

ORIGINAL PAPERS

## Iron overload and genotype 3 are associated with liver steatosis in chronic hepatitis C

L. I. Fernández Salazar, T. Álvarez Gago<sup>1</sup>, R. Aller de la Fuente, A. Orduña Domingo<sup>2</sup>, T. Arranz Santos, F. de la Calle Valverde, L. del Olmo Martín, D. de Luis Román<sup>3</sup> and J. M. González Hernández

*Services of Digestive Diseases, <sup>1</sup>Pathology and <sup>2</sup>Microbiology. Hospital Clínico Universitario. Valladolid. <sup>3</sup>Service of Endocrinology. Hospital del Río Hortega. Valladolid. Spain*

---

*Fernández Salazar LI, Álvarez Gago T, Aller de la Fuente R, Orduña Domingo A, Arranz Santos T, de la Calle Valverde F, del Olmo Martín L, de Luis Román D, González Hernández JM. Iron overload and genotype 3 are associated with liver steatosis in chronic hepatitis C. Rev Esp Enferm Dig 2004; 96: 818-828.*

---

### ABSTRACT

**Objective:** to determine epidemiological, biochemical, virological, and histological factors associated with liver steatosis in chronic hepatitis C.

**Subjects:** the medical histories of 53 patients biopsied for chronic hepatitis C diagnosis between June 2000 and December 2002 were retrospectively studied. Epidemiological, biochemical, and virological data were collected. Patients with hepatitis B virus or human immunodeficiency virus coinfection were excluded. Liver biopsy specimens were reviewed and scored by one pathologist. Weight and height were measured at liver biopsy time. The statistic association between qualitative and quantitative variables and the presence of liver steatosis was studied.

**Results:** steatosis was identified in 52% of biopsies. There was no statistic association with age, sex, method of transmission, duration of infection, alcohol consumption, other diseases, body mass index, glucose, triglycerides, cholesterol, AST, ALT, GGT, alkaline phosphatase, bilirubin, or viral load. Liver steatosis was associated with serum iron, transferrin saturation, and ferritin. Genotype 3 was also associated with steatosis. Piecemeal necrosis, hepatocellular injury, Kupffer cell hyperplasia, liver iron, and portal fibrosis were also associated with steatosis. A multivariate analysis showed that genotype 3, Kupffer cell hyperplasia, and liver iron were associated with the presence of steatosis.

**Conclusions:** liver steatosis in chronic hepatitis C associates with genotype 3, Kupffer cell hyperplasia, and iron overload. Hepatic steatosis also associates with greater inflammation and fibrosis, and must be considered to contribute to disease progression.

**Key words:** Chronic hepatitis. Hepatitis C virus. Lipids. Metabolic syndrome. Iron overload. Prognosis.

*Recibido:* 03-12-03.  
*Aceptado:* 28-04-04.

*Correspondencia:* L. Fernández Salazar. C/ Gamazo, 4 - 3º B. 47004 Valladolid. Telf.: 983 212 398.

### INTRODUCTION

Hepatic steatosis is a frequent finding in hepatic biopsies of patients with chronic hepatitis C (CHC) (1). The role of hepatic steatosis in the natural history of CHC is unclear, but several authors link it to fibrosis (2-6).

Fat deposits in the liver can be due to factors that are independent of infection with hepatitis C virus (HCV), such as alcohol consumption, diabetes mellitus, hypertriglyceridemia, or overweight (4,5). They may also be a consequence of a cytopathic effect of HCV (6).

Our objective was to determine the frequency and severity of steatosis in CHC, and epidemiological, biochemical, virological, and histological factors associated with its presence. We attempted to determine whether the presence of steatosis is related to factors independent of HCV infection, and whether its presence implies a more severe liver disease.

### MATERIAL AND METHODS

*Patients.* The case histories of 53 patients biopsied for CHC between June 2000 and December 2002 were retrospectively studied. CHC diagnosis was established from ALT (alanine aminotransferase) elevation for over six months, the presence of HCV antibodies, and the detection of HCV RNA in the serum. Patients with hepatitis B virus (HBV) or human immunodeficiency virus (HIV) coinfection were excluded; the final number of patients was 50. Data on method of transmission, length of evolution (known for only 14 patients), associated diseases, and alcohol consumption were obtained. Patients were classified into three groups based on alcohol consumption during the previous 12 months: a) non-drinkers; b) less than 40 g of alcohol per day; and c) more than 40 g alcohol per day. Patients were weighted and measured for height during their admission for a liver biopsy.

**Biochemistry and hemogram.** The following were obtained: glucose, triglycerides, cholesterol, aspartate aminotransferase (AST), ALT, alkaline phosphatase (AP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), bilirubin, serum iron, transferrin, transferrin saturation index (TSI), ferritin, platelets.

**Histological study.** Hepatic biopsies were performed under ultrasonographic guidance using a modified Menghini aspiration-biopsy needle (Surecut®). Liver tissue was fixed in formol and then in paraffin. A single pathologist was in charge of the study of biopsy samples as shown in table I, using standard staining: hematoxylin-eosin, trichrome, and Perls. Portal/periportal activity and lobular activity gave the degree based on Scheuer's criteria (7).

**Virology.** HCV genotype and viral load were determined within the three months prior to the liver biopsy. As a screening test for serologic diagnosis, an enzymeimmunoanalysis test (EIA, Abbott Chicago, USA) was used, and then confirmed by immunoblot (Deciscan HCV, Sanofi Diagnostique Pasteur, Marnes la Coquette, France). PCR before reverse transcription (RT-PCR) (Amplicor HCV, Roche Branchburg, USA) was used for viral RNA detection. Genotyping was performed based on reverse hybridization of amplified fragments from RT-PCR (Inno-Lipa 2nd generation HCV, Innogenetics Zarijndecht, Belgium).

**Immunology.** The positivity of autoantibodies (antinuclear, anti-DNA, anti-mitochondrial, anti-smooth muscle, and anti-parietal cell) was studied. Titres equal to or greater than 1/40 were included in the study.

**Statistical analysis.** Demographic, histological, and laboratory parameters were compared to the presence or absence of steatosis and its severity. Categorical variables were expressed as percentages, and continual variables as averages plus standard deviation. The Chi squared tests by Pearson, Mann-Whitney, and Kruskal-Wallis were used. Finally, variables significantly associated with steatosis in the univariate analysis ( $p < 0.05$ ) were included in a multivariate model of logistic regression.

## RESULTS

Table II shows the general characteristics of patients.

### Steatosis presence and severity

Steatosis was observed in 52% (26/50) of liver biopsies. It was mild in 65.3% (17/26), moderate in 23% (6/26), and severe in 11.5% (3/26). Steatosis was macrovacuolar in 38.4% (10/26), microvacuolar in 3.8% (1/26), and mixed in 57.6% (15/26).

### Factors associated with the presence of steatosis

1. **Epidemiological** (Table III): neither steatosis nor its severity were associated with differences in age, sex, time of evolution, method of infection, alcohol consump-

**Table I. Values for the histological variables studied**

<i>Steatosis (0-3)</i>	
0	Absent
1	Affects less than 1/3 of the hepatocytes (mild)
2	Affects between 1/3 and 2/3 of the hepatocytes (moderate)
3	Affects more than 2/3 of the hepatocytes (severe)
<i>Portal inflammation (0-3)</i>	
0	Absent
1	Mild
2	Moderate
3	Severe
<i>Piecemeal necrosis (0-3)</i>	
0	Absent
1	Mild
2	Moderate
3	Severe
<i>Lobular necrosis (0-2)</i>	
0	Absent, mild
1	Moderate
2	Severe
<i>Confluent necrosis areas (0-1)</i>	
0	Absent
1	Present
<i>Hepatocellular damage (ballooning degeneration, acidophilia, pyknosis) (0-2)</i>	
0	Absent
1	Mild
2	Moderate or severe
<i>Kupffer cell hyperplasia (0-1)</i>	
0	Absent
1	Present
<i>Portal fibrosis (0-4)</i>	
0	No fibrosis
1	Portal space enlargement without septum formation
2	Portal space enlargement with septum formation
3	Numerous septum without cirrhosis
4	Cirrhosis
<i>Centrolobular fibrosis (centrolobular vein thickening with perisinusoidal fibrosis) (0-2)</i>	
0	Absent
1	Moderate
2	Severe
<i>Iron (0-3)</i>	
0	Absent
1	Iron present in up to 1/3 of the hepatocytes
2	Iron present in 1/3 to 2/3 of the hepatocytes
3	Iron present in 2/3 to all of the hepatocytes

tion, or associated diseases. Steatosis was not associated with a greater body mass index (BMI). In patients with a BMI above the average value for all patients, steatosis was not found more frequently. No relation between BMI and steatosis was found in patients infected with HCV genotype-3 or a HCV of a different genotype.

2. **Biochemical and immunological** (Table III): patients with hepatic steatosis were found to have elevated serum iron, TSI, and ferritin. A relationship between

**Table II. General patient characteristics**

Age	40.7 ± 9.3
Sex	41V/9M
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.5 ± 3.4
<i>Transmission method n (%)</i>	
Transfusion	8 (16%)
IVDA	14 (28%)
Unknown	28 (56%)
<i>Alcohol intake n (%)</i>	
Non-drinker	32 (64%)
Intake < 40 g/day	15 (30%)
Intake > 40 g/day	3 (6%)
<i>Hemogram and biochemistry</i>	
Platelets (/mm <sup>3</sup> )	189,723 ± 47,123
AST (U/L)	73.4 ± 46.3
ALT (U/L)	129.6 ± 80.4
Glucose (mg/dL)	94.1 ± 14.7
Cholesterol (mg/dL)	172.6 ± 33.3
Triglycerides (mg/dL)	88.3 ± 36.8
Iron (µg/dL)	132.0 ± 54.4
TSI (%)	55.0 ± 27.0
Ferritin (ng/mL)	252.8 ± 287.0
<i>Virology</i>	
Viral load (U/L)	460,410 ± 317,993
<i>Genotype n (%) (*)</i>	
1	31 (62%)
3	9 (18%)
4	1 (2%)
Coinfection with genotypes 1 and 4	5 (10%)
<i>Histological n (%)</i>	
<i>Inflammation degree</i>	
1	9 (18%)
2	28 (56%)
3	12 (24%)
4	1 (2%)
<i>Fibrosis state</i>	
0	1 (2%)
1	17 (34%)
2	18 (36%)
3	10 (20%)
4	4 (8%)

\*Four patients had infection with HCV that could not be genotyped

serum ferritin and steatosis severity was also found (Table IV).

3. *Virological* (Table III): genotype 3 was clearly associated with the presence of steatosis. Hepatic steatosis was found in 100% of hepatic biopsies from patients infected with HCV genotype-3, as compared to 35% of patients infected with genotype-1 viruses. Table IV shows the differences in steatosis for the various genotypes. Hepatic steatosis was not associated with viral load in the total number of patients or in genotype-3 or non-genotype-3 subgroups.

4. *Histological* (Table V): the presence of steatosis was associated with piecemeal necrosis and hence with higher activity levels, as well as with greater portal fibrosis, greater hepatocellular degeneration, presence of de-

tectable hepatic iron, and hyperplasia of Kupffer cells. Steatosis severity was related to iron deposits (Table IV).

Genotype, piecemeal necrosis, hepatocellular degeneration, Kupffer cell hyperplasia, hepatic iron, grade, and portal fibrosis were included within the multivariate analysis. Three variables were independently associated with hepatic steatosis: hepatic iron (OR 12.884; 95% CI: 2.197-75.536;  $p = 0.005$ ), genotype 3 (OR 43.48; 95% CI: 3.64-50;  $p = 0.003$ ), and Kupffer cell hyperplasia (OR 16.622; 95% CI: 1.570-176.03;  $p = 0.020$ ).

## DISCUSSION

The frequency and severity of liver steatosis in our patients is similar to that described in other studies (2,4,8-13). We did not find any of the associations between steatosis and coexistence of metabolic syndrome such as diabetes or hyperlipidemia, or overweight based on BMI that other authors have found (4,5,11,12,14-16). There are several possible explanations for this: a) our patient group is very homogenous in BMI; b) 65% of patients have only mild steatosis, and therefore low severity may prevent differences to be significant; c) considering fatty liver and non-alcoholic steatohepatitis (NASH), the percentage of patients in whom is found only insulin resistance but not diabetes, hyperlipemia, or obesity is not negligible (17,18); and d) in NASH, and possibly in steatosis associated with CHC (6), visceral obesity is more important than peripheral obesity (17,19), and BMI is not an adequate indicator of visceral obesity.

In our patients, hepatic iron is clearly associated with hepatic steatosis. Such association has not been found in other studies (4,6), but there is reliable evidence that hepatic steatosis, metabolic syndrome, and iron overload are interrelated (17,18,20-30). CHC steatosis has been related to factors involved in non-alcoholic fatty liver disease, such as leptin, TNF- $\alpha$  (tumour necrosis factor- $\alpha$ ), and CYP2E1 (cytochrome P450 2E1) (11,31-33) levels, and nonalcoholic steatosis is known to be associated with high iron indexes.

A possible cytopathic role of HCV itself, inducing steatosis, is supported by different studies. Although there are studies that do not show any relationship between steatosis and HCV genotype or viral load (8,34), a correlation between steatosis, serum and intrahepatic titres of viral RNA, and hepatic expression of HCV core protein in CHC has been demonstrated (6,11,12,35,36). Transgenic rats that express HCV proteins develop hepatic steatosis, mitochondrial disorders, and problems in very-low-density-lipoprotein (VLDL) secretion by hepatocytes (37-39). HCV entry into hepatocytes is mediated by the receptor of low-density lipoproteins, and interactions between HCV core proteins and apolipoproteins Apo1 and Apo2 have been shown (40,41). HCV infection, most frequently by genotype 3, also induces hypolipoproteinemia (42,43) and hypocholesterolemia (12,16,43,44), and sustained

**Table III. Analysis of demographic, laboratory and virological variables**

	No steatosis (24)	Steatosis (26)	p
Age	38.3 ± 11.1	42.8 ± 6.7	NS
Sex (% male)	75%	88%	NS
BMI	24.9 ± 3.5	26.0 ± 3.3	NS
Transmission method			
Transfusion	20.8% (5/24)	12% (3/26)	NS
IVDA	33.3% (8/24)	24% (6/26)	NS
Unknown	45.8% (11/24)	68% (17/26)	NS
Time of evolution	18.5 ± 8.4	21.0 ± 6.2	NS
Alcohol intake			NS
Non-drinker	62.5%	65.3%	
Alcohol < 40 g/day	29.1%	30.7%	
Alcohol > 40 g/day	8.3%	3.8%	
Haemogram and biochemistry			
Platelets (/mm <sup>3</sup> )	198,272 ± 53,222	182,200 ± 40,640	NS
Glucose (mg/dL)	95.2 ± 17.8	93.1 ± 11.3	NS
Triglycerides (mg/dL)	84.2 ± 35.8	92.1 ± 38.0	NS
Cholesterol (mg/dL)	172.8 ± 27.9	172.5 ± 38.2	NS
AST (U/ml)	61.9 ± 37.8	84.0 ± 51.4	NS
ALT (U/ml)	116.0 ± 75.9	142.1 ± 83.9	NS
GGT (U/ml)	54.7 ± 55.1	69.1 ± 49.9	NS
AP (U/ml)	179.5 ± 73.5	147.1 ± 56.8	NS
Iron (µg/dL)	114.0 ± 42.9	148.5 ± 59.3	0.03
TSI (%)	44.0 ± 21.6	64.4 ± 28.2	0.05
Ferritin (ng/mL)	131.7 ± 93.7	348.7 ± 349.1	0.01
Autoimmunity	8.3%	7.6%	NS
Virology			
Load (U/ml)	493,929 ± 329,638	426,892 ± 309,555	NS
Genotype 3	0%	37.5%	0.001

**Table IV. Relationship between steatosis intensity and serum ferritin (p = 0.006), genotype (p < 0.001) and hepatic iron (p = 0.031)**

	Steatosis 0	Steatosis 1	Steatosis 2	Steatosis 3
Serous ferritin	131.7 (± 93.7)	324.9 (± 165.6)	475.6 (± 672.3)	214.0 (± 12.4)
Genotypes (*)				
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 and 4 (5)	40% (2/5)	60% (3/5)	0% (0/5)	0% (0/5)
Hepatic iron				
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)

\*Four patients had infection with HCV that could not be genotyped.

response to antiviral treatment makes steatosis disappear and reverts hypocholesterolemia (13,43,44). The steatosis in our patients is more frequent and severe in those infected with genotype 3. The role of HCV, above all with genotype 3, in the genesis of hepatic steatosis in CHC therefore appears probable. Just as other authors have done, we found no association between viral load and presence of steatosis or its severity (4).

We have found no association between steatosis and age, sex, or method of transmission either. Other authors generally report this lack of association also (4-6), although age has been associated with steatosis (12). A greater alcohol intake was not found among steatosis patients, although it is true that the CHC patients we biopsied are patients with great possibilities of receiving treatment who are not habitual drinkers. The role that

**Table V. Analysis of histological variables**

	No steatosis (24)	Steatosis (26)	<i>p</i>
<i>Portal inflammation</i>			NS
1	9 (37.5%)	5 (19.2%)	
2,3	15 (62.5%)	21 (80.7%)	
<i>Piecemeal necrosis</i>			0.011
0	9 (37.5%)	2 (7.6%)	
1, 2, 3	15 (62.5%)	24 (92.3%)	
<i>Lobular necrosis</i>			NS
0	13 (54.1%)	10 (38.4%)	
1, 2	11 (45.8%)	16 (61.5%)	
<i>Joined necrosis areas</i>			NS
0	17 (73.9%)	17 (65.3%)	
1	6 (26.0%)	9 (34.6%)	
<i>Degree</i>			0.048
1	7 (29.1%)	2 (7.6%)	
2,3,4	17 (70.8%)	24 (92.3%)	
<i>Hepatocellular degeneration</i>			0.022
0	12 (50%)	5 (19.2%)	
1,2	12 (50%)	21 (80.7%)	
<i>Kupffer cell hyperplasia</i>			0.048
0	7 (29.1%)	2 (7.6%)	
1	17 (70.8%)	24 (92.3%)	
<i>Hepatic iron</i>			0.004
0	20 (83.3%)	11 (44%)	
1,2,3	4 (16.6%)	14 (56%)	
<i>Portal fibrosis</i>			0.022
0,1	12 (50%)	5 (19.2%)	
2,3,4	12 (50%)	21 (80.7%)	
<i>Centrolobular fibrosis</i>			NS
0	14 (58.3%)	11 (42.3%)	
1,2	10 (41.6%)	15 (57.6%)	

alcohol plays in relation to CHC steatosis has been studied by several authors (3-5,9). Alcohol intake does not appear to be an important factor in the development of steatosis in CHC (4, 5), although a relationship is found in drinkers (10). Alcohol and steatosis may have a synergic action in CHC fibrogenesis (3). Among serum biochemical factors, only iron, TSI, and ferritin are associated with steatosis in the univariate analysis in our patients. It is possible that if the group of patients with severe steatosis had been larger, a greater level of hepatic cytolysis would have been found (35).

Steatosis is a condition that makes the liver vulnerable to other aggressions (32), and can be considered an aggravating factor in CHC. In our patients we found Kupffer cell hyperplasia associated with steatosis; this may also be explained by disorders in the phagocytic system as described in hepatic steatosis (45). Just as other authors (6), we have found steatosis associated with greater piecemeal necrosis and greater hepatocellular degeneration, which is typical of both alcoholic and

nonalcoholic steatosis, although it does not associate with greater centrolobular fibrosis (5,46). Other authors have found an association between steatosis and perisinusoidal fibrosis (47). The relationship between steatosis, or its progression, and CHC fibrogenesis has been demonstrated (2-6,8,9), but we could only show an association between steatosis and portal fibrosis in the univariate analysis.

## REFERENCES

1. Goodman ZD, Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 70-81.
2. Castéra L, Hézode C, Roudot Thoraval F, Bastie A, Zafrani ES, Pawlotsky JM. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired biopsies. *Gut* 2003; 52: 288-92.
3. Sefarty L, Poujol-Robert A, Carbonell N, Chazouillieres O, Poupon RE, Poupon R. Effect of the interaction between steatosis and alcohol intake on liver fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1807-12.

4. Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Closton A, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29: 1215-9.
5. Monto A, Alonzo J, Watson JJ, Grunfeld C, Wright TL. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus, and alcohol. *Hepatology* 2002; 36: 729-36.
6. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001; 33: 1358-64.
7. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991; 13: 372-4.
8. Hwang SJ, Luo JC, Chu CW, Lai CR, Lu CL, Tsay SH, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C virus infection: prevalence and clinical correlation. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 190-5.
9. Ong JP, Younossi ZM, Speer C, Olano A, Gramlich T, Boparai N. Chronic hepatitis C and superimposed nonalcoholic fatty liver disease. *Liver* 2001; 21: 266-71.
10. Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L, Giostra E, Quadri R, Male PJ, et al. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 2001; 39: 119-24.
11. Romero-Gómez M, Castellano-Megias VM, Grande L, Irlés JA, Cruz M, Nogales MC, et al. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1135-41.
12. Poynard T, Ratziu V, Mc Huntchison 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.
13. Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype is cytopathic to hepatocytes: reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology* 2002; 36: 1266-72.
14. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, et al. Host- and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 29: 198-206.
15. Hickman IJ, Clouston AD, Macdonald GA, Purdie DM, Prins JB, Ash S, et al. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2002; 51: 89-94.
16. Hui JM, Kench J, Farrell GC, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, et al. Genotype-specific mechanisms for hepatic steatosis in chronic hepatitis C infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 873-81.
17. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Homes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373-9.
18. Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N, et al. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology* 2002; 35: 367-72.
19. 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.
20. Salonen JT, Tuomainen TP, Nyyssönen K, Lakka HM. Relation between iron stores and non-insulin dependent diabetes in men: case-control study. *BMJ* 1998; 317: 727.
21. Moirand R, Mortaji AM, Loréal O, Paillard F, Brissot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *Lancet* 1997; 349: 95-7.
22. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23.
23. Fergion 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.
24. Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 1999; 117: 1155-63.
25. Fernández-Real JM, Ricart-Engel W, Arroyo E, Balança R, Casamitjana-Abella R, Cabrero D, et al. Serum ferritin as a component of the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 1998; 21: 62-8.
26. Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lam-brecht RW, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 421-9.
27. George DK, Godwurm 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.
28. Hernández C, Genescà J, Esteban I, García L, Simó R. Relación entre los depósitos de hierro y la diabetes mellitus en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C: Estudio de casos y controles. *Med Clin (Barc)* 2000; 115: 23-4.
29. Petit JM, Bour JB, Galland-Jos C, Minello A, Verges B, Guiguet M, et al. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 35: 279-83.
30. García González N, Prieto Valtueña J. Virus C, hierro y azúcar. *Med Clin (Barc)* 2000; 115: 25-6.
31. Gochee PA, Jonsson JR, Clouston AD, Pandeya N, Purdie DM, Powell EE. Steatosis in chronic hepatitis C: association with increased messenger RNA expression of collagen I, tumor necrosis factor-alpha and cytochrome P450 2E1. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 386-92.
32. Day CP. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Pract Res Clinical Gastroenterol* 2002; 16: 663-78.
33. Giannini E, Botta F, Cataldi A, Tenconi GL, Ceppa P, Barecca T, et al. Leptin levels in nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2422-5.
34. Giannini E, Ceppa P, Botta F, Mastracci L, Romagnoli P, Comino I, et al. Leptin has no role in determining severity of steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3211-7.
35. 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.
36. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Male PJ, Mentha G, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol* 2000; 33: 106-15.
37. Lerat H, Honda M, Beard MR, Loesch K, Sun J, Yang Y, et al. Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and non-structural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2002; 122: 352-65.
38. Okuda M, Li K, Beard M, Showalter L, Schoille F, Lemon SM, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* 2002; 122: 366-75.
39. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilco 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: 85-94.
40. Angello V, Abel G, Elfahal M, Knight G, Zhang QX. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12766-71.
41. Shi ST, Polyak SJ, Tu H, Taylor DR, Gretch DR, Lai M. Hepatitis C virus NS5A colocalizes with the core protein on lipids droplets and interacts with apolipoproteins. *Virology* 2002; 292: 198-210.
42. 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.
43. Sefarly L, Andreani T, Giral P, Carbonell N, Chazouilleres O, Poupon R. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 34: 428-34.
44. Hofer H, Bankl HC, Wrba F, Steindl-Munda P, Peck-Radosavljevic M, Osterreicher C, et al. Hepatocellular fat accumulation and low serum cholesterol in patients infected with HCV-3 a. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2880-5.
45. Diehl AM. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis IV. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 282: 91-5.
46. Zaitoun AM, Al Mardini H, Awad S, et al. Quantitative assessment of fibrosis and steatosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol* 2001; 54: 461-5.
47. Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM, et al. Steatosis and chronic hepatitis C: analysis of fibrosis and stellate cell activation. *J Hepatol* 2001; 34: 314-20.

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

L. I. Fernández Salazar, T. Álvarez Gago<sup>1</sup>, R. Aller de la Fuente, A. Orduña Domingo<sup>2</sup>, T. Arranz Santos, F. de la Calle Valverde, L. del Olmo Martín, D. de Luis Román<sup>3</sup> y J. M. González Hernández

*Servicios de Aparato Digestivo, <sup>1</sup>Anatomía Patológica y <sup>2</sup>Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Valladolid.*

*<sup>3</sup>Servicio 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, tricrómico y Perls. El grado se obtuvo a partir de la actividad portal/periportal 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 Zarijndecht, 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**

<i>Esteatosis (0-3)</i>	
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)
<i>Inflamación portal (0-3)</i>	
0	Ausente
1	Leve
2	Moderada
3	Grave
<i>Necrosis piecemeal (0-3)</i>	
0	Ausente
1	Leve
2	Moderada
3	Grave
<i>Necrosis lobular (0-2)</i>	
0	Ausente, leve
1	Moderada
2	Grave
<i>Necrosis con puentes</i>	
0	Ausente
1	Presente
<i>Daño hepatocelular (degeneración balonizante, acidofilia, picnosis) (0-2)</i>	
0	Ausente
1	Leve
2	Moderada o grave
<i>Hiperplasia de las células de Kupffer (0-1)</i>	
0	Ausente
1	Presente
<i>Fibrosis portal (0-4)</i>	
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
<i>Fibrosis centrolobulillar (engrosamiento de la vena centrolobular con fibrosis perisinusal) (0-2)</i>	
0	Ausente
1	Moderado
2	Grave
<i>Hierro (0-3)</i>	
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

teatosis 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 <sup>2</sup> )	25,5 ± 3,4
<i>Mecanismo de contagio n (%)</i>	
Transfusión	8 (16%)
Ex ADVP	14 (28%)
Desconocido	28 (56%)
<i>Ingestión de alcohol n (%)</i>	
Abstemios	32 (64%)
Ingestión < 40 g/día	15 (30%)
Ingestión > 40 g/día	3 (6%)
<i>Hemograma y bioquímica</i>	
Plaquetas (/mm <sup>3</sup> )	189.723 ± 47.123
AST (U/L)	73,4 ± 46,3
ALT (U/L)	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
<i>Viroológicos</i>	
Carga viral (U/mL)	460.410 ± 317.993
<i>Genotipo n (%) (*)</i>	
1	31 (62%)
3	9 (18%)
4	1 (2%)
Coinfección por genotipos 1 y 4	5 (10%)
<i>Histológicos n (%)</i>	
<i>Grado inflamatorio</i>	
1	9 (18%)
2	28 (56%)
3	12 (24%)
4	1 (2%)
<i>Estadio de fibrosis</i>	
0	1 (2%)
1	17 (34%)
2	18 (36%)
3	10 (20%)
4	4 (8%)

\*Cuatro pacientes tenían infección por VHC no genotipable

3. *Viroológicos* (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 <sup>3</sup> )	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 (U/ml)	61,9 ± 37,8	84,0 ± 51,4	NS
ALT (U/ml)	116,0 ± 75,9	142,1 ± 83,9	NS
GGT (U/ml)	54,7 ± 55,1	69,1 ± 49,9	NS
FA (U/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 (U/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 &lt; 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

hipolipoproteinemia (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 piecemeal</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.