

## Seropositividad para *Chlamydia pneumoniae* en pacientes con cirrosis biliar primaria

A. Montaña-Loza<sup>a</sup>, E. Vázquez-Ballesteros<sup>a</sup>, J. Meza-Junco<sup>b</sup>, I. Villalobos-Zapata<sup>c</sup> y M. Olivera-Martínez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Gastroenterología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México DF. México.

<sup>b</sup>Departamento de Oncología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México DF. México.

<sup>c</sup>Departamento de Infectología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México DF. México.

### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** La cirrosis biliar primaria (CBP) es una enfermedad hepática colestásica crónica, que se caracteriza por lesión inflamatoria y destrucción de conductos biliares. Estudios recientes indican que *Chlamydia pneumoniae* podría estar asociada al desarrollo de CBP. El objetivo de este estudio ha sido determinar la seroprevalencia de *C. pneumoniae* en una cohorte de pacientes con CBP.

**PACIENTES Y MÉTODOS:** Se buscaron anticuerpos antiinmunoglobulina G contra *C. pneumoniae* en 46 pacientes con CBP y 105 sujetos sin cirrosis hepática.

**RESULTADOS:** Entre los pacientes con CBP, 21 (46%) tuvieron anticuerpos, en comparación con 74 (71%) del grupo control, con una *odds ratio* de 0,6 (intervalo de confianza del 95%, 0,3-1,2; *p* no significativa). El subanálisis del grupo con CBP mostró que los pacientes seropositivos presentaron mayor frecuencia de estadios avanzados de Child-Pugh (el 24% A, el 52% B y el 24% C, frente a un 64% A, un 32% B y un 4% C; *p* = 0,01), mayor puntuación en la escala pronóstica de la Clínica Mayo (7,8 ± 2,1 frente a 5,6 ± 1,2; *p* = 0,004), mayor frecuencia de ascitis (un 29 frente a un 4%; *odds ratio* de 9,6; intervalo de confianza del 95%, 1,1-87; *p* = 0,02), concentraciones mayores de bilirrubina total (4,5 ± 2,5 frente a 2,4 ± 4,3 mg/dl; *p* = 0,001) y valores menores de albúmina (2,6 ± 0,9 frente a 3,3 ± 0,6 g/dl; *p* = 0,02).

**CONCLUSIÓN:** No fue posible establecer una asociación entre *C. pneumoniae* y CBP. Encontramos una relación entre la gravedad de la CBP y la seropositividad para *C. pneumoniae*, lo que podría apuntar a un efecto perjudicial de esta infección o bien a una predisposición en etapas avanzadas para adquirir infecciones por *C. pneumoniae*.

### SEROPOSITIVITY FOR *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* IN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

**INTRODUCTION:** Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic cholestatic liver disease characterized by inflammatory injury and bile duct destruction. Recent studies suggest that *Chlamydia pneumoniae* could be associated with the development of PBC. The aim of this study was to determine the seroprevalence of *C. pneumoniae* in a cohort of patients with PBC.

**PATIENTS AND METHODS:** The presence of IgG antibodies against *C. pneumoniae* was investigated in 46 patients with PBC and in 105 subjects without cirrhosis.

**RESULTS:** Twenty-one patients (46%) with PBC had antibodies against *C. pneumoniae* compared with 74 subjects (71%) in the control group (OR = 0.6; 95% CI, 0.3-1.2; *p* = NS). Subanalysis of the PBC group showed that patients with *C. pneumoniae* antibodies had a higher frequency of advanced Child-Pugh stages (24% A, 52% B and 24% C vs 64% A, 32% B and 4% C; *p* = 0.01), a higher score on the Mayo Clinic Prognostic Index (7.8 ± 2.1 vs 5.6 ± 1.2; *p* = 0.004), a higher frequency of ascites (29% vs 4%; OR = 9.6; 95% CI, 1-87; *p* = 0.02), higher total bilirubin levels (4.5 ± 2.5 mg/dl vs 2.4 ± 4.3 mg/dl, *p* = 0.001) and lower serum albumin levels (2.6 ± 0.9 g/dl vs 3.3 ± 0.6 g/dl, *p* = 0.02).

**CONCLUSION:** No association was found between *C. pneumoniae* infection and PBC in this study. An association was found between the severity of PBC and *C. pneumoniae*, which may suggest a deleterious effect of *C. pneumoniae* infection or a predisposition in advanced stages of PBC to acquire infection with this microorganism.

### INTRODUCCIÓN

La cirrosis biliar primaria (CBP) es una enfermedad hepática colestásica crónica, que se caracteriza por lesión inflamatoria progresiva y destrucción de los conductos biliares, asociadas a inflamación portal y periportal, con el consiguiente desarrollo de cirrosis hepática, que parece deberse a una interacción entre factores genéticos y ambientales<sup>1-4</sup>. Su etiología continúa siendo desconocida,

Correspondencia: Dr. A. Montaña-Loza.  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.  
Vasco de Quiroga, 15, sección XVI, Tlalpan. 14000 México DF. México.  
Correo electrónico: montanoa@quetzal.innsz.mx.

Recibido el 9-6-2005; aceptado para su publicación el 18-10-2005.

pero existen varios estudios que señalan la presencia de un proceso fisiopatológico autoinmunitario<sup>5-9</sup>. Tanto la infección directa<sup>10-16</sup> como el «mimetismo molecular»<sup>17</sup> hacia los antígenos microbianos parecen factores importantes en la patogenia de la CBP.

Los anticuerpos antimitocondriales (AMA), que son muy específicos, son unas proteínas dirigidas contra el complejo E<sub>2</sub> de las enzimas piruvato deshidrogenasa (PDC-E<sub>2</sub>) y están presentes en el 95% de los pacientes con CBP<sup>18,19</sup>. Se desconoce el mecanismo por el cual se producen los AMA contra las proteínas localizadas en la superficie interna de las membranas de las mitocondrias. El denominado «mimetismo molecular» entre el autoantígeno y el antígeno bacteriano parece una posible explicación de la presencia de los AMA<sup>15,20</sup>. Algunos estudios han buscado infecciones por micobacterias<sup>21</sup> o agentes víricos<sup>12</sup> como potenciales responsables de este fenómeno, con resultados no concluyentes.

*Chlamydia pneumoniae*, que es la tercera especie del género *Chlamydia*, es una causa frecuente de infecciones de las vías respiratorias, tales como faringitis, bronquitis y neumonía<sup>22</sup>. La seroprevalencia de este organismo varía entre el 40 y el 70% en la población adulta y se cree que la mayoría de las personas presentan varias infecciones en el transcurso de su vida<sup>23</sup>. *C. pneumoniae* es un organismo que se encuentra frecuentemente y se ha comunicado que puede persistir durante muchos años en los tejidos humanos, entre ellos el del hígado. Esta bacteria también se ha asociado con el proceso inflamatorio crónico de la enfermedad arterial coronaria<sup>24</sup>. Estudios recientes<sup>25-27</sup> señalan que *C. pneumoniae* pudiera ser un agente desencadenante e incluso causal de la CBP.

El objetivo de este trabajo ha sido establecer la seroprevalencia de anticuerpos contra *C. pneumoniae* en una cohorte de pacientes con CBP y compararla con la de un grupo control sin cirrosis hepática para tratar de establecer una asociación entre este agente infeccioso y la enfermedad colestásica crónica.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Se incluyó en el estudio a 46 pacientes con diagnóstico de CBP (grupo en estudio) y se compararon con 105 pacientes sin cirrosis hepática (grupo control). El diagnóstico de CBP se realizó por la presencia de cuadro clínico característico<sup>2</sup> y AMA positivos en 22 pacientes (48%) y por biopsia hepática con diagnóstico histológico definitivo en 24 (52%). De los 24 pacientes con biopsia hepática, 4 se encontraban en estadio I (inflamación de tractos portales alrededor de los conductos biliares), 3 en estadio II (destrucción y proliferación de conductos biliares con áreas de necrosis), 5 en estadio III (fibrosis extensa de tractos portales) y 12 en estadio IV (estadio septal, nódulos de regeneración rodeados de fibrosis)<sup>28</sup>. El tiempo promedio ( $\pm$  desviación estándar) transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad hasta la realización de la prueba de anticuerpos contra *C. pneumoniae* fue de  $2,7 \pm 2,2$  años.

El grupo control lo formaron pacientes consecutivos que acudieron a la consulta de medicina interna de nuestro instituto (51 con hipertensión arterial sistémica, 44 con diabetes mellitus, 6 con enfermedad tiroidea y 4 con obesidad).

Previo consentimiento informado, y con la aprobación del Comité de Ética del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, a todos los pacientes y controles se les extrajeron 10 ml de sangre para la búsqueda de anticuerpos antiinmunoglobulina (Ig) G contra *C. pneumoniae* por técnica de inmunofluorescencia (enzimoinmunoanálisis). Los anticuerpos IgG se detectaron de forma cualitativa y semicuantitativa, con una sensibilidad del 93% y una especificidad del 86,2% (enzimoin-

TABLA I. Características de la población estudiada: pacientes con cirrosis biliar primaria y controles

	CBP (n = 46)	Controles (n = 105)	P
Sexo			
Mujeres	44 (96%)	84 (80%)	
Varones	2 (4%)	21 (20%)	0,01
Edad (años)	61 $\pm$ 13	53 $\pm$ 14	0,002
AMA positivos	33 (72%)		
ANA positivos	27 (59%)		
Bilirrubina total (mg/dl)	3,4 $\pm$ 3,6	1,1 $\pm$ 0,5	< 0,001
Fosfatasa alcalina (U/l)	411 $\pm$ 270	85 $\pm$ 46	< 0,001
Child-Pugh			
A	21 (46%)		
B	19 (41%)		
C	6 (13%)		
Puntos	7 $\pm$ 1,7		

Los valores se expresan como número de pacientes (porcentaje) o como media  $\pm$  desviación estándar.

AMA: anticuerpos antimitocondriales; ANA: anticuerpos antinucleares; CBP: cirrosis biliar primaria.

muoanálisis IgG, Labsystems, Helsinki, Finlandia). Las muestras se conservaron a  $-20$  °C hasta el momento en que se procesaron y evaluaron según los protocolos del laboratorio fabricante, sin que los operadores conocieran previamente el grupo del que procedía la muestra. Se consideraron resultados positivos con diluciones de IgG de 1:64 o mayores. Además, se revisaron las historias clínicas para determinar las características clínicas de los pacientes con CBP y el grupo control.

## Análisis estadístico

Para el análisis de las variables categóricas se utilizó la prueba de la  $\chi^2$  de Pearson con corrección de Yates o prueba exacta de Fisher en caso de esperar frecuencias (n) menores de 5 en alguna de las celdas de las tablas. Para las variables dimensionales se utilizó la prueba de la U de Mann-Whitney. Los resultados se expresan como frecuencias absolutas y relativas en caso de las variables nominales, y como medias  $\pm$  desviación estándar para las variables dimensionales. Para conocer la magnitud de las asociaciones se determinó la *odds ratio* (OR) con la ecuación  $(a \times d)/(b \times c)$ , con intervalos de confianza (IC) del 95%. Los valores de  $p \leq 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos. Para el análisis estadístico se utilizó el paquete SPSS versión 10 para Windows.

## RESULTADOS

Las características clínicas de los 2 grupos estudiados se muestran en la tabla I. Hubo una mayor frecuencia de mujeres en el grupo con CBP que en el control (un 96 frente a un 80%;  $p = 0,01$ ). La edad fue significativamente menor en los pacientes con CBP con respecto al grupo control ( $p = 0,002$ ). A diferencia de otras series de pacientes con CBP, encontramos una frecuencia menor de AMA positivos (72%)<sup>16,17</sup>. Como era de esperar, los pacientes con CBP tuvieron concentraciones mayores de bilirrubina total, fosfatasa alcalina y gammaglobulinas en comparación con el grupo control. La mayoría de los pacientes con CBP se encontraron en estadios A o B de la clasificación de Child-Pugh. Además, se muestra el promedio de la escala de pronóstica de la Clínica Mayo:  $1.209 \times \log_e$  (bilirrubina total en mg/dl) +  $-3.304 \times \log_e$  (albúmina en g/dl) +  $0,051 \times$  edad en años +  $2.754 \times \log_e$  (tiempo de protrombina en segundos) +  $0,675 \times$  edema<sup>29</sup>. Entre los pacientes con CBP, 21 (46%) tuvieron anticuerpos IgG contra *C. pneumoniae*, en comparación con 74 sujetos (71%) del grupo control (OR = 0,6; IC del 95%, 0,3-1,2;  $p = NS$ ) (tabla II).

En el subanálisis del grupo de pacientes con CBP (n = 46) no se presentaron diferencias significativas en cuanto a sexo, edad, hallazgos histopatológicos, AMA y anticuerpos antinucleares entre los pacientes positivos y negativos para *C. pneumoniae*. Sin embargo, los pacientes seropositivos se encontraron con mayor frecuencia en estadios avanzados de Child-Pugh (OR = 5,6; IC del 95%, 1,6-21 para Child-Pugh A frente a B más C; p = 0,01), mayor puntuación en esta clasificación (p = 0,005), mayor puntuación en la escala pronóstica de la Clínica Mayo (p = 0,004) y mayor frecuencia de ascitis (OR = 9,6; IC del 95% 1,1-87; p = 0,02) en comparación con los pacientes con CBP y anticuerpos anti-*C. pneumoniae* negativos. Además, los pacientes con anticuerpos anti-*C. pneumoniae* positivos presentaron valores más elevados de bilirrubina total (4,5 ± 2,5 frente a 2,4 ± 4,3 mg/dl; p = 0,001) y menores de albúmina sérica (2,6 ± 0,9 frente a 3,3 ± 0,6 g/dl; p = 0,02) en comparación con los pacientes con CBP y anticuerpos contra *C. pneumoniae* negativos (tabla III).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio no fue posible establecer una asociación entre la infección por *C. pneumoniae* y la CBP. Sin embargo, encontramos una asociación entre la gravedad de la enfermedad colestásica hepática y la frecuencia de seropositividad para *C. pneumoniae*.

En los pacientes con CBP, una vez iniciada la respuesta inflamatoria hepática, ésta no revierte y el proceso continúa. Las lesiones de la CBP son secundarias a una lesión persistente mediada por linfocitos T contra las células epiteliales de los conductos biliares intrahepáticos<sup>30</sup>. La destrucción de estas células causa una pérdida progresiva de la función de los conductos biliares, con disminución gradual de la secreción biliar y acumulación de sustancias potencialmente tóxicas en el hígado, que normalmente se excretan al líquido biliar<sup>31</sup>. Los ácidos biliares naturales son detergentes y pueden disolver las membranas celulares si se presentan en concentraciones altas<sup>32</sup>. En la CBP generalmente se alcanzan estas concentraciones tóxicas y se presenta lesión de los hepatocitos; el resultado a largo plazo de este proceso es la aparición de cirrosis e insuficiencia hepática.

Uno de los grandes descubrimientos para la comprensión de la inmunopatogenia de la CBP fue la identificación de enzimas mitocondriales que funcionan como autoantígenos, como el complejo PDC-E<sub>2</sub><sup>33</sup>. Sin embargo, no está claro por qué las células epiteliales biliares son el único (o principal) blanco de los ataques autoinmunitarios, ya que las proteínas mitocondriales están presentes en todas las células nucleadas del cuerpo. Una hipótesis es la conocida como «imitación antigénica», ya que pueden existir múltiples moléculas de origen extrínseco que tienen epítomos que presentan una reacción cruzada con moléculas presentes en las mitocondrias, como el PDC-E<sub>2</sub>. Al parecer, hay moléculas que presentan reacción cruzada con el PDC-E<sub>2</sub> y que se expresan en la superficie apical

TABLA II. Prevalencia de anticuerpos antinmunoglobulina G contra *C. pneumoniae* en pacientes con cirrosis biliar primaria y controles

	CBP (n = 46)	Controles (n = 105)	p
Anticuerpos			
Positivos	21 (46)	74 (71)	NS
Negativos	25 (54)	31 (29)	

Odds ratio = 0,6; intervalo de confianza del 95%, 0,3-1,2; p = NS. CBP: cirrosis biliar primaria; NS: no significativo.

TABLA III. Características de los pacientes con cirrosis biliar primaria de acuerdo con la presencia de anticuerpos contra *C. pneumoniae*

	Con anticuerpos (n = 21)	Sin anticuerpos (n = 25)	p
Child-Pugh (estadios)			0,01
A	5 (24%)	16 (64%)	
B	11 (52%)	8 (32%)	
C	5 (24%)	1 (4%)	
Puntos	7,9 ± 1,9	6,4 ± 1,4	0,005
Ascitis	6 (29%)	1 (4%)	0,02
Bilirrubina total (mg/dl)	4,5 ± 2,5	2,4 ± 4,3	0,001
Albúmina (g/l)	2,6 ± 0,9	3,3 ± 0,6	0,02

Los valores se expresan como número de pacientes (porcentaje) o como media ± desviación estándar.

de las células epiteliales biliares en pacientes con CBP<sup>20</sup>. Se desconoce cuál es el origen de estas moléculas, por lo que su identificación sigue siendo un aspecto fundamental en el entendimiento de la patogenia de esta entidad. Algunos estudios señalan la presencia de agentes infecciosos en la historia natural de la CBP. Se han descrito casos de CBP familiar<sup>34,35</sup> y casos con agregación geográfica<sup>36</sup>, lo que apunta a la presencia de factores ambientales que pudieran tener un papel etiológico. Esto queda ejemplificado en la alta prevalencia de bacteriuria entre los pacientes con CBP, en comparación con otras hepatopatías crónicas<sup>37</sup>. Además, otros estudios han mostrado que el suero de los pacientes con CBP reacciona con el PDC-E<sub>2</sub> humano y de *Escherichia coli*<sup>38</sup>. Esto se debe a que el PDC-E<sub>2</sub> es crucial para la cadena respiratoria, por lo que su secuencia es idéntica en varias especies, desde las eubacterias hasta los mamíferos<sup>39</sup>. Es importante señalar que esta reacción cruzada no implica necesariamente que el paciente con CBP reaccione originalmente al PDC-E<sub>2</sub> de la bacteria original. Los granulomas que se presentan en algunas infecciones por *Mycobacterium* pueden encontrarse en algunos pacientes con CBP<sup>40</sup>. Por lo tanto, es posible que los antígenos con reacción cruzada en CBP sean componentes bacterianos y que las infecciones bacterianas intracelulares puedan estar estrechamente asociadas con la etiología de la CBP.

*C. pneumoniae*, tercera especie del género *Chlamydia*, es causa frecuente de infecciones de las vías respiratorias, tales como faringitis, bronquitis y neumonía<sup>22</sup>. La seroprevalencia de este organismo varía entre el 40 y el 70% de la población adulta y se cree que la mayoría de las personas presentan varias infecciones en el transcurso de su vida<sup>23</sup>. Estudios recientes indican que la infección por *C.*

*pneumoniae* puede ser un agente desencadenante e incluso causal de la CBP. Un estudio que analizó 25 hígados explantados de pacientes con CBP encontró en todos antígenos de *C. pneumoniae* dentro de los hepatocitos detectados por tinciones de inmunohistoquímica, en comparación con sólo 9 de 105 hígados de pacientes a quienes se les realizó trasplante hepático por otras enfermedades<sup>26</sup>. En el presente estudio no fue posible establecer una asociación entre la infección por *C. pneumoniae* y CBP, si bien esto podría deberse a la alta seropositividad encontrada en los 2 grupos de estudio. Sin embargo, encontramos una asociación entre la gravedad de la enfermedad colestásica crónica y una mayor frecuencia de seropositividad para *C. pneumoniae*, lo que podría apuntar a un efecto nocivo de esta infección en los pacientes con CBP, o bien a una predisposición de los pacientes con enfermedad hepática avanzada a adquirir infecciones por *C. pneumoniae*. Tendrán que realizarse más estudios en el futuro para aclarar la probable relación de la infección por *C. pneumoniae* y el desarrollo de CBP.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996; 335:1570-8.
- Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med.* 2005;353:1261-73.
- Kita H, Lian ZX, Van de Water J, et al. Identification of HLA-A2-restricted CD8+ cytotoxic T cell response in primary biliary cirrhosis: T cell activation is augmented by immune complexes cross-presented by dendritic cells. *J Exp Med.* 2002;195:113-23.
- García-Suárez C, Crespo J, Fernández-Gil PL, Amado JA, García-Unzueta MT, Pons Romero F. Concentraciones plasmáticas de leptina en pacientes con cirrosis biliar primaria y su relación con el grado de fibrosis. *Gastroenterol Hepatol.* 2004;27:47-50.
- James SP, Elson CO, Waggoner JG, et al. Deficiency of the autologous mixed lymphocyte reaction in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest.* 1980;66:1305-10.
- Miller KB, Elta GH, Rudders RA, et al. Lymphocyte subsets in primary biliary cirrhosis. *Ann Intern Med.* 1984;100:385-7.
- Moebius U, Manns M, Hess G, et al. T cell receptor gene rearrangements of T lymphocytes infiltrating the liver in chronic active hepatitis B and primary biliary cirrhosis (PBC): oligoclonality of PBC-derived T cell clones. *Eur J Immunol.* 1990;20: 889-96.
- Gershwin ME, Mackay IR. Primary biliary cirrhosis: paradigm or paradox for autoimmunity. *Gastroenterology.* 1991;100:822-33.
- James SP, Hoofnagle JH, Strober W, et al. NIH conference: primary biliary cirrhosis: a model autoimmune disease. *Ann Intern Med.* 1983;99:500-12.
- Floreani A, Bassendine MF, Mitchison H, et al. No specific association between primary biliary cirrhosis and bacteriuria? *J Hepatol.* 1989;8:201-7.
- Harada K, Tsuneyama K, Sudo Y, et al. Molecular identification of bacterial 16S ribosomal RNA gene in liver tissue of primary biliary cirrhosis: is *Propionibacterium acnes* involved in granuloma formation? *Hepatology.* 2001;33:530-6.
- Haydon GH, Neuberger J. PBC: an infectious disease? *Gut.* 2000;47:586-8.
- Hopf U, Moller B, Stemerowicz R, et al. Relation between *Escherichia coli* R(rough)-forms in gut, lipid A in liver, and primary biliary cirrhosis. *Lancet.* 1989;2:1419-22.
- Mason AL, Xu L, Guo L, et al. Detection of retroviral antibodies in primary biliary cirrhosis and other idiopathic biliary disorders. *Lancet.* 1998;35:1620-4.
- O'Donohue J, Fidler H, García-Barcelo M, et al. Mycobacterial DNA not detected in liver sections from patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 1998;28:433-8.
- Tanaka A, Prindiville TP, Gish R, et al. Are infectious agents involved in primary biliary cirrhosis? A PCR approach. *J Hepatol.* 1999;31:664-71.
- Burroughs AK, Butler P, Sternberg MJ. Molecular mimicry in liver disease. *Nature.* 1992;358:377-8.
- Doniach D, Roitt IM, Walker JG, et al. Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implications. *Clin Exp Immunol.* 1966;1:237-62.
- Neuberger J, Thomson R. PBC and AMA-what is the connection? *Hepatology.* 1999;29:271-6.
- Van de Water J, Turchany J, Leung PS, et al. Molecular mimicry in primary biliary cirrhosis. Evidence for biliary epithelial expression of a molecule cross-reactive with pyruvate dehydrogenase complex-E2. *J Clin Invest.* 1993;91:2653-64.
- Vilagut L, Vila J, Vinas O, et al. Cross-reactivity of anti-*Mycobacterium gordonae* antibodies with the major mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 1994;21: 673-7.
- Kuo CC, Jackson LA, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:451-61.
- Grayston JT. Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Infect Dis.* 1992;15:757-63.
- Meza-Junco J, Montaña-Loza A, Castillo-Martínez L, et al. High prevalence of *Chlamydia pneumoniae* seropositivity in Mexican patients with ischemic heart disease. *Arch Med Res.* 2004;35:318-23.
- Abdulkarim SS, Petrovic LM, Kim WR, et al. Primary biliary cirrhosis: an infectious disease caused by *Chlamydia pneumoniae* [resumen]? *Gastroenterology.* 2002;122:A641.
- Ahmad S, Abdulkarim AS, Petrovic LM, et al. Primary biliary cirrhosis: an infectious disease caused by *Chlamydia pneumoniae*? *J Hepatol.* 2004;40:380-4.
- Liu HY, Deng AM, Zhang J, Zhou Y, Yao DK, Tu XQ, et al. Correlation of *Chlamydia pneumoniae* infection with primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2005;11:4108-10.
- Degott C, Zafrani ES, Callard P, Balkau B, Poupon RE, Poupon R. Histopathological study of primary biliary cirrhosis and the effect of ursodeoxycholic acid treatment on histology progression. *Hepatology.* 1999;29:1007-12.
- Murtaugh PA, Dickson ER, Van Dam GM, Malinchoc M, Grambsch PM, Langworthy AL, et al. Primary biliary cirrhosis: prediction of short-term survival based on repeated patient visits. *Hepatology.* 1994;20:126-34.
- Van de Water J, Shimoda S, Niho Y, et al. The role of T cells in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 1997;17:105-14.
- Schlaeger R, Haux P, Katterman R. Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase in cholestasis: significance of the hepatic bile acid concentration for the leakage of alkaline phosphatase from rat liver. *Enzyme.* 1982;28:3-13.
- Billington D, Evans CE, Godfrey PP, et al. Effects of bile acids on the plasma membranes of isolated rat hepatocytes. *Biochem J.* 1980;188:321-7.
- Gershwin ME, Mackay IR, Sturgess A, et al. Identification and specificity of a cDNA encoding the 70 kd mitochondrial antigen recognized in primary biliary cirrhosis. *J Immunol.* 1987; 138:3525-31.
- Bach N, Schaffer F. Familial primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 1994;20:698-701.
- Brind AM, Bray GP, Portmann BC, et al. Prevalence and pattern of familial disease in primary biliary cirrhosis. *Gut.* 1995; 36:615-7.
- Metcalf J, Lames O. The geoepidemiology of primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 1997;17:13-22.
- Burroughs AK, Rosenstein IJ, Epstein O, et al. Bacteriuria and primary biliary cirrhosis. *Gut.* 1984;25:133-7.
- Fussey SP, Ali ST, Guest JR. Reactivity of primary biliary cirrhosis sera with *Escherichia coli* dihydroliipoamide acetyltransferase (E2p): characterization of the main immunogenic region. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:3987-91.
- Yeaman SJ, Fussey SP, Danner DJ. Primary biliary cirrhosis: identification of two M2 mitochondrial autoantigens. *Lancet.* 1988;1:1067-70.
- Nakanuma Y, Tsuneyama K, Gershwin ME, et al. Pathology and immunopathology of primary biliary cirrhosis with emphasis on bile duct lesions: recent progress. *Semin Liver Dis.* 1995; 15:313-28.