



Sobrecarga de hierro y genotipo 3 se asocian a la presencia de esteatosis en la hepatitis C

L. I. Fernández Salazar, T. Álvarez Gago¹, R. Aller de la Fuente, A. Orduña Domingo², T. Arranz Santos, F. de la Calle Valverde, L. del Olmo Martín, D. de Luis Román³ y J. M. González Hernández

Servicios de Aparato Digestivo, ¹Anatomía Patológica y ²Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Valladolid. ³Servicio de Endocrinología. Hospital del Río Hortega. Valladolid

RESUMEN

Objetivo: determinar los factores epidemiológicos, analíticos, virológicos e histológicos a los que se asocia la esteatosis en la hepatitis C.

Pacientes: se revisaron de forma retrospectiva 53 historias clínicas de pacientes biopsiados consecutivamente desde junio de 2000 a diciembre de 2002. Se excluyeron pacientes con otros virus. Se revisaron las biopsias hepáticas de forma protocolizada. Se obtuvieron los datos epidemiológicos, analíticos y virológicos. La talla y el peso de los pacientes se recogieron en el momento de la biopsia hepática. Se estudió la asociación estadística de las variables cualitativas y cuantitativas con la presencia de esteatosis y se realizó un análisis multivariante.

Resultados: se identificó esteatosis en el 52% de las biopsias. No hubo asociación estadísticamente significativa con edad, sexo, vía de contagio, tiempo de evolución, ingesta de alcohol, presencia de enfermedades asociadas, índice de masa corporal, glucosa, triglicéridos, colesterol, AST, ALT, GGT, FA, bilirrubina, carga viral. Se asoció a mayor sideremia, IST y ferritina. Se demostró asociación con el genotipo 3. La esteatosis se asoció a necrosis *piecemeal*, degeneración hepatocelular, hiperplasia de células de Kupffer, hierro hepático y fibrosis portal. El hierro hepático, la hiperplasia de las células de Kupffer y el genotipo 3 se asociaron de manera independiente a la esteatosis hepática.

Conclusiones: la esteatosis en la hepatitis C se asocia a la infección por genotipo 3, a la hiperplasia de las células de Kupffer y a sobrecarga de hierro. También se asocia a mayor inflamación y fibrosis por lo que debe ser considerada factor agravante.

Palabras clave: Hepatitis crónica. Hepacivirus. Lípidos. Enfermedad metabólica. Sobrecarga de hierro. Pronóstico.

INTRODUCCIÓN

Un hallazgo frecuente en las biopsias hepáticas de pacientes con hepatitis crónica por el virus C (HCC) es la esteatosis hepática (1). El papel de esta en la historia natural de la HCC no es conocido pero varios autores la relacionan con la fibrosis (2-6).

El depósito de grasa en el hígado puede deberse a factores independientes de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) como la ingestión de alcohol, la diabetes mellitus, hiperlipemia, o el sobrepeso (4,5) o puede ser consecuencia de un efecto citopático del VHC (6).

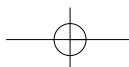
Nuestro objetivo fue determinar la frecuencia y la intensidad con la que la esteatosis se detecta en la HCC y los factores epidemiológicos, analíticos, virológicos e histológicos a los que se asocia tratando de elucidar si la presencia de esteatosis se relaciona con factores independientes de la infección por el VHC y si su presencia supone una hepatopatía más grave.

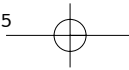
MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes. Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de 53 pacientes con diagnóstico de HCC biopsiados consecutivamente desde junio de 2000 hasta diciembre de 2002. El diagnóstico de HCC se hizo a partir de la elevación de ALT (alanin-amino transferasa) durante más de seis meses, la presencia de anticuerpos frente al VHC y la detección de ARN del VHC en suero. Se excluyeron pacientes con coinfección por VHB o VIH. El número final de pacientes fue 50. Se obtuvieron los datos referentes a vía de transmisión de la infección, tiempo de evolución (sólo conocido en 14 pacientes), enfermedades asociadas y consumo de alcohol. El consumo de alcohol en los doce meses previos permitió clasificar a los pacientes en tres grupos: a) abstemios; b) ingestión inferior a 40 g de alcohol al día; y c) ingestión mayor de 40 g de alcohol al día. La talla y el peso de los pacientes se obtuvieron durante el ingreso del paciente para la realización de la biopsia hepática.

Bioquímica y hemograma. Se obtuvieron los siguientes datos: glucosa, triglicéridos, colesterol, AST (aspartato-amino transferasa), ALT, FA (fosfatasa alcalina), GGT (gamma glutamil transpeptidasa), bilirrubina, hierro sérico, transferrina, IST (índice de saturación de transferrina), ferritina y plaquetas.

Estudio histológico. Las biopsias hepáticas se realizaron con control ecográfico y aguja de biopsia-aspiración Menghini modificada (Surecut®). El tejido hepático fue fijado en formol y posteriormente incluido en parafina. Un único patólogo se encargó del estudio de las biopsias





según la tabla I empleándose las tinciones habituales: hematoxilina-eosina, tricómico y Perls. El grado se obtuvo a partir de la actividad portal/perportal y la actividad lobulillar según el sistema de Scheuer (7).

Virología. El genotipo del VHC y carga viral se determinaron dentro de los tres meses previos a la biopsia hepática. Como prueba de cribado para el diagnóstico serológico se utilizó una prueba de enzoinmunoanálisis (EIA Abbott Chicago, EE.UU.) y como confirmación un inmunoblot (Deciscan VHC, Sanofi Diagnostic Pasteur, marnes la Coquette, Francia). Para la detección del ARN viral se utilizó una PCR previa transcripción inversa (RT-PCR) (Amplicor VHC, Roche Branchburg EE.UU.). La genotipificación se realizó a partir de la hibridación inversa de los amplificadores obtenidos por RT-PCR (Inno-Lipa VHC de segunda generación Innogenetics Zarijn-decht, Bélgica).

Inmunología. Se estudió la positividad de autoanticuerpos (antinúcleo, anti-ADN, antimitocondriales, anti-músculo liso y anti-células parietales). Se consideraron los títulos iguales o mayores a 1/40.

Análisis estadístico. Los valores demográficos, histológicos y analíticos fueron comparados con la presencia o ausencia de esteatosis y con la intensidad de esta. Las variables categóricas se expresaron como porcentajes y las continuas como medias y desviación estándar. Se emplearon los tests de Chi cuadrado de Pearson, Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. Finalmente las variables significativamente asociadas a la esteatosis en el análisis bivalente ($p < 0,05$) fueron incluidas en un modelo multivariante de regresión logística.

RESULTADOS

Las características generales de los pacientes se recogen en la tabla II.

Presencia e intensidad de la esteatosis

La esteatosis se observó en el 52% (26/50) de las biopsias hepáticas, siendo leve en el 65,3% (17/26), moderada en el 23% (6/26) y grave en el 11,5% (3/26). La esteatosis fue macrovacuolar en el 38,4% (10/26), microvacuolar en el 3,8% (1/26) y mixta en el 57,6% (15/26).

Factores asociados a la presencia de esteatosis

1. **Epidemiológicos** (Tabla III): ni la intensidad ni la presencia de esteatosis en la biopsia hepática se asociaron a diferencias de edad, sexo, tiempo de evolución, vías de contagio, consumo de alcohol, o enfermedades asociadas. La esteatosis tampoco se asoció a un mayor IMC (índice de masa corporal). Entre los pacientes con un IMC por encima de la media del total de pacientes no se halló esta-

Tabla I. Valoración de las variables histológicas estudiadas

Esteatosis (0-3)	
0	Ausente
1	Afecta menos de 1/3 de los hepatocitos (leve)
2	Afecta entre 1/3 y 2/3 de los hepatocitos (moderada)
3	Afecta a más de 2/3 de los hepatocitos (grave)
Inflamación portal (0-3)	
0	Ausente
1	Leve
2	Moderada
3	Grave
Necrosis piecemeal (0-3)	
0	Ausente
1	Leve
2	Moderada
3	Grave
Necrosis lobular (0-2)	
0	Ausente, leve
1	Moderada
2	Grave
Necrosis con puentes	
0	Ausente
1	Presente
Daño hepatocelular (degeneración balonizante, acidofilia, picnosis) (0-2)	
0	Ausente
1	Leve
2	Moderada o grave
Hiperplasia de las células de Kupffer (0-1)	
0	Ausente
1	Presente
Fibrosis portal (0-4)	
0	No fibrosis
1	Agrandamiento de los espacios porta sin formación de septos
2	Agrandamiento de los espacios porta con formación de septos
3	Numerosos septos sin cirrosis
4	Cirrosis
Fibrosis centrolobulillar (engrosamiento de la vena centrolobulillar con fibrosis perisinusal) (0-2)	
0	Ausente
1	Moderado
2	Grave
Hierro (0-3)	
0	Ausente
1	Hierro presente en hasta 1/3 de los hepatocitos
2	Hierro presente en 1/3 a 2/3 de los hepatocitos
3	Hierro presente en 2/3 a 3/3 de los hepatocitos

tosis con mayor frecuencia. No encontramos relación entre la presencia de esteatosis y el IMC en pacientes infectados por VHC con genotipo 3 o diferente a 3.

2. **Bioquímicos e inmunológicos** (Tabla III): se comprobó únicamente que aquellos pacientes con esteatosis en su biopsia hepática tenían un hierro sérico, IST y ferritina más elevados. Se comprobó igualmente relación entre la ferritina sérica y la intensidad de la esteatosis (Tabla IV).

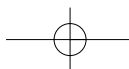




Tabla II. Características generales de los pacientes

Edad	40,7 ± 9,3
Sexo	41V/9M
IMC (kg/m ²)	25,5 ± 3,4
Mecanismo de contagio n (%)	
Transfusión	8 (16%)
Ex ADVP	14 (28%)
Desconocido	28 (56%)
Ingestión de alcohol n (%)	
Abstemios	32 (64%)
Ingestión < 40 g/día	15 (30%)
Ingestión > 40 g/día	3 (6%)
Hemograma y bioquímica	
Plaquetas (mm ³)	189.723 ± 47.123
AST (UI/mL)	73,4 ± 46,3
ALT (UI/mL)	129,6 ± 80,4
Glucosa (mg/dL)	94,1 ± 14,7
Colesterol (mg/dL)	172,6 ± 33,3
Triglicéridos (mg/dL)	88,3 ± 36,8
Hierro (µg/dL)	132,0 ± 54,4
IST (%)	55,0 ± 27,0
Ferritina (ng/mL)	252,8 ± 287,0
Viológicos	
Carga viral (UI/mL)	460.410 ± 317.993
Genotipo n (%) (*)	
1	31 (62%)
3	9 (18%)
4	1 (2%)
Coinfección por genotipos 1 y 4	5 (10%)
Histológicos n (%)	
Grado inflamatorio	
1	9 (18%)
2	28 (56%)
3	12 (24%)
4	1 (2%)
Estadio de fibrosis	
0	1 (2%)
1	17 (34%)
2	18 (36%)
3	10 (20%)
4	4 (8%)

*Cuatro pacientes tenían infección por VHC no genotipable

3. *Viológicos* (Tabla III): el genotipo 3 se asoció claramente a la presencia de esteatosis. En el 100% de las biopsias hepáticas de pacientes infectados por VHC con genotipo 3 se detectó la presencia de esteatosis hepática frente al 35% de los pacientes infectados por genotipo 1. La tabla IV recoge las diferencias de esteatosis en los diferentes genotipos. La esteatosis hepática no se asoció a mayor o menor carga viral en el total de pacientes ni en el subgrupo de pacientes con genotipo 3 o diferente a 3.

4. *Histológicos* (Tabla V): la presencia de esteatosis se asocia a la necrosis *piecemeal* y por tanto mayor grado de actividad, también a mayor fibrosis portal, mayor degeneración hepatocelular, a la presencia de hierro hepático detectable y a la hiperplasia de las células de Kupffer. La

intensidad de la esteatosis se relaciona también con el depósito de hierro (Tabla IV).

En el análisis multivariante se incluyeron: genotipo, necrosis *piecemeal*, degeneración hepatocelular, hiperplasia de células de Kupffer, hierro hepático, grado y fibrosis portal. Se comprobó que hierro hepático ($p = 0,005$; IC 95%: 2,197-75,536, OR 12,884), genotipo 3 ($p = 0,003$; IC 95%: 3,64-50, OR 43,48) e hiperplasia de células de Kupffer ($p = 0,020$; IC 95%: 1,570-176,03, OR 16,622) fueron las variables asociadas independientemente a la presencia de esteatosis hepática.

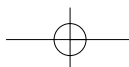
DISCUSIÓN

La frecuencia e intensidad de la esteatosis hepática en nuestros pacientes es similar a la descrita en otros trabajos (2,4,8-13).

No encontramos asociación entre la presencia de esteatosis y la coexistencia de enfermedades metabólicas como la diabetes o la hiperlipemia, o con el sobrepeso estimado según el IMC que son asociaciones demostradas por otros autores (4,5,11,12,14-16). Hay posibles explicaciones para esto: a) nuestro grupo de pacientes es muy homogéneo en cuanto al IMC; b) la esteatosis leve supone un 65% del total de pacientes con esteatosis por lo que la baja intensidad de la misma puede ser la causa de que no se observen diferencias; c) por otro lado si pensamos en el hígado graso y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), no es desdeñable el tanto por ciento de pacientes en los que únicamente se demuestra una resistencia a la insulina y no padecen una diabetes, hiperlipemia u obesidad (17,18); y d) además, en la EHNA, y posiblemente en la esteatosis asociada a la HCC (6), la obesidad visceral tiene más importancia que la periférica (17,19) y el IMC no es un indicador adecuado de esta.

La presencia de hierro hepático se asocia claramente a la esteatosis hepática en nuestros pacientes. Otros autores no encuentran esta asociación (4,6) pero existen evidencias de peso que permiten relacionar la esteatosis hepática, trastornos metabólicos y la sobrecarga de hierro (17,18,20-30). La esteatosis de la HCC se ha relacionado con factores involucrados en la enfermedad grasa del hígado no alcohólica como los niveles de leptina, FNT-alfa (factor de necrosis tumoral alfa), y el CYP2E1 (citocromo P450 2E1) (11,31-33), enfermedad que, como es sabido, se asocia a una elevación de los índices de hierro.

La sospecha de un papel citopático del propio VHC que induzca la esteatosis se apoya en diferentes estudios. Aunque hay trabajos en los que no se demuestra la relación entre la esteatosis y el genotipo del VHC o la carga viral (8,34), se ha demostrado la correlación entre la esteatosis, los títulos séricos e intrahepáticos de ARN viral, y la expresión hepática de la proteína del *core* del VHC en la HCC (6,11,12,35,36). Ratones transgénicos que expresan proteínas del VHC desarrollan esteatosis hepática,



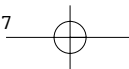


Tabla III. Análisis de variables demográficas, analíticas y virológicas

	No esteatosis (24)	Esteatosis (26)	p
Edad	38,3 ± 11,1	42,8 ± 6,7	NS
Sexo (%hombres)	75%	88%	NS
IMC	24,9 ± 3,5	26,0 ± 3,3	NS
Transmisión			
Transfusión	20,8% (5/24)	12% (3/26)	NS
ADVP	33,3% (8/24)	24% (6/26)	NS
Desconocido	45,8% (11/24)	68% (17/26)	NS
Tiempo evolución	18,5 ± 8,4	21,0 ± 6,2	NS
Ingesta de alcohol			NS
Abstemios	62,5%	65,3%	
Alcohol < 40 g/d	29,1%	30,7%	
Alcohol > 40 g/d	8,3%	3,8%	
Hemograma y bioquímica			
Plaquetas (mm ³)	198.272 ± 53.222	182.200 ± 40.640	NS
Glucosa (mg/dL)	95,2 ± 17,8	93,1 ± 11,3	NS
Triglicéridos (mg/dL)	84,2 ± 35,8	92,1 ± 38,0	NS
Colesterol (mg/dL)	172,8 ± 27,9	172,5 ± 38,2	NS
AST (UI/mL)	61,9 ± 37,8	84,0 ± 51,4	NS
ALT (UI/mL)	116,0 ± 75,9	142,1 ± 83,9	NS
GGT (UI/mL)	54,7 ± 55,1	69,1 ± 49,9	NS
FA (UI/mL)	179,5 ± 73,5	147,1 ± 56,8	NS
Hierro (µg/dL)	114,0 ± 42,9	148,5 ± 59,3	0,03
IST (%)	44,0 ± 21,6	64,4 ± 28,2	0,05
Ferritina (ng/mL)	131,7 ± 93,7	348,7 ± 349,1	0,01
Autoinmunidad	8,3%	7,6%	NS
Virología			
Carga (UI/mL)	493.929 ± 329.638	426.892 ± 309.555	NS
Genotipo 3	0%	37,5%	0,001

Tabla IV. Relación entre la intensidad de la esteatosis y la ferritina sérica (p = 0,006), los distintos genotipos (p < 0,001) y el hierro hepático (p = 0,031)

	Esteatosis 0	Esteatosis 1	Esteatosis 2	Esteatosis 3
Ferritina sérica	131,7 (± 93,7)	324,9 (± 165,6)	475,6 (± 672,3)	214,0 (± 12,4)
Genotipos (*)				
1 (31)	64,5% (20/31)	32,3% (10/31)	3,2% (1/31)	0% (0/31)
3 (9)	0% (0/9)	44,4% (4/9)	33,3% (3/9)	22,2% (2/9)
4 (1)	0% (0/1)	0% (0/1)	100% (1/1)	0% (0/1)
1 y 4 (5)	40% (2/5)	60% (3/5)	0% (0/5)	0% (0/5)
Hierro hepático				
0 (31)	64,5% (20/31)	19,4% (6/31)	9,7% (3/31)	6,5% (2/31)
1 (13)	30,8% (4/13)	53,8% (7/13)	7,7% (1/13)	7,7% (1/13)
2 (4)	0% (0/4)	75% (3/4)	25% (1/4)	0% (0/4)
3 (1)	0% (0/1)	0% (0/1)	100% (1/1)	0% (0/1)

*Cuatro pacientes tenían VHC no genotipables.

trastornos mitocondriales y trastornos en la secreción de VLDL por parte de los hepatocitos (37-39). La entrada del VHC al hepatocito está mediada por el receptor de las lipoproteínas de baja densidad, y se han demostrado interacciones entre las proteínas del core del VHC y las apolipoproteínas Apo1 y Apo2 (40,41). También la infección por el VHC, más frecuentemente con genotipo 3, induce

hipolipobetaaproteinemia (42,43) e hipocolesterolemia (12, 16,43,44), y la respuesta sostenida al tratamiento antiviral hace desaparecer la esteatosis y revierte la hipocolesterolemia (13,43,44). La esteatosis en nuestros pacientes es más frecuente e intensa en los pacientes infectados por el genotipo 3. Parece por tanto probable el papel del VHC, sobre todo con genotipo 3 en la génesis de la esteatosis

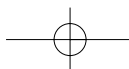




Tabla V. Análisis de variables histológicas

	No esteatosis (24)	Esteatosis (26)	p
<i>Inflamación portal</i>			NS
1	9 (37,5%)	5 (19,2%)	
2,3	15 (62,5%)	21 (80,7%)	
<i>Necrosis peacemeal</i>			0,011
0	9 (37,5%)	2 (7,6%)	
1, 2, 3	15 (62,5%)	24 (92,3%)	
<i>Necrosis lobulillar</i>			NS
0	13 (54,1%)	10 (38,4%)	
1, 2	11 (45,8%)	16 (61,5%)	
<i>Necrosis en puentes</i>			NS
0	17 (73,9%)	17 (65,3%)	
1	6 (26,0%)	9 (34,6%)	
<i>Grado</i>			0,048
1	7 (29,1%)	2 (7,6%)	
2,3,4	17 (70,8%)	24 (92,3%)	
<i>Degeneración hepatocelular</i>			0,022
0	12 (50%)	5 (19,2%)	
1,2	12 (50%)	21 (80,7%)	
<i>Hiperplasia de células de Kupffer</i>			0,048
0	7 (29,1%)	2 (7,6%)	
1	17 (70,8%)	24 (92,3%)	
<i>Hierro hepático</i>			0,004
0	20 (83,3%)	11 (44%)	
1,2,3	4 (16,6%)	14 (56%)	
<i>Fibrosis portal</i>			0,022
0,1	12 (50%)	5 (19,2%)	
2,3,4	12 (50%)	21 (80,7%)	
<i>Fibrosis centrolobulillar</i>			NS
0	14 (58,3%)	11 (42,3%)	
1,2	10 (41,6%)	15 (57,6%)	

hepática en la HCC. Al igual que otros autores no hemos encontrado una asociación entre la carga viral y la presencia o intensidad de la esteatosis (4).

No hemos encontrado asociación entre la esteatosis y la edad, sexo, o vía de transmisión. Tampoco lo encuentran otros autores (4-6), aunque la edad sí que se ha relacionado con la presencia de esteatosis (12). No hemos encontrado mayor ingestión de alcohol entre los pacientes con esteatosis, si bien es cierto que los pacientes con HCC que biopsiamos son pacientes que con muchas probabilidades van a recibir tratamiento y no son bebedores habituales. El papel del alcohol ha sido estudiado por varios autores en relación con la esteatosis de la HCC (3-5,9). La ingesta de alcohol no parece un factor importante en el desarrollo de esteatosis en la HCC (4,5) aunque sí se encuentra esta relación si los pacientes lo ingieren (10). Alcohol y esteatosis podrían tener una acción sinérgica en la fibrogénesis de la HCC (3). Dentro de la bioquímica sérica sólo hierro, IST y ferritina se asocian a esteatosis en el análisis univariante en nuestros pacientes. Es probable, que si el grupo de pacien-

tes con esteatosis grave hubiera sido más numeroso, se habría comprobado mayor citolisis hepática (35).

La esteatosis es una condición que confiere vulnerabilidad al hígado frente a otras agresiones (32) y por tanto la consideramos como un factor agravante de la HCC. En nuestros pacientes encontramos una hiperplasia de las células de Kupffer asociada a la esteatosis lo que puede explicarse también a partir de los trastornos en el sistema fagocítico descrito en la esteatosis hepática (45). Hemos comprobado al igual que otros autores (6) que la esteatosis se asocia a mayor necrosis de tipo *piecemeal* y a mayor degeneración hepatocelular, que es propia de la esteatosis hepática alcohólica y no alcohólica, aunque no se asocia a mayor fibrosis centrolobulillar (5,46). Otros autores sí que encuentran asociación entre la esteatosis y la fibrosis perisinusoidal (47). La relación entre la esteatosis, o su progresión, y la fibrogénesis de la HCC ha quedado demostrada (2-6,8,9) si bien nosotros sólo hemos podido demostrar la asociación entre la esteatosis y la fibrosis portal en el análisis univariante.

