- 4
	No	+ 1
Alcohol	< 25 g/day	+ 2
	> 60 g/day	- 2
Histology	Interface hepatitis	+ 3
	Plasmocitosis	+ 1
	Rosettes	+ 1
	None of the above	5
	Biliary ducts' lesions	3
	Other	- 3
Immunological disease	Thyroiditis, colitis, sinusitis, other	+ 2
Response to treatment	Complete	+ 2
	Recurrences	+ 3
Additional parameters - optional	Anti SLA/LP/ anti-actin/ pANCA	+ 2
Hepatic self-antibodies		
HLA	DR3 or DR4	+ 1

The positive diagnosis requires a score calculation using the parameters listed above. Before the initiation of therapy, autoimmune hepatitis is diagnosed when the score is greater than 15 points and probable when the score is between 10 and 15 points.

For patients who received immunosuppressive therapy prior to score calculation autoimmune hepatitis is diagnosed when the score is greater than 17 points and probable when the score is between 12 and 17 points (1). For autoimmune hepatitis diagnosis in pediatrics the same scoring system is used.

Different associations of self-antibodies help differentiate two types of autoimmune hepatitis. They have distinct courses of the disease, immunological findings, prognostic and response to therapy (Table 2).

TABLE 2. Autoimmune hepatitis classification

Parameters	AIH type 1	AIH type 2
Age at the onset	Bimodal curve HLA DR3: 10-20 years HLA DR4: > 30 years (45-70)	Child (2-14 years)
Self-antibodies	Heterogeneous ANA, ASMA (anti-actin), pANCA, SLA /LP	Well-defined LKM 1 (CYP2D6), LKM 3 (UGT 1A)
Serology	Mild increase in bilirubin, transaminases, Normal IgA Highly elevated IgG	Highly elevated bilirubin, transaminases, Decreased IgA (occasionally) Moderately increased IgG
Genetic predisposition	HLA A1, HLA B8, HLA DR3, HLA DR4 Female 78%	HLA DR3, HLA DQ2, HLA B14 Female 89%
Autoimmune disease	20-30%, especially HLA DR3	20-30%
Response to immuno-suppressive therapy	Good - 20% sustained response when the therapy is discontinued HLA DR4: better response HLA DR3: frequent recurrences HLA DR4: progressive disease-cirrhosis	No sustained response when the therapy is discontinued. Frequent progressive disease-cirrhosis.

The mechanisms implicated in the initiation and maintenance of the overlap phenomenon in hepatic disease is still unclear, a few hypothesis being considered at this time (4): coexistence of two independent autoimmune diseases in the same patient, a particular genetic predisposition for developing different autoimmune diseases, time sequences in the course of two autoimmune diseases (3).

As previously mentioned, the hepatic overlap syndrome emerges when biochemical, immunological and histopathological features of at least two distinct hepatic diseases are present, at least one having a recognized autoimmune mechanism, in pediatrics the latter being autoimmune hepatitis.

OVERLAP AUTOIMMUNE HEPATITIS – CHRONIC VIRAL HEPATITIS (AIH-VHB/VHC)

Pluriorganic, extrahepatic manifestations are often described in viral hepatitis, VHB and especially VHC, manifestations that might have an immunological mechanism.

The persistent nature of the hepatitis B virus argues for the fact that VHB infects the liver, kidneys, pancreas, spleen, bone marrow, peripheral blood, monocytes, lymphocytes, but has no direct cytopathic effect. The pathogenesis of VHB is not known, the virus replicates in hepatocytes, the viral

antigens are exposed to the cell surface, the cytotoxic T-cells directed against AgHBc accumulates in the liver and this results in cell necrosis. So the hepatic injury is immune-mediated. Furthermore, VHB interferes with cytokines and interferon production. The healing mechanism is not yet known, chronic infection is considered to be the consequence of an inefficient immune response.

The mechanism of hepatic injury in VHC infection is not entirely clear. Two types of effects have been described: cytopathic and immune-mediated. Histology reveals numerous lymphoid follicles in the portal space (B-cells, T-cells and cytotoxic T-cells are present). VHC is a lymphotropic virus, it determines persistent stimulation of the lymphatic system, activation of polyclonal B-cells, formation of immune complexes with VHC, anti-VHC antibodies, monoclonal IgM rheumatoid factor, polyclonal IgG and complement.

Two types of immunological phenomena are described, with no connection to antiviral therapy:

Viral induced autoimmune phenomena (false overlap) – described both in acute and chronic infection, especially in mild to moderate hepatic disease. The data regarding etiopathogenesis is incomplete. The immunological mechanism consists of local, pluriorganic accumulation of immune complexes, but other mechanisms are discussed: local formation of viral induced immune complexes or a direct viral effect on extrahepatic tissues.

Autoimmune phenomena not related to the viral infection (real overlap).

OVERLAP AUTOIMMUNE HEPATITIS – CHRONIC VIRAL HEPATITIS C (AIH-VHC)

Chronic viral hepatitis C can mimic an autoimmune hepatitis (non-specific self-antibodies positive, autoimmune manifestations) or chronic viral hepatitis C may coexist with an autoimmune hepatitis. The presence of self-antibodies in patients with VHC infection represents an argument for autoimmune phenomena; the prevalence of self-antibodies in hepatitis C is 30%. The clinical presentation of hepatitis C is not modified by the presence of self-antibodies. Nevertheless published data show that the prevalence of VHC in AIH patients is similar to the prevalence noted for the general population, but approximately 5% of AIH patients have false positive anti-VHC antibodies (4,5).

Different types of non-organ specific antibodies are described in VHC infection. LKM1 have a prevalence of 7%. LKM1 are anti P4502D6

antibodies and result from a cross-reaction with VHC proteins, induced by B-cells molecular mimicry (6). In VHC infection without AIH, LKM1 are present in low titer, are heterogeneous, with multiple epitops, while in VHC infection with associated AIH, LKM 1 are present in high titers, homogeneous, with small, linear epitops (7).

The consensus is that the interferon therapy is safe in hepatitis C with LKM1 positive (8). Other non-specific self-antibodies may be present in VHC infected patients: rheumatoid factor, ANA, ASMA, anti-asialoglycoprotein receptor antibodies, anti-cardiolipin antibodies. A series of organ-specific antibodies were also noted: anti-thyroid antibodies (antitireoglobulin, anti-thyroid microsomal antibodies), anti specific peptides (20 different types), anti undetermined peptides (21 types, derived from Hep2 cell lines) (9).

Considering all these data, we can conclude that for viral hepatitis C with autoimmune associated phenomena, three distinct variants are possible:

False overlap VHC-AIH – the virus causes immune phenomena. Antiviral therapy with interferon and ribavirin remains the only treatment option.

Real overlap VHC-AIH – the viral disease is associated with AIH. This situation reflects an immune imbalance caused by the viral induced chronic inflammation. During the course of the disease the self-antibodies are highly increased (ANA, ASMA, LKM1) > 1:320 (7), anti-GOR VHC specific epitops are present (this is the only situation in which anti-GOR antibodies are present). The patient with AIH-VHC overlap may receive antiviral therapy (interferon and ribavirin) plus immunosuppressive and corticosteroid therapy.

AIH with false positive anti-VHC antibodies. In this case VHC infection is excluded through evaluation of ARN-VHC and anti-GOR antibodies which come back negative.

OVERLAP AUTOIMMUNE HEPATITIS – WILSON'S DISEASE (AIH-WD)

There is no published data describing an overlap between autoimmune hepatitis and Wilson's disease.

OVERLAP AUTOIMMUNE HEPATITIS – NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS (AIH-NASH/NAFLD)

Data on overlap between autoimmune phenomenon or autoimmune hepatitis and non-alcoholic steatohepatitis are limited to clinical studies.

Loria et al. studied 84 adult patients with non-alcoholic steatohepatitis and communicated a 35.7% prevalence of non-specific antibodies (NOSA) in these patients (ANA positive in 21.4%, ASMA positive in 4.7%) (10). This percentage was higher than in general population. The self-antibodies were more frequent in female and in older people. ANA > 1:100 correlated with an increased insulin resistance. Although one third of the patients had serological markers of autoimmunity, the liver biopsy confirmed an AIH-NASH overlap in only 3/84 cases.

In another study conducted by Yatsuji et al. on 212 adult patients with NASH, ANA were positive in 33% of cases, and ANA plus ASMA were positive in 1.4% of cases. ANA>1:80 correlated with more severe necroinflammation (11). Severe obesity, BMI over 30 kg/m² represented an unique predictive factor for intense positive ANA, >1:80 (11).

A fair conclusion of these data is that histology is essential and without histology the AIH scoring system is not applicable for NASH patients.

The pediatric study of Patten et al. which included 176 children, mean age 12.4 years, 77% boys, tried to correlate clinical and histological findings in patients with NASH (12). The authors communicated a prevalence of positive ANA in 18% of obese children and positive ASMA in 32%. Correlating the presence and the titer of ASMA with the degree of hepatic necroinflammation on

histology, they concluded that ASMA is a predictive factor for more severe necroinflammation and may in fact become a non-invasive marker to predict the histological severity in NAFLD children.

CONCLUSIONS

Patients with chronic liver disease can present serological immune associations or a real overlap syndrome. The hepatic overlap syndrome includes biochemical and histological features either for two autoimmune hepatic diseases or for one autoimmune hepatitis and another chronic non-autoimmune hepatic disease.

Diagnostic criteria, prognostic or predictive scores for overlap syndromes are not yet established.

In chronic VHC infection at least three types of immune reactions have been identified with important consequences in terms of treatment.

In non-alcoholic steatohepatitis the high prevalence of self-antibodies suggests the presence of an immune phenomenon and predicts the future possibility to use these antibodies (ASMA) as a non-invasive marker to predict the histological severity.

The medical therapy of either the autoimmune reaction or the underlying hepatic disease should use an individualized algorithm regarding drug associations, dosing and duration of treatment.

REFERENCES

1. Michel P. Manns, Albert J. Czaja, James D. Gorham, Edward L. Krawitt, Giordina Mieli-Vergani, Diego Vergani, John M. Vierling – Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis- AASLD Practice Guidelines, *Hepatology*, June 2010
2. Martini A., Lorini R., Zanaboni D., Ravelli A., Burgio R.G. – Frequency of autoantibodies in normal children. *Am J Dis Child*. 1989; 143:493-6
3. European Association for the study of the Liver – Journal of Hepatology 51, 2009
4. Francesco Saverio Vella, Barbara Simone, Pierluigi Orlando, Olivia Simone, Salvatore Antonaci – Sindrome da "overlap" epatite cronica C/epatite autoimmune. Due casi clinici 2004 Vol. 95 N. 10 Ottobre *Recenti Progressi in medicina*
5. Salvatore Antonaci, Gianluigi Giannelli, Barbara Simone, Francesco Saverio Vella – Sindrome da overlap epatite cronica C/epatite autoimmune: realtà o fantasia? 2005 Vol. 96 N. 1 Gennaio
6. Ulrich Beuers – Hepatic Overlap Syndromes – Journal of Hepatology 42, 2005
7. Yuste, Jose, Priero, Jesus – European Journal of Gastroenterology and Hepatology, Jul 2003
8. Husa, Chalupa – International Consensus Conference on Hepatitis C – EASL 2001
9. Hepatitis C Informations Center – Autoantibodies present in chronic hepatitis C and chronic hepatitis B viral infections – *Hepatology* 1998
10. Paola Loria, Amadeo Lonardo, Francesca Leonardi – Non-Organ-Specific Autoantibodies in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Prevalence and Correlates – *Digestive Diseases and sciences* – vol. 48, no 11, 2005
11. Yatsuji S., Hashimoto E., Kaneda H., Taniai M., Tokushige K., Shiratori K. – Diagnosing autoimmune hepatitis in nonalcoholic fatty liver disease: is the International Autoimmune Hepatitis Group scoring system useful? *J Gastroenterol*. 2005; 40:1130-8.
12. Heather Patton, Joel E. Lavine, Mark L. Van Natta, Jeffrey B. Schwimmer, David Kleiner, Jean Molleston, the Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network (NASH CRN) – Clinical Correlates of Histopathology in Pediatric Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) – *Gastroenterology*, 2008, 135 (6): 1961-1971.