

## Iron, hepatitis C virus and hepatic steatosis

Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is a clinico-pathologic condition characterized by histological features of alcoholic liver disease that occurs in patients who do not consume significant amounts of alcohol (1). At present, NASH is considered part of a broad spectrum of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) that also includes pure fatty liver (hepatic steatosis), hepatic steatosis with lobular inflammation, ballooning degeneration, sinusoidal fibrosis or Mallory body-like material (NASH) and cirrhosis of the liver (2-4). NAFLD is an emerging worldwide common problem that represents the most frequent histological finding in patients with unexplained abnormalities of the liver tests. In some Western countries, the prevalence of NAFLD in the general population is approximately 20% and the prevalence of NASH ranges between 1.2 and 4.8% (5). NASH has been found to be associated with a large number of metabolic, surgical and toxic conditions. However, the main risk factors associated with NASH include obesity, type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia and other conditions characterized by insulin resistance and hyperinsulinemia (6). In the present issue of the *Spanish Journal of Gastroenterology*, Fernández-Salazar et al. (7) published a study including 53 patients with chronic hepatitis C (CHC) in which they find hepatic steatosis in 50% of them, and that factors independently associated with the presence of steatosis were iron overload and hepatitis C virus (HCV) genotype 3.

The role of iron deposition in the pathogenesis of NAFLD has raised general interest (8). Moriand et al. (9) first associated primary hepatic iron overload with the clinical features of insulin resistance. In this respect, Facchini et al. showed improvement in insulin sensitivity with the use of venesection in patients with NAFLD (10). Moreover, serum ferritin levels are increased in 43 to 62% of patients with NAFLD, and some authors have found increased prevalence of the C282Y mutation of the HFE gene (11-13). Furthermore, as iron promotes oxidative stress, it was considered a pathogenic factor in NASH. This role was supported by its association with hepatic fibrosis (13). However, the relationship between serum ferritin levels, iron stores, HFE gene mutations and NASH are a controversial area. As mentioned above, increased serum ferritin concentrations are found in a large proportion of patients with NAFLD (14,15). In our experience, hyperferritinemia was found in 37% of NASH patients, whereas increases in serum transferrin saturation were seen less frequently, in 3% of patients (16). Although George et al. (13) and Bonkovsky et al. (11) reported increased iron stores in a significant proportion of NASH patients, other investigators have failed to observe significant hepatic iron accumulation in patients with NAFLD (12,17,18). In our series of patients with NASH, we found hepatic siderosis of only grade 1 or 2 in 16.5% of cases. Finally, Fernández-Salazar et al. (7) report grade 2 or 3 stainable iron in 19.2% of patients with liver steatosis; al-

## Editorial

though all of them suffered HCV infection and 34.5% consumed alcohol. Ladero et al. (19) found that hepatic iron is high in 11% patients with CHC. Few studies have quantified hepatic iron content using biochemical methods, and most of them failed to demonstrate a significant iron accumulation in patients with NAFLD when alcoholism was excluded (20,21). Most authors consider 20 g as the upper limit of acceptable daily ethanol consumption. Moreover, these studies did not find any relationship between hepatic iron concentration and fibrosis. This lack of relationship can be ascribed to the fact that iron burden is largely below the fibrogenic threshold (22). Concerning HFE gene mutations, Chitturi et al. (12) and George et al. (13), both from Australia, and Bonkovsky et al. (11), in the United States, concluded that prevalence of the C282Y mutation is increased in the NASH population. In contrast with these results, other investigators in the United States and other countries have failed to confirm these observations (17,18,21). In our own series of patients with NASH (16), prevalence of HFE mutations was not significantly increased (C282Y +/-, 1.6%; H63D +/+, 5%; H63D +/-, 30%).

In conclusion, although serum ferritin levels are frequently increased in patients with NAFLD, this finding is not expression of an enhanced hepatic iron overload. In these patients, hyperferritinemia in the presence of normal transferrin saturation has to be ascribed to inflammation, liver cell necrosis, alcohol abuse, insulin resistance, dietary factors or mutations in the ferritin gene (23,24). Thus, hyperferritinemia has been described in patients without iron overload in *hereditary hyperferritinemia* (25-27), a condition associated with cataracts caused by point mutations in the iron responsible element of the ferritin gene. Moreover, increased serum ferritin levels in the presence of normal transferrin saturation may also occur in the so called "*insulin resistance hepatic iron overload*" (28). Patients with this syndrome share one or more features of the metabolic syndrome, have histological features of NAFLD, and mild iron overload (9,29). In fact, hyperferritinemia have also been reported in patients with diabetes mellitus (30) and in subjects with a complex syndrome attributed to insulin resistance and characterized by the concentration of different metabolic abnormalities (31). Thus, the increased serum ferritin levels found in NAFLD may be simply an expression of the metabolic derangement caused by the insulin resistance (21,32). In a large number of NASH patients, hyperferritinemia may be due to dietary factors. Fargion et al. (18) demonstrated that serum ferritin levels returned to normal values in the large majority of NAFLD patients when they were put on a low-fat and hypocaloric diet. In addition to the insulin resistance, in NAFLD patients, hyperferritinemia may be caused by the hepatic damage, because activation of inflammatory cytokines would increase transcription of ferritin gene in macrophages (21). The likelihood of this mechanism is increased when NAFLD is associated with CHC, as is the case of the patients described by Fernández-Salazar et al. (7). An association between iron and viral hepatitis was first observed by Blumberg et al. (33), but many other authors have noted elevations in the serum ferritin levels in patients with CHC (34-36). Most of these patients have not elevated hepatic iron concentrations or when elevated, they are mild and not sufficient to be hepatotoxic (35).

The study of Fernández-Salazar et al. (7) also shows that presence of hepatic steatosis in CHC is associated with HCV genotype 3 infection. Steatosis of the liver and Mallory body-like material within hepatocytes are frequent histopathological features in CHC and have been proposed as histological markers of HCV infection (37-39). Many factors, including alcohol abuse, obesity, diabetes, and drugs may account for the fat accumulation in these patients. However, fatty liver can be found in

## Editorial

patients with CHC in whom these risk factors had been excluded (40). Therefore, it has been suggested that hepatic steatosis may be due to a direct cytopathic effect of HCV (40). Nevertheless, because fatty liver disease and HCV infection are frequent in Western countries, concurrence of fatty infiltration and CHC is likely. In a prospective study that included 98 consecutive patients with CHC, we found that risk factors for NASH [elevated body mass index (BMI), serum triglyceride and glucose, frequency of diabetes mellitus, and metabolic syndrome] were more frequent in the presence than in absence of NASH lesions. In this study, in which patients who consumed alcohol were excluded, BMI and HCV genotype 3, but not serum iron or serum ferritin levels, were the only factors associated with hepatic steatosis. These results concur with those recently reported by Patton et al. (41) and suggest that, in addition to overweight, HCV infection, particularly with genotype 3, may play an important role in the pathogenesis of steatosis in these patients. As a matter of fact, degree of hepatic steatosis has been correlated with viral replication in patients infected with HCV genotype 3 (42,43) and with the amount of HCV core protein expression in the liver (44). In this respect, HCV core protein can induce steatosis in transfected cells and transgenic mice (45-47). Furthermore, while a number of authors have observed an improvement of hepatic steatosis after the eradication of HCV infection by successful antiviral therapy (41-43,48), occurrence of steatosis after orthotopic liver transplantation has been associated with HCV re-infection (49).

Mechanisms by which HCV might induce hepatic steatosis are uncertain. It has been hypothesized that microsomal triglyceride transfer protein (MTP) may play an important role in the pathogenesis of NASH. This protein transfers triglycerides to apolipoprotein B, producing very low-density lipoprotein and removing lipids from the liver cells. Reduced MTP activity results in an impaired secretion of lipids from the liver and hepatic steatosis. Congenital abetalipoproteinemia, a disease caused by mutations in the MTP gene, is characterized by marked hepatic steatosis (50). In this respect, Charlton et al. (51) reported that synthesis of apolipoprotein B is decreased in patients with NASH and Namikawa et al. (52) and Bernard et al. (53), respectively, demonstrated MTP mutations in patients with NASH or type 2 diabetes. Interestingly, MTP gene expression is down regulated by insulin in liver cells (54). Likewise, in patients infected with HCV, particularly with genotype 3, hepatic steatosis has been found to be associated with hypobetalipoproteinemia (55,56). Furthermore, animal models of viral-related steatosis have shown that HCV core protein decreases MTP activity, impairs very low-density lipoprotein secretion and induces hepatic steatosis (47).

Although the HCV genotype 3 infection should be considered mainly as an etiological factor for steatosis, our study demonstrated that only BMI, but not HCV RNA viral load or genotype, was independently associated with NASH-related lesions (ballooning degeneration, Mallory body-like material, pericellular fibrosis) in patients with HCV infection. Although pathogenesis of NASH is not well understood, available evidence suggests that NASH development requires a "double hit". While the "first hit" involves hepatic steatosis, the "second hit" includes oxidative stress resulting in lipid peroxidation, the production of malondialdehyde, 4-hydroxy-2-nonenal, proinflammatory cytokines, stellate cells activation and fibrogenesis (57,58). Mitochondrial dysfunction might play a central role in the induction of this stress (59). We have recently shown that the activity of the mitochondrial respiratory chain is decreased in patients with NASH (60), and that this dysfunction correlated with the BMI. This correlation may be ascribed to the fact that adipose tissue is a

# Editorial

major source of tumor necrosis factor alpha (61). This cytokine induces mitochondrial abnormalities, reduces the activity of the mitochondrial respiratory chain (62) and has been implicated in the pathogenesis of NASH (63). Thus, our study suggests that, in patients with CHC, overweight might be the “second hit” necessary for the progression of hepatic steatosis to NASH.

J. A. Solís Herruzo and P. Solís-Muñoz

*Service of Digestive Diseases. University Hospital 12 de Octubre. Madrid, Spain*

## References

- Ludwig J, Viggiano RT, McGill DB. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc 1980; 55: 342-8.
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology 1999; 116: 1413-9.
- Brunt EM, Janney CG, Biscceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. Am J Gastroenterol 1999; 94: 2467-74.
- Pérez-Aguilar F, Benlloch S, Berenguer M, Beltrán B, Berenguer J. Non-alcoholic steatohepatitis: physiopathological, clinical and therapeutic implications. Rev Esp Enferm Dig 2004; 96 (9): 628-48.
- Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: an agenda for clinical research. Hepatology 2002; 35: 746-52.
- Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi G, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. Am J Med 1999; 107: 450-5.
- Fernández-Salazar LI, Álvarez-Gago T, Aller de la Fuente R, Orduña-Domingo A, Arranz-Santos T, de la Calle-Valverde F, et al. Iron overload and genotype 3 are associated with liver steatosis in chronic hepatitis C. Rev Esp Enferm Dig 2004; 96 (12): 818-28.
- Ferrannini E. Insulin resistance, iron, and the liver. Lancet 2000; 355; 2181-2.
- Moriand R, Mortaji AM, Loreal O, Paillard F, Brissot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. Lancet 1997; 349: 95-7.
- Facchini FS, Hua NW, Stoehs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 2002; 122: 931-9.
- Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lambrecht RW, et al. Nonalcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in nonalcoholic steatohepatitis. J Hepatol 1999; 31: 421-9.
- Chitturi S, Weltman M, Farrell GC, McDonald D, Kench J, Liddle C, et al. HFE mutations, hepatic iron, and fibrosis: ethnic-specific association of NASH with C282Y but with fibrotic severity. Hepatology 2002; 36: 142-9.
- George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, et al. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. Gastroenterology 1998; 114: 311-8.
- Bonkovsky HL, Lambrecht RW, Shan Y. Iron as a co-morbid factor in nonhemochromatotic liver disease. Alcohol 2003; 30: 137-44.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease. A feature of the metabolic syndrome. Diabetes 2001; 50: 1844-50.
- Pérez Carreras M, Castellano G, Pérez Arellano E, Morales P, Yela C, Rodríguez S, et al. Esteatohepatitis no alcohólica: metabolismo del hierro y prevalencia de las mutaciones del gen HFE. Gastroenterol Hepatol 2002; 25 (Supl. 1): 85A.
- Deguti MM, Sipahi AM, Gayotto LCC, Palacios SA, Bittencourt PL, Goldberg AC, et al. Lack of evidence for the pathogenic role of iron and HFE gene mutations in Brazilian patients with nonalcoholic steatohepatitis. Brazilian J Med Biol Res 2003; 36: 739-45.
- Fargion S, Mattioli M, Fracanzani AL, Sampietro M, Tavazzi D, Fociani P, et al. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for nonalcoholic steatohepatitis. Am J Gastroenterol 2001; 96: 2448-55.
- Ladero JM, Ropero P, Ortega L, Taxonera C, González FA, López-Alonso G, et al. HFE-gene mutations, hepatic iron, and histological severity in hepatitis C virus-induced chronic hepatitis. Rev Esp Enferm Dig 2003; 95; 833-6.
- Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, Matteoni CA, Boparai N, O'Neill RO, et al. Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 1999; 30: 847-50.
- Burganesi E, Manzini P, D'Antico S, Vanni E, Longo F, Leone N, et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. Hepatology 2004; 39: 179-87.
- Adams PC. Is there a threshold of hepatic iron concentration that leads to cirrhosis in C282Y hemochromatosis? Am J Gastroenterol 2001; 96: 567-9.
- Weinberg ED. Iron, infection and neoplasia. Clin Physiol Biochem 1986; 4: 50-60.

## Editorial

24. Bell H, Skinningsrud A, Raknerud N, Try K. Serum ferritin and transferrin saturation in patients with chronic alcoholic and non-alcoholic liver disease. *J Intern Med* 1994; 236: 315-22.
25. Girelli D, Corrocher R, Bisceglia L, Olivieri O, De Franceschi L, Zelante L, et al. Molecular basis for the recently described hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome: a mutation in the iron responsive element of ferritin L-subunit gene ("Verona mutation"). *Blood* 1995; 86: 4050-3.
26. Martin ME, Fargion S, Brissot P, Pellat B, Beaumont C. A point mutation in the bulge of the iron-responsive element of the L-ferritin gene in two families with the hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome. *Blood* 1998; 91: 319-23.
27. Ladero JM, Balas A, García-Sánchez F, Vicario JL, Díaz-Rubio M. Hyperferritinemia-cataract syndrome. Study of a new family in Spain. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 507-11.
28. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106-10.
29. Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle A-M, Sapet Y, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 1999; 117: 1155-63.
30. Turnbull AJ, Mitchison HC, Peaston RT, Lai LC, Bennett MK, Taylor R, et al. The prevalence of hereditary haemochromatosis in a diabetic population. *Q J Med* 1997; 90: 271-5.
31. Fernández-Real JM, Ricart-Engel W, Arroyo E, Balançá R, Casamitjana-Abella R, Cabrero D, et al. Serum ferritin as a component of the insulin resistance syndrome. *Diabetic Care* 1998; 21: 62-8.
32. Guillygomarc'h A, Mendler MH, Moirand R, Jouanolle AM, David V, Deugnier Y. HFE mutations in insulin resistance-associated hepatic iron overload (Letter). *J Hepatol* 2000; 33: 515-6.
33. Blumberg BS, Lustbader ED, Whitford PL. Changes in serum iron levels due to infection with hepatitis B virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 3222-4.
34. Arber N, Konikoff FM, Moshkowitz M, Baratz M, Hallak A, Santo M, et al. Increased serum iron and iron saturation without liver iron accumulation distinguish chronic hepatitis C from chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2656-9.
35. Bonkovsky HL, Banner BF, Rothman AL. Iron and chronic viral hepatitis. *Hepatology* 1997; 25: 759-68.
36. Di Bisceglie AM, Axiots CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1992; 102: 2108-13.
37. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 567-71.
38. Lefkowitch JH, Schiff ER, Davis GL, Perrillo RP, Lindsay K, Bodenheimer HC Jr, et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993; 104: 595-603.
39. Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM, Macdonald GA, Pandeya N, Shorthouse C, et al. Steatosis and chronic hepatitis C: analysis of fibrosis and stellate cell activation. *J Hepatol* 2001; 34: 314-20.
40. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Host- and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 29: 198-206.
41. Patton HM, Patel K, Behling C, Bylund D, Blatt LM, Vallee M. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004; 40: 484-90.
42. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Malé PJ, Mentha G, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol* 2000; 33: 106-15.
43. Westin J, Nordlinder H, Lagging M, Norkrans G, Wejstral R. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol* 2002; 37: 837-42.
44. Fujie H, Yotsuyanagi H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Takayama T, et al. Steatosis and intrahepatic hepatitis C virus in chronic hepatitis. *J Med Virol* 1999; 59: 141-5.
45. Barba G, Harper F, Harada T, Kohara M, Goulinet S, Matsuura Y, et al. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 1200-5.
46. Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, et al. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J Gen Virol* 1997; 78: 1527-31.
47. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilec A, Chretien Y, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J* 2002; 16: 185-94.
48. Pownard T, Ratziu V, McHutchison J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 75-85.
49. Baiocchi L, Tisone G, Palmieri G, Rapicetta M, Pisani F, Orlando G, et al. Hepatic steatosis: a specific sign of hepatitis C reinfection after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1998; 4: 441-7.
50. Partin JS, Partin JC, Schubert WK, Mc Adams JS. Liver ultrastructure in abetalipoproteinemia: evolution of micronodular cirrhosis. *Gastroenterology* 1974; 67: 107-18.
51. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2002; 35: 898-904.
52. Namikawa C, Shu-Ping Z, Wyselaar JR, Nozaki Y, Nemoto Y, Ono M, et al. Polymorphisms of microsomal triglyceride transfer protein gene and manganese superoxide dismutase gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2004; 40: 781-6.
53. Bernard S, Touzet S, Personne I, Lapras V, Bondon PV, Berthezené F, et al. Association between microsomal triglyceride transfer protein gene polymorphism and the biological features of liver steatosis in patients with type II diabetes. *Diabetologia* 2000; 43: 995-9.
54. Au WS, Kung HF, Lin MC. Regulation of microsomal triglyceride transfer protein gene by insulin in HepG2 cells. Roles of MAPK/erk and MAPK/p38. *Diabetes* 2003; 52: 1073-80.
55. Serfaty L, Andreani T, Giral P, Carbonell N, Chazouillères O, Poupon R. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 34: 428-34.

## Editorial

56. Petit JM, Benichou M, Duvillard L, Jooste V, Bour JB, Minello A, et al. Hepatitis C virus-associated hypobetalipoproteinemia is correlated with plasma viral load, steatosis, and liver fibrosis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1150-4.
57. Chittury S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 27-41.
58. James O, Day C. Non-alcoholic steatohepatitis: another disease of affluence. *Lancet* 1999; 353: 1634-6.
59. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis V. Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G193-9.
60. Pérez-Carreras M, Hoyo P, Martín MA, Rubio JC, Martín A, Castellano G, et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003; 38: 999-1007.
61. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87-91.
62. Sánchez-Alcázar JA, Schneider E, Martínez MA, Carmona P, Hernández-Muñoz I, Siles E, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  increases the steady-state reduction of cytochrome b of the mitochondrial respiratory chain in metabolically inhibited L929 cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 13353-61.
63. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1467-76.

## Hierro, virus C y esteatosis hepática

La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es una entidad clínico-patológica caracterizada por la presencia de lesiones histológicas de hepatopatía alcohólica en pacientes que no consumen alcohol en exceso (1). En la actualidad se considera que la EHNA forma parte de un amplio espectro de lesiones denominadas “enfermedad hepática no alcohólica por depósito de grasa” (NAFLD) que también incluye al hígado graso (esteatosis hepática), a la esteatosis con inflamación lobulillar, la degeneración hidrópica, la fibrosis sinusoidal y los cuerpos de Mallory (EHNA) y a la cirrosis hepática (2-4). La NAFLD es un nuevo problema que está surgiendo a nivel mundial, que supone el hallazgo histológico más frecuente en pacientes con alteraciones inexplicadas de la analítica hepática. En algunos países occidentales, la presencia de la NAFLD en la población general es de aproximadamente el 20% y la prevalencia de la EHNA oscila entre el 1,2 y el 4,8% (5). La EHNA se asocia a un gran número de trastornos metabólicos, quirúrgicos y tóxicos. Sin embargo, los principales factores de riesgo asociados con esta entidad son la obesidad, la diabetes, la diabetes mellitus del tipo 2, la dislipemia y otras circunstancias caracterizadas por existir resistencia a la insulina e hiperinsulinemia (6). En el presente número de la *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, Fernández-Salazar y cols. (7) publican un estudio de 53 pacientes con hepatitis crónica C (HCC) en el que encuentran esteatosis hepática en el 50% de estos pacientes y que los factores asociados independientemente con su presencia fueron la sobrecarga de hierro y la infección por el genotipo 3 del virus de la hepatitis C (VHC).

Se ha prestado gran interés al papel que juega el depósito de hierro en la patogenia de la NAFLD (8). Moriand y cols. (9) fueron los primeros en asociar la sobre-carga hepática de hierro con la resistencia a la insulina. En este sentido, Facchini y cols. mostraron que las sangrías pueden mejorar la sensibilidad a la insulina de los

## *Editorial*

pacientes con NAFLD (10). Además, en el 43 al 62% de estos pacientes, se encuentran tasas elevadas de ferritina sérica y algunos autores han encontrado que la prevalencia de la mutación C282Y del gen HFE está aumentada en estos enfermos (11-13). El que el hierro provoque estrés oxidativo fue otro argumento que hizo pensar en el papel patogénico del hierro en la EHNA. Este papel fue apoyado, además, por la asociación existente entre el hierro y la fibrosis hepática (13). No obstante, existe aún mucha controversia en torno a las relaciones existentes entre las tasas de ferritina sérica, los depósitos de hierro, las mutaciones del gen HFE y la EHNA. Como mencionábamos más arriba, en un gran número de pacientes con NAFLD se encuentran tasas elevadas de ferritina sérica (14,15). En nuestra experiencia, encontramos hiperferritinemia en el 37% de los pacientes con EHNA, mientras que la saturación de transferrina la hallamos elevada menos frecuentemente, sólo en el 3% de los pacientes (16). Aunque George y cols. (13) y Bonkovsky y cols. (11) encontraron elevación del hierro almacenado en un porcentaje significativo de pacientes con EHNA, otros investigadores no han podido comprobar este hallazgo (12,17,18). En nuestra serie de pacientes con EHNA, en el 16,4% de los casos encontramos siderosis hepática, 12,9% de grados 1 y 3,5 de grado 2. Por último, Fernández-Salazar y cols. (7) hallan siderosis de los grados 2 y 3 en el 19,2% de los pacientes esteatosis hepática, aunque todos ellos padecían una infección por el VHC y el 34,5% consumían alcohol. En el 11% de los pacientes con HCC se han encontrado altas cantidades de hierro en el hígado (19). Hay pocos estudios en los que se haya cuantificado el contenido hepático en hierro usando métodos bioquímicos, pero la mayoría de ellos no han podido demostrar que en los pacientes con NAFLD exista un exceso de hierro en el hígado una vez excluido el consumo alcohólico (20,21). La mayoría de los autores consideran que 20 g es el límite máximo aceptable de consumo diario de etanol. Además, estos estudios no confirman que exista una relación entre la concentración hepática de hierro y la fibrosis hepática. Esta falta de relación puede ser atribuida a que el exceso de hierro está muy por debajo del que se considera su umbral fibrogénico (22). En relación con las mutaciones del gen HFE, Chitturi y cols. (12) y George y cols. (13), ambos de Australia, y Bonkovsky y cols. (11), en los Estados Unidos, hallaron que la prevalencia de la mutación C282Y estaba aumentada en la población de pacientes con EHNA. Por el contrario, otros investigadores, tanto de los Estados Unidos como de otros países, no han podido confirmar estos hallazgos (17,18,21). En nuestra serie de pacientes con EHNA, la prevalencia de estas mutaciones tampoco estaba aumentada significativamente (C282Y +/-, 1,6%; H63D +/+, 5%; H63D +/-, 30%) (16).

En conclusión, aunque la tasa sérica de ferritina se encuentra frecuentemente elevada en los pacientes con NAFLD, este cambio, habitualmente, no es expresión de un aumento del hierro hepático. En estos pacientes, la hiperferritinemia en presencia de una saturación normal de la transferrina debe ser atribuida a la inflamación, las necrosis hepatocelulares, al abuso alcohólico, a la resistencia a la insulina, a factores dietéticos o a mutaciones del gen de la ferritina (23,24). En efecto, se ha descrito hiperferritinemia en pacientes con hiperferritinemia hereditaria sin sobrecarga de hierro (25-27), una entidad que cursa con cataratas por mutaciones puntuales en el elemento de respuesta al hierro del gen de la ferritina. Además, aumento de la ferritina sérica en presencia de una saturación normal de transferrina puede ocurrir en la denominada “sobrecarga hepática de hierro con resistencia a la insulina” (28). Los pacientes con este síndrome comparten uno o varios componentes del síndrome metabólico, tienen lesiones histológicas de NAFLD y ligera sobrecarga de hierro (9,29). Además, se ha descrito hiperferritinemia en la diabetes mellitus (30) y en sujetos con un síndrome

## Editorial

complejo atribuido a la resistencia a la insulina y caracterizado por la coincidencia de diferentes alteraciones metabólicas (31). Por ello, el aumento de la ferritina sérica que se encuentra en las pacientes con NAFLD puede ser simplemente expresión del trastorno metabólico originado por la resistencia a la insulina (21,32). En un gran número de pacientes con EHNA, la hiperferritinemia puede deberse a factores dietéticos. Fargion y cols. (18) demostraron que en la mayoría de los pacientes con NAFLD las tasas séricas de ferritina se normalizaban cuando a estos enfermos se les sometía a una dieta hipocalórica y pobre en grasa. Además de la resistencia a la insulina, en los pacientes con NAFLD, la hiperferritinemia puede ser secundaria a la lesión hepática, ya que la activación de citoquinas inflamatorias puede aumentar la transcripción del gen de la ferritina en los macrófagos (21). La posibilidad de este mecanismo es aún mayor cuando la NAFLD se asocia con HCC, como es el caso de los pacientes descritos por Fernández-Salazar y cols. (7). Blumberg y cols. (33) fueron los primeros en observar que existe una asociación entre el hierro y la hepatitis viral, pero son muchos los autores que han comprobado tasas elevadas de ferritina sérica en pacientes con HCC (34-36). La mayoría de esos pacientes no tenían aumentada la concentración hepática de hierro o, si estaba elevada, se trataba de ascensos ligeros e insuficientes para ser hepatotóxico (35).

El estudio de Fernández-Salazar y cols. (7) muestra también que la presencia de esteatosis hepática en la HCC se asocia con la infección por el VHC de genotipo 3. En la HCC, es frecuente el hallazgo de esteatosis hepática e hialina de Mallory, hasta el punto que han sido propuestos como marcadores histológicos de infección por el VHC (37-39). En estos pacientes, muchos factores, incluyendo el abuso alcohólico, la obesidad, la diabetes y los fármacos, pueden ser responsables de la acumulación de grasa en el hígado. Sin embargo, es posible encontrar esteatosis hepática en pacientes con HCC en quienes no existe ninguno de estos factores de riesgo (40). Por ello, se ha sugerido que la esteatosis hepática pudiera ser consecuencia de un efecto citopático directo del VHC (40). Sin embargo, debido a que la NAFLD y la infección por el VHC son frecuentes en los países occidentales, existen muchas posibilidades de que coincida la infiltración grasa y la HCC. En un estudio prospectivo que incluyó 98 pacientes consecutivos con HCC, nosotros hallamos que los factores de riesgo de EHNA [aumento del índice de masa corporal (IMC), de los triglicéridos y glucosa sérica, la frecuencia de diabetes mellitus y de síndrome metabólico] eran más frecuentes en presencia de lesiones de EHNA que en su ausencia. En este estudio que no incluyó pacientes bebedores, el IMC y el genotipo 3 del VHC, pero no el hierro ni la ferritina sérica, fueron los únicos factores asociados con la esteatosis hepática. Estos resultados coinciden con los publicados recientemente por Patton y cols. (41) y sugieren que en estos pacientes, además del sobrepeso, la infección viral, particularmente por el genotipo 3, puede jugar un papel importante en la patogenia de la esteatosis. De hecho, el grado de esteatosis se ha correlacionado con la replicación viral en pacientes infectados con el VHC de genotipo 3 (42,43) y con la cuantía de la expresión hepática de la proteína "core" de este virus (44). En este sentido, esta proteína puede provocar esteatosis en células transfecadas y en ratones transgénicos (45-47). Además, mientras que numerosos autores han observado una mejoría de la esteatosis tras la erradicación del VHC mediante tratamiento antiviral (41-43,48), también se ha comprobado que la reinfección del hígado trasplantado por el VHC se sigue de la aparición de la esteatosis hepática (49).

No se sabe bien cuál es el mecanismo por el que el VHC induce la esteatosis hepática. Hipotéticamente se ha mencionado que la "*proteína de transporte microsomal de triglicéridos*" (MTP) pudiera jugar un papel importante en la patogenia de la

## Editorial

EHNA. Esta proteína transporta triglicéridos a la apolipoproteína B, dando lugar a la formación de la lipoproteína de muy baja densidad y a la movilización de los lípidos de las células hepáticas. Un descenso de la actividad de la MTP se traduce en una menor secreción de lípidos desde el hígado y en esteatosis hepática. En la *abetalipoproteinemia congénita*, una enfermedad causada por la mutación del gen de la MTP, existe también marcada esteatosis (50). En este sentido, Charlton y cols. (51) halló que la síntesis de apolipoproteína B está descendida en pacientes con EHNA y Nami-kawa y cols. (52) y Bernard y cols. (53), respectivamente, demostraron mutaciones del gen de la MTP en pacientes con EHNA o diabetes del tipo 2. Es interesante señalar que la insulina disminuye la expresión del gen de la MTP en las células hepáticas (54). Igualmente, en los pacientes infectados por el VHC, en especial con genotipo 3, se ha observado que la esteatosis hepática se asocia con hipobetalipoproteinemia (55,56). Además, en modelos animales de esteatosis viral, se ha observado que la proteína “core” del VHC disminuye la actividad de la MTP, altera la secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad y provoca esteatosis hepática (47).

Aunque se puede considerar que la infección por el VHC de genotipo 3 es principalmente un factor etiológico de esteatosis, nuestro estudio mostró que únicamente el IMC, pero no la carga viral ni el genotipo 3 del VHC, se asocia independientemente con las lesiones de EHNA (degeneración hidrópica, cuerpos de Mallory, fibrosis pericelular) en pacientes con infección por el VHC. Aunque la patogenia de la EHNA es incierta, existen evidencias que sugieren que el desarrollo de la EHNA requiere una “doble agresión”. Mientras que el depósito de grasa en el hígado sería la “primera agresión”, la “segunda agresión” se relacionaría con el estrés oxidativo, la peroxidación de los lípidos, la producción de aldehído malónico, de 4-hidroxinonenal, de citoquinas proinflamatorias, la activación de la células estrelladas del hígado y el estímulo de la fibrogénesis (57,58). La disfunción mitocondrial juega un papel central en la inducción de este estrés (59). Nosotros hemos mostrado recientemente que la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial está disminuida en los pacientes con EHNA (60) y que esta disfunción se correlacionaba con el IMC. Esta correlación puede ser atribuida al hecho de que el tejido adiposo es la fuente principal del factor de necrosis tumoral alfa (61). Esta citoquina provoca alteraciones mitocondriales, reduce la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial (62) y ha sido implicada en la patogenia de la EHNA (63). Así, nuestro estudio sugiere que en los pacientes con HCC, el sobrepeso puede ser la “segunda agresión” necesaria para la progresión de la esteatosis a EHNA.

J. A. Solís Herruzo y P. Solís-Muñoz

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid