

Curso 2011/12
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS/33
I.S.B.N.: 978-84-15910-33-6

JAVIER LÓPEZ PRIETO

**Alteraciones histológicas en pacientes
infectados por el virus de la hepatitis C**

Directores

EMILIO GONZÁLEZ REIMERS
M.^a REMEDIOS ALEMÁN VALLS
FRANCISCO SANTOLARIA FERNÁNDEZ



SOPORTES AUDIOVISUALES E INFORMÁTICOS
Serie Tesis Doctorales

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que me han ayudado en la elaboración de esta tesis querría agradecerles profundamente toda la atención y afecto que han puesto. Sin ellas no habría sido posible llevarla a cabo. En especial querría agradecer su esfuerzo al Dr. González Reimers, mi maestro; a Pia, mi mujer de luz; a mis padres, mi apoyo incondicional; a la Dra. Alemán, siempre tan cercana; al Dr. Santolaria, siempre atento; a Ricardo, por sus valiosos consejos; y a Inma, por su gran ayuda. A todos, de todo corazón, gracias.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	11
1. VIRUS DE LA HEPATITIS C.	12
1.1. Características moleculares.	12
1.1.1. Estructura del VHC.	12
1.1.2. Replicación del VHC.	14
1.1.3. Heterogeneidad genética. Genotipos. Cuasiespecies.	14
1.2. Epidemiología del VHC.	15
1.2.1. Prevalencia.	16
1.2.2. Incidencia.	16
1.2.3. Vías de transmisión. Factores de riesgo.	17
1.3. Histopatología hepática.	20
1.4. Índices de actividad histológica.	21
1.5. Historia natural de la infección por el VHC.	25
1.6. Clínica de la infección por el VHC.	27
1.6.1. Clínica de la infección aguda.	27
1.6.2. Clínica de la infección crónica.	28
1.6.3. Manifestaciones extrahepáticas.	29
2. ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA.	30
2.1. Definición.	30
2.2. Patogenia.	30
2.3. Resistencia insulínica.	31
2.4. Primer impacto: progresión del hígado normal a esteatosis.	32
2.5. Segundo impacto: progresión a esteatohepatitis.	35
3. ESTEATOSIS HEPÁTICA EN LA INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VHC.	37
3.1. Papel del virus en la patogenia de la esteatosis hepática en la infección por el VHC.	37

3.2.	Papel de otros factores metabólicos en la patogenia de la esteatosis hepática en la infección crónica por el VHC.	39
3.3.	Papel de la esteatosis en el desarrollo de fibrosis hepática en la infección por VHC.	41
4.	ESTEATOSIS HEPÁTICA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VHC Y EL VIH.	42
4.1.	Efectos del VIH sobre la infección crónica por VHC.	42
4.2.	Esteatosis y fibrosis hepática en pacientes coinfectados por VHC y VIH.	44
5.	HEPATITIS C Y ALCOHOL.	45
5.1.	Efectos del alcohol sobre la infección crónica por el VHC.	46
6.	PAPEL DE LAS CITOCINAS INFLAMATORIAS EN LA HISTOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VHC.	48
6.1.	Definición de citocina.	48
6.2.	Citocinas implicadas en la inmunidad innata.	50
6.3.	Citocinas implicadas en la respuesta inmune adaptativa.	51
6.4.	Citocinas en la infección por el VHC.	53
6.5.	Factor de necrosis tumoral α .	54
6.6.	Interleuquina 6.	56
6.7.	Interleuquina 8.	57
6.8.	Interferón γ .	57
6.9.	Factor de crecimiento transformante β .	58
6.10.	TIMP-1.	59
7.	PAPEL DE LAS ADIPOQUINAS EN LA HISTOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC.	60
7.1.	Leptina.	61
7.2.	Adiponectina.	62
7.3.	Resistina.	
7.4.	Otras adipoquinas implicadas en la patogenia de la infección crónica por VHC.	64

8. EL TEJIDO ADIPOSO COMO FUENTE DE ADIPOQUINAS Y CITOCINAS PROINFLAMATORIAS.	66
9. HORMONAS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO GRASO Y SU POSIBLE CONTRIBUCIÓN A LA HISTOPATOLOGÍA HEPÁTICA EN VHC.	69
9.1. Insulina.	69
9.2. IGF-1 o somatomedina C.	69
9.3. Cortisol.	70
9.4. Vitamina D.	71
9.5. Levotiroxina.	72
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.	74
III. MATERIAL Y MÉTODOS.	77
1.1. Diseño del estudio.	78
1.2. Variables de los pacientes.	78
1.2.1. Variables clínico-demográficas.	78
1.2.2. Variables exploratorias.	79
1.2.3. Variables analíticas.	79
1.2.4. Variables obtenidas de pruebas de imagen.	80
1.2.5. Variables histológicas.	81
1.3. Grupos de pacientes.	82
1.4. Análisis estadístico.	83
IV. RESULTADOS DESCRIPTIVOS.	85
1.1. Características basales de los pacientes.	86
1.2. Citocinas y MDA.	86
1.3. Adipoquinas, insulina y TIMP-1.	89
1.4. Hormonas.	93
1.5. Compartimentos grasos e IMC.	95

1.6.	Compartimentos magros.	97
1.7.	Parámetros bioquímicos hepáticos.	98
1.8.	Histopatología hepática.	99
1.9.	Genotipo viral.	100

V. RESULTADOS ANALÍTICOS **101**

1.	Esteatosis hepática.	102
1.1.	Esteatosis hepática y citocinas proinflamatorias.	103
1.2.	Esteatosis hepática, adipoquinas, TIMP-1 e insulina.	106
1.3.	Esteatosis hepática y hormonas.	109
1.4.	Esteatosis hepática y compartimentos grasos.	112
1.5.	Esteatosis hepática y compartimentos de tejido magro.	117
1.6.	Esteatosis hepática y metabolismo lipídico.	120
1.7.	Esteatosis hepática y parámetros bioquímicos hepáticos.	121
1.8.	Esteatosis hepática y genotipo viral.	124
2.	Actividad histológica.	125
2.1.	Actividad histológica valorada según el índice Metavir.	125
2.1.1.	Actividad histológica clasificando Metavir según la mediana.	125
2.1.2.	Actividad histológica clasificando Metavir según su presencia o ausencia.	129
2.2.	Actividad histológica valorada según el índice de Knodell.	131
2.2.1.	Actividad histológica valorada según la necrosis periportal y en puentes clasificada según la mediana.	131
3.	Fibrosis hepática.	134
3.1.	Relaciones significativas de la fibrosis hepática con las variables analizadas.	134
3.2.	Diferencias significativas entre la fibrosis hepática y las variables analizadas.	135
3.3.	Fibrosis hepática valorada según el índice Metavir.	136
3.4.	Fibrosis hepática valorada según índice de Knodell.	139

4. Genotipo viral.	142
4.1. Genotipo 1.	142
4.2. Genotipo 3.	145
VI. DISCUSIÓN.	146
VII. CONCLUSIONES.	165
VIII. BIBLIOGRAFÍA.	167

I. INTRODUCCIÓN

I. VIRUS DE LA HEPATITIS C

Desde la identificación del VHC como la causa más frecuente de hepatitis postransfusional y hepatitis esporádica no-A no-B (Choo QL et al, 1989), se conocen importantes aspectos sobre la epidemiología, virología molecular y curso natural de la enfermedad. Sin embargo, múltiples aspectos de su patogenia, incluida la esteatosis hepática, continúan sin conocerse del todo.

1.1. Características moleculares

1.1.1. Estructura del VHC

El VHC es el único miembro del género Hepacivirus de la familia Flaviviridae. El genoma vírico está contenido en una nucleocápside rodeada por una cubierta que procede de las membranas del huésped y en ella se insertan las glicoproteínas codificadas por el virus.

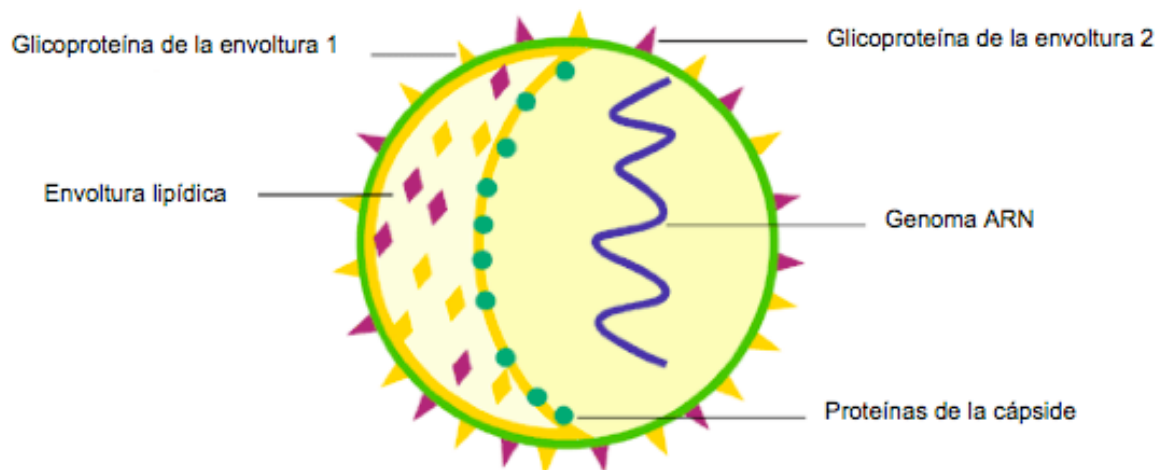


Figura 1. Estructura del VHC

Es un virus de replicación preferencial en el citoplasma de los hepatocitos pero no es directamente citopático y tiene gran variabilidad genómica (genotipos, subtipos y cuasiespecies).

El VHC está constituido por un genoma con una sola cadena de ARN de 9,6 kb con sentido positivo. La región codificante se denomina marco de lectura abierta. De esta parte del genoma se codifica un precursor de poliproteína de 3033 aminoácidos, que posteriormente es fragmentada durante y después de la traducción por proteasas celulares y víricas, dando lugar a al menos 10 proteínas con diversas funciones en la replicación y el ensamblaje de los virus. Las proteínas de la cubierta estructural y del core o nucleocápside se localizan en el extremo amino de la poliproteína (Core, E1, E2), mientras que las proteínas no estructurales se localizan en los dos tercios del extremo carboxilo (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).

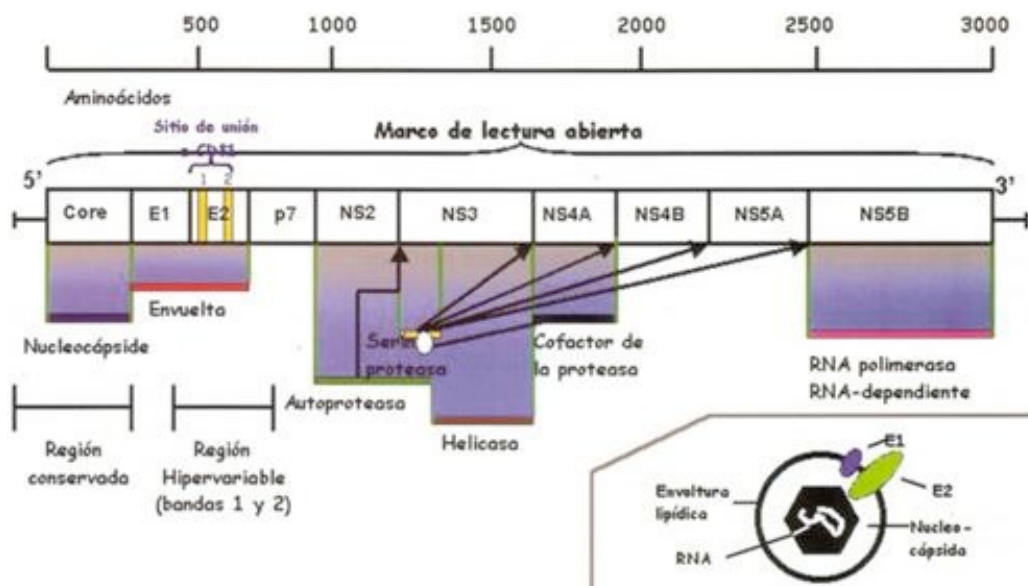


Figura 2. Representación de la poliproteína del VHC y proteínas codificadas por el genoma

Respecto a las proteínas estructurales, la proteína del core se trata de una proteína básica no glucosilada con capacidad de fijar ARN. Controla las vías de señalización celulares, la transcripción y la transformación a través de sus interacciones con las proteínas del huésped. También se ha implicado en la modulación de la respuesta inmune del huésped, y es capaz de inhibir la apoptosis mediada por Fas- y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) a través de la activación de la vía del factor nuclear $\kappa\beta$ (Saito K et al, 2006).

Las proteínas estructurales E1 y E2 contienen regiones hipervariables en sus extremos N-terminal, importantes en cuanto a variabilidad del virus y mecanismo de evasión del sistema inmune.

1.1.2. Replicación del VHC

Las proteínas no estructurales son necesarias para la replicación y el ensamblaje del virus. La cinética de la replicación del VHC se ha estudiado en el ser humano (Neumann AU et al, 1998). Se ha estimado que la replicación del VHC da lugar a la producción de más de 10^{12} copias víricas al día, y dado que la semivida de estas partículas es breve (aproximadamente 2,7 horas), cada día se renueva más del 99% de las partículas víricas. Esta renovación es más lenta (<1%-33% al día) en las células infectadas, y se ha estimado que la supervivencia de estos hepatocitos es de 1,7-70 días.

1.1.3. Heterogeneidad genética del VHC. Genotipo. Cuasiespecies

Uno de los problemas de la replicación viral es que se trata de un sistema de baja fiabilidad con la producción de errores aleatorios, lo que conlleva a la aparición de una población vírica heterogénea. Modelos animales han mostrado que la tasa de mutación espontánea es elevada, con una frecuencia de $10^2 - 10^3$ sustituciones por localización de nucleótidos y por año (Okamoto H et al, 1992). Muchas de estas sustituciones son mortales y no se reproducen; otras no causan modificaciones en los aminoácidos y son silentes; otras pueden causar un incremento en la susceptibilidad frente a la eliminación por el sistema inmune; y otras pueden inducir modificaciones en los aminoácidos y posiblemente alterar la biología del virus. Por esta razón, el VHC es muy heterogéneo, y muestra una homología de aproximadamente el 70% de los virus aislados conocidos.

La importante heterogeneidad genética del VHC explica la existencia de varios genotipos y subtipos. Se han identificado 6 genotipos del VHC con más de

100 subtipos. El genotipo 1 es el más frecuente (40 – 80%) y existe en todo el mundo. Los subtipos 1^a y 1b son los más frecuentes en EE.UU. El subtipo 1b es el más prevalente en Europa. El genotipo 2 también está muy distribuido, aunque es menos frecuente que el genotipo 1 (10 – 40%). El genotipo 3 es más frecuente en India, Pakistán y Australia. El tipo 4 se observa sobre todo en Oriente Medio y África. El tipo 5 en Suráfrica, y el tipo 6 en Hong-Kong (Simmonds P, 1995).

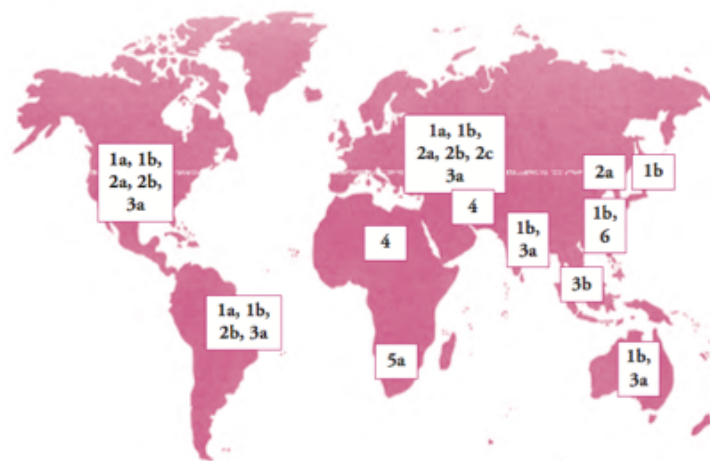


Figura 3: distribución mundial de los diferentes genotipos del VHC.

El genotipo del VHC en un mismo individuo puede estar constituido por una población heterogénea, lo que se ha denominado cuasiespecies (González-Peralta RP et al, 1996). La presencia de cuasiespecies comienza sobre las 8 semanas después de la infección, posiblemente en relación con el desarrollo de una respuesta inmune por parte del huésped. La diversidad global de cuasiespecies suele ser inferior al 5% en la mayor parte de los pacientes infectados por VHC, incluso tras varias décadas después de la infección.

1.2. Epidemiología del VHC

El VHC es una de las principales causas de cirrosis hepática y hepatocarcinoma, además de constituir la principal indicación de trasplante hepático (Burra P, 2009).

1.2.1. Prevalencia

La OMS estima una prevalencia del 2-3% de la población mundial (aproximadamente 170 a 240 millones de personas), con más de 5 millones de casos en Europa. La prevalencia varía mucho entre los continentes, como se muestra en la figura siguiente:

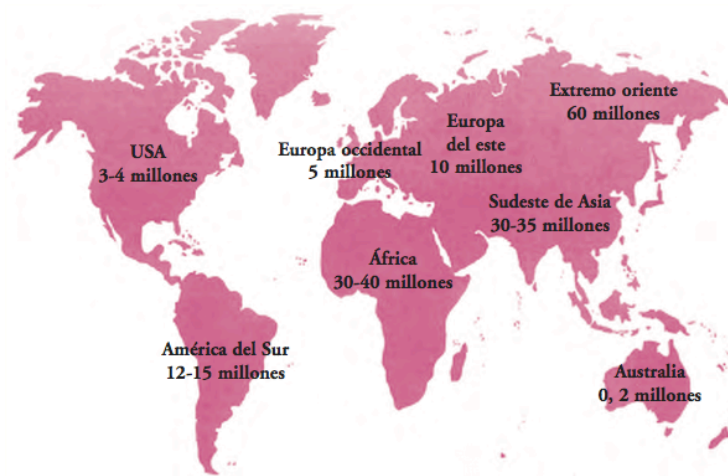


Figura 4: número de personas infectadas por el VHC en función del área geográfica.

En España se estima una prevalencia del 1 – 2,6%, lo que supondría entre 480.000 y 760.000 personas infectadas (Brugera M et al, 2006).

1.2.2. Incidencia

La incidencia de la infección por el VHC es difícil de calcular por varias razones: por un lado, la mayor parte de las infecciones agudas pasan inadvertidas y, por tanto, no se diagnostican; por otro, existe una gran dificultad para diferenciar entre infección aguda y crónica en un sujeto con anticuerpos positivos frente al VHC, ya que no se dispone de un marcador de infección reciente. Además, existe una infranotificación de los nuevos casos de infección por VHC en los servicios de vigilancia epidemiológica. Ejemplo de ello son los datos observados en Italia, donde la incidencia varía desde 1 hasta 14 casos/100.000

de acuerdo a la agencia nacional de vigilancia, el programa de donante de sangre italiano o la evaluación en la población general (Mele A et al, 2006). Se estima a nivel mundial una incidencia anual de 3 a 4 millones de nuevos casos.

A pesar de la dificultad para conocer la incidencia de nuevos casos de VHC se ha observado una disminución en los últimos años. Este descenso se ha interpretado en relación con la introducción de test de cribado para el VHC en bancos de sangre, la extensión entre drogadictos de los programas de intercambio de jeringuillas, los programas de mantenimiento con metadona.

Hay que destacar que aunque la incidencia de la infección por VHC está disminuyendo, la prevalencia de la enfermedad hepática continúa aumentando, lo que probablemente se deba al período relativamente largo (20 años o más) que transcurre entre la infección inicial y la manifestación clínica de la hepatopatía. Ello ha permitido predecir que el número de pacientes con hepatitis crónica debida al VHC se cuadruplicará entre 1990 y 2015, con el consiguiente aumento de la necesidad de trasplante hepático, coste sanitario y mortalidad (National Institutes of Health, 2002).

1.2.3. Factores de riesgo. Vías de transmisión

El VHC se puede transmitir a través de diversas vías:

- Drogadicción por vía parenteral: es la vía/factor de riesgo identificada con mayor frecuencia durante al menos dos decenios (Alter JM, 1997), en parte debido a la introducción de técnicas de screening en las transfusiones sanguíneas (Alter et al, 1990). Aunque en este grupo siguen siendo elevadas la incidencia y prevalencia de la infección por VHC, la incidencia ha disminuido desde 1989 en Europa y EE.UU., en probable relación con las campañas de salud pública y por el temor al VIH. Sin embargo, continúa siendo la vía predominante de transmisión en algunas áreas, sobre todo en

Europa oriental (Asselah T et al, 2003). Normalmente la infección por VHC se adquiere en los seis primeros meses de adicción (Garfein RS et al, 1998).

- Transmisión nosocomial: representa el 15-25% de los casos de hepatitis C aguda (Martínez-Bauer E et al, 2008). Este modo de contagio acontece habitualmente en forma de pequeña epidemia y, en la mayoría de los casos es debida a una falta en el cumplimiento de las normales estándar de higiene. Los factores de riesgo relacionados con mayor frecuencia son la cirugía y los procedimientos diagnósticos invasivos (Mele A et al, 2001).
- Vía percutánea en profesionales sanitarios: aunque esta población presenta un riesgo elevado de exposición, no se ha determinado si esta forma de exposición laboral da lugar a algo más que algún caso ocasional de infección (Polish et al, 1993). Aunque no todas las posibles vías de transmisión del VHC son obvias en los trabajadores sanitarios, posiblemente los pinchazos representan la mayor parte de los casos. Los resultados de estudios recientemente publicados muestran un riesgo de transmisión tras el pinchazo accidental del 0,3 – 2,8% (Kubitschke A et al, 2007).
- Transfusiones: la transfusión de sangre y hemoderivados era la vía más frecuente de contagio (Aach RD et al, 1991), especialmente en pacientes que precisaban transfusiones múltiples, como los hemofílicos (Makris M et al, 1990). La introducción de pruebas para la determinación de marcadores sustitutos de hepatitis no-A no-B (elevación de GPT, anti-HBc) redujo el riesgo de hepatitis postransfusional en casi las dos terceras partes. La determinación de anti-VHC en los donantes redujo el riesgo de contagio de hepatitis C hasta un nivel comparable al de la población control que no había recibido transfusiones (Aach RD et al, 1991).
- Hemodiálisis: la infección por VHC es frecuente en los pacientes tratados mediante diálisis (Lau JYN et al, 1993). La mayor parte de los casos se debe a transfusión sanguínea o a otros factores de riesgo relacionados con el

entorno nosocomial (uso de cebadores contaminados, reutilización de viales de uso múltiple).

- Trasplante: es controvertida la magnitud del riesgo que presentan los receptores de órganos procedentes de donantes con infección por VHC. La infección por VHC no es infrecuente en los donantes de cadáver (Pereira BJB et al, 1992). Sin embargo, la exclusión de todos los donantes con positividad para anti-VHC o para el ARN del VHC conllevaría un coste elevado. Una estrategia rentable ha sido el trasplante de órganos con positividad para VHC sólo a pacientes que ya sufren infección por el virus, pues se ha observado que los pacientes receptores muestran las mismas tasas de supervivencia del injerto y de mortalidad que los pacientes que reciben un órgano con negatividad para VHC (Marroquin CE et al, 2001).
- Transmisión sexual: no se conoce la incidencia de la transmisión sexual del VHC, pero probablemente sea bastante baja. El riesgo de transmisión sexual del VHC es extremadamente bajo en comparación con los riesgos de infección por VHB y VIH (Tedder RS et al, 1991). Recientemente se ha descrito un creciente número de hepatitis C aguda en varones homosexuales infectados por el VIH (Danta M et al, 2007). Los factores de riesgo asociados a este hecho propuestos son una mayor carga viral en sangre y semen de estos pacientes, determinadas prácticas sexuales en las que existe un riesgo mayor de daño de la mucosa, la presencia de otras ETS ulcerativas como el linfogranuloma venéreo o la sífilis, un mayor número de parejas sexuales.
- Transmisión vertical: no se conoce la incidencia de transmisión perinatal, pero se estima en torno al 4-5% en una madre con viremia. El 20% de los niños negativizan el ARN del VHC en los tres primeros años de vida (Mohan et al, 2010). El riesgo asciende al 14-19% en mujeres coinfectadas por VIH (Yeung LTF et al, 2001).

- Otras vías de transmisión: el VHC se ha aislado en LCR, lágrimas, ascitis, sudor y semen, lo que posibilitaría la transmisión por vía sexual, intrafamiliar, etc. Sin embargo, los estudios epidemiológicos no avalan la transmisión por estas vías más que en situaciones excepcionales.

1.3. Histopatología hepática del VHC

Las lesiones histológicas que presentan los pacientes infectados por el VHC abarcan un amplio espectro morfológico, que va desde cambios inflamatorios mínimos hasta cirrosis. La lesión histológica más frecuentemente descrita es la hepatitis crónica activa. Se caracteriza por la presencia de una reacción inflamatoria localizada en los espacios porta y en el área de parénquima periportal, asociada a necrosis más o menos extensa de los hepatocitos de la membrana limitada (necrosis piecemeal o necrosis parcelar periférica o hepatitis de interfase), a posible necrosis en puentes y a grados variables de fibrosis. La lesión hepática es difusa, pero puede variar de unas zonas a otras.

No existen alteraciones histopatológicas específicas de la infección por VHC, pero se han descrito una serie de lesiones características:

- En los espacios porta es muy característica la presencia de un denso infiltrado inflamatorio constituido por células mononucleares, sobre todo linfocitos, que adoptan la forma de folículos linfoides con o sin centro germinal, similares a los encontrados en los ganglios linfáticos. Con técnicas inmunohistoquímicas se ha observado que los folículos están constituidos por linfocitos B activados CD5⁺ en el centro germinal, células dendríticas rodeadas de linfocitos T CD4⁺ y linfocitos T CD8⁺ alrededor de los folículos. En los espacios porta también se han descrito lesiones y cambios displásicos del epitelio de los canalículos biliares.
- En el lobulillo hepático se observan grados variables de lesión hepatocelular, ya sea en forma de necrosis o focal o confluyente, que se

extiende entre espacios porta vecinos o entre éstos y venas centrolobulillares. Es frecuente que exista una degeneración eosinófila del citoplasma de los hepatocitos con formación de cuerpos acidófilos (cuerpos de Councilman), y pérdida completa del núcleo. También se pueden observar hepatocitos balonizados con citoplasma vacuolar microvesicular.

- En los sinusoides se puede observar un aumento de la celularidad, a expensa de un infiltrado linfocitario y células de Kupffer.
- La esteatosis macro y microvesicular es un hallazgo frecuente, raro en otras formas de enfermedad hepática crónica (hepatitis B, hepatitis autoinmune).
- La fibrosis es el resultado de la cicatrización de lesiones previas de necrosis confluyente, y por esta razón es frecuente su presencia en forma de puentes de fibrosis.

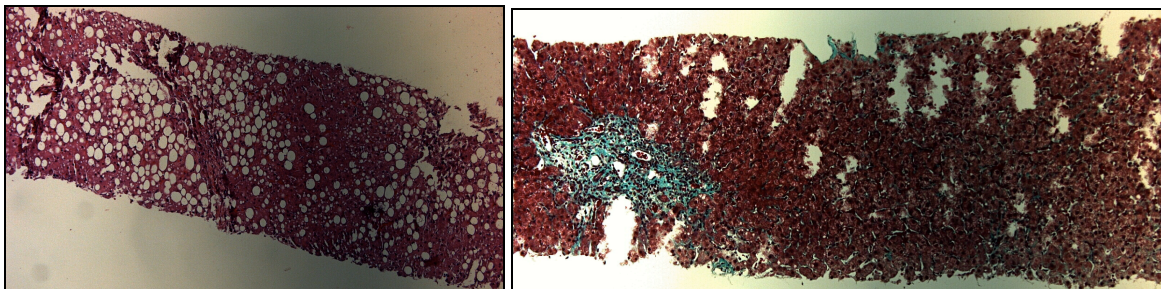


Figura 5: alteraciones histopatológicas en la infección por VHC. Obsérvese la esteatosis, la fibrosis y el infiltrado inflamatorio portal.

1.4. Índices de actividad histológica

La biopsia hepática ejerce un papel central en la evaluación diagnóstica, clínica, pronóstica y terapéutica de diversas entidades con afectación hepática. Entre sus funciones cuentan: 1) confirmar el diagnóstico clínico; 2) valorar la actividad necroinflamatoria y el grado de fibrosis; 3) evaluar posibles procesos

concomitantes; 4) analizar la respuesta terapéutica tras instauración de un tratamiento.

Desde las categorías iniciales en las que se clasificaban las lesiones hepáticas observadas en la biopsia (hepatitis crónica persistente, hepatitis crónica activa y hepatitis crónica lobular), referidas a los tipos de hepatitis que se describían entonces (autoinmune, hepatitis B, hepatitis no-A no-B), en las últimas dos décadas del siglo XX los sistemas de evaluación diagnóstica han cambiado con el descubrimiento de nuevas entidades nosológicas, entre las que figura la hepatitis C.

Los sistemas para gradar y estadificar incorporaron el punto de vista de que el proceso necroinflamatorio no solo evalúa la intensidad sino que también está relacionado con la progresión de la actividad de la enfermedad y es el parámetro que potencialmente responde a la terapia. El proceso inflamatorio ha sido definido como grado. Las lesiones de fibrosis y del remodelamiento del parénquima o vascular se refieren al estadio e indican la progresión de la enfermedad a largo plazo. El grado puede fluctuar con la actividad de la enfermedad o por la intervención terapéutica, mientras que el estadio es considerado relativamente constante.

El índice de actividad histológica (HAI), desarrollado por Knodell et al (1981), fue el primer sistema elaborado para analizar el grado y estadio de las lesiones observadas en la hepatitis crónica. Se ha empleado extensamente por tratarse de un sistema objetivo, semicuantitativo y reproducible. Los objetivos de su elaboración fueron principalmente dos: 1) proporcionar un sistema semicuantitativo que reemplazase o suplementase las categorías conocidas previas, y 2) permitir la evaluación de biopsias seriadas en pacientes asintomáticos para valorar la progresión de la enfermedad o la respuesta al tratamiento.

TABLE 1. HAI for Numerical Scoring of Liver Biopsy Specimens							
I. Periportal +/- Bridging Necrosis		II. Intralobular Degeneration* and Focal Necrosis		III. Portal Inflammation		IV. Fibrosis	
	Score		Score		Score		Score
A. None	0	A. None	0	A. No portal inflammation	0	A. No fibrosis	0
B. Mild piecemeal necrosis	1	B. Mild (acidophilic bodies, ballooning degeneration and/or scattered foci of hepatocellular necrosis in <1/3 of lobules or nodules)	1	B. Mild (sprinkling of inflammatory cells in <1/3 of portal tracts)	1	B. Fibrous portal expansion	1
C. Moderate piecemeal necrosis (involves less than 50% of the circumference of most portal tracts)	3	C. Moderate (involvement of 1/3-2/3 of lobules or nodules)	3	C. Moderate (increased inflammatory cells in 1/3-2/3 of portal tracts)	3	C. Bridging fibrosis (portal-portal or portal-central linkage)	3
D. Marked piecemeal necrosis (involves more than 50% of the circumference of most portal tracts)	4	D. Marked (involvement of >2/3 of lobules or nodules)	4	D. Marked (dense packing of inflammatory cells in >2/3 of portal tracts)	4	D. Cirrhosis†	4
E. Moderate piecemeal necrosis plus bridging necrosis‡	5						
F. Marked piecemeal necrosis plus bridging necrosis‡	6						
G. Multilobular necrosis§	10						

NOTE. HAI score is the combined scores for necrosis, inflammation, and fibrosis.
 *Degeneration—acidophil bodies, ballooning; focal necrosis-scattered foci of hepatocellular necrosis.
 †Loss of normal hepatic lobular architecture with fibrous septae separating and surrounding nodules.
 ‡Bridging is defined as ≥ 2 bridges in the liver biopsy specimen; no distinction is made between portal-portal and portal-central linkage.
 §Two or more contiguous lobules with panlobular necrosis.
 Modified and reprinted with permission.¹

Tabla 1: índice de actividad histológica (Knodell et al, 1981).

El HAI comprende 3 categorías referidas a las lesiones necroinflamatorias (que representarían la actividad de la enfermedad) y una cuarta para la extensión de la fibrosis y cambios estructurales (que representaría el estadio). La primera categoría, la necrosis periportal y en puentes, incluye siete niveles de severidad, mientras que las otras tres sólo incluyen cuatro. Este mayor peso a la primera categoría se debe a que es la variable más indicativa de progresión a fibrosis y la que más varía tras la instauración del tratamiento.

Un detalle interesante del HAI es el empleo de una escala de valores discontinua. En la primera variable se omiten los valores 2, 7, 8 y 9, y en las otras tres el valor 2, lo cual permite clasificar las lesiones en leves (0-1) o severas (3-4), referidas a las tres últimas categorías. Algunos autores han señalado que esta forma de clasificación incrementa la fiabilidad del índice.

La principal limitación del HAI es combinar en un mismo valor el grado de actividad de la enfermedad con el estadio (ejemplo: una biopsia con escasa

actividad inflamatoria puede presentar cirrosis y cuantificarse con el mismo valor absoluto que otra con mayor actividad y menor grado de fibrosis y, por tanto, con menor estadio).

Por esta limitación y por el conocimiento de nuevas entidades nosológicas desde la década de los 80 se han desarrollado otros sistemas de clasificación (HAI modificado por Ishak, Scheuer, Bedossa, Batts-Ludwig).

El Grupo Cooperativo de Estudio francés METAVIR propone un sistema comprensivo pero complejo para la evaluación histológica de la hepatitis C, producto de la puntuación final, que refleja la combinación de parámetros a evaluar para la necrosis focal, la inflamación portal, la necrosis en sacabocado, la necrosis en puentes y la fibrosis.

TABLA 5. Clasificación Sistema METAVIR	
A. Actividad histológica	F. Fibrosis
A0= No actividad	F0= No fibrosis
A1= Actividad leve	F1= Fibrosis portal sin septos
A2= Actividad moderada	F2= Fibrosis portal con algún septo
A3= Actividad grave	F3= Numerosos septos de fibrosis sin cirrosis
A- Necrosis piecemeal + necrosis lobular	F4= Cirrosis

Tabla 2: índice METAVIR (Bedossa P et al, 1995).

Algunos estudios han mostrado al comparar la correlación entre los diversos índices que existe mayor concordancia con el grado de fibrosis que con el de actividad.

1.5. Historia natural de la infección por el VHC

La historia natural de la infección aguda y crónica del VHC no se conoce del todo, dados los problemas que plantea la enfermedad al estudio de la misma, como son la larga evolución y el carácter asintomático durante muchos años.

Respecto a la historia natural de la infección aguda por el VHC, Micallef et al (2006) encontraron a partir de estudios longitudinales realizados sobre hepatitis postransfusionales y esporádicas que la proporción de sujetos que normalizan las transaminasas y negativizan a los 6 meses el ARN viral después del episodio agudo oscila entre en 0 y el 80%, con una media del 26%. Los factores predictivos de buena evolución que encontraron fueron el sexo femenino y la existencia de clínica de hepatitis aguda. No observaron como factores predictivos la edad ni el genotipo.

Hay que destacar que un porcentaje estimado en torno al 15-20% de los pacientes es capaz de eliminar el virus y por tanto curarse de la infección (Shakil et al, 1995). Se ha relacionado con este hecho la intensidad y respuesta inmune del huésped en esta fase aguda (Missale et al, 1996; Large et al, 1999).

Respecto a la historia natural de la infección crónica interesa conocer cuántos pacientes fallecen como consecuencia de la misma y qué proporción desarrolla cirrosis hepática y hepatocarcinoma. Wiese M et al (2005) en un estudio prospectivo de 25 años de duración, encontraron que la infección crónica por VHC no conlleva globalmente mayor mortalidad global respecto a grupos similares no infectados (5% a los 20 años), pero sí determina un mayor riesgo de fallecer por enfermedad hepática.

Respecto al desarrollo de cirrosis hepática se admite globalmente que la proporción de sujetos infectados que la desarrollan está en torno al 15% a los 20 años (Wiese et al, 2005), aunque existen importantes diferencias individuales importantes. Así, se sabe que existe un 33% de individuos que desarrollan cirrosis

en menos de 20 años (actividad fibrótica rápida), mientras que otro 31% necesitarán 50 años o más en desarrollar la misma lesión (actividad fibrótica lenta). Por esta enorme variabilidad se han tratado de encontrar las variables que permitan establecer el momento evolutivo de la enfermedad y la progresión de la misma a partir de ese momento. Pasamos a continuación a describir brevemente las variables implicadas en el desarrollo más rápido de cirrosis:

- Lesiones histológicas: a pesar de los múltiples problemas metodológicos que pueda suponer la biopsia (la fibrosis y la actividad necroinflamatoria encontradas no puede ser representativa de la fibrosis hepática total), y a pesar de que la progresión de la fibrosis no progresa de forma lineal en todos los enfermos, se acepta que el grado de fibrosis inicial es un factor determinante de la progresión de la enfermedad (Poynard et al, 1997). En lo que se refiere al grado de actividad necroinflamatoria los estudios muestran que su valor es escaso como factor predictivo de cirrosis (Niederau et al, 1998; Yi Q et al, 2004).
- Factores dependiente del huésped: se ha señalado como factores predictivos de la fibrosis la edad (a menor edad en la adquisición de la infección mejor evolución de la fibrosis), el sexo (en los hombres la enfermedad progresa más rápidamente, lo que ha sugerido un papel protector de los estrógenos en el desarrollo de fibrosis), el alcohol (Feld JJ et al, 2006), la coinfección por el VIH (efecto más evidente en pacientes con $< 200 \text{ CD4}^+/\text{mm}^3$; Vallet-Pichard A et al, 2006), la inmunosupresión farmacológica y la presencia de esteatosis hepática (Feld JJ et al, 2006), entre otros factores.
- Factores virales: no se ha encontrado relación clara entre el desarrollo de la fibrosis con el genotipo viral ni con la carga viral. En los estudios que han mostrado alguna influencia de la carga viral parece que el factor más determinante es la inmunosupresión que determina secundariamente una elevada carga viral que la actividad viral en sí misma.

Por último, interesa señalar que el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma en los enfermos con cirrosis hepática por VHC se sitúa entre el 1-4% anual (). Este riesgo parece condicionado a la persistencia de la supresión de la actividad viral, ya que su supresión determina una significativa menor incidencia de hepatocarcinoma.

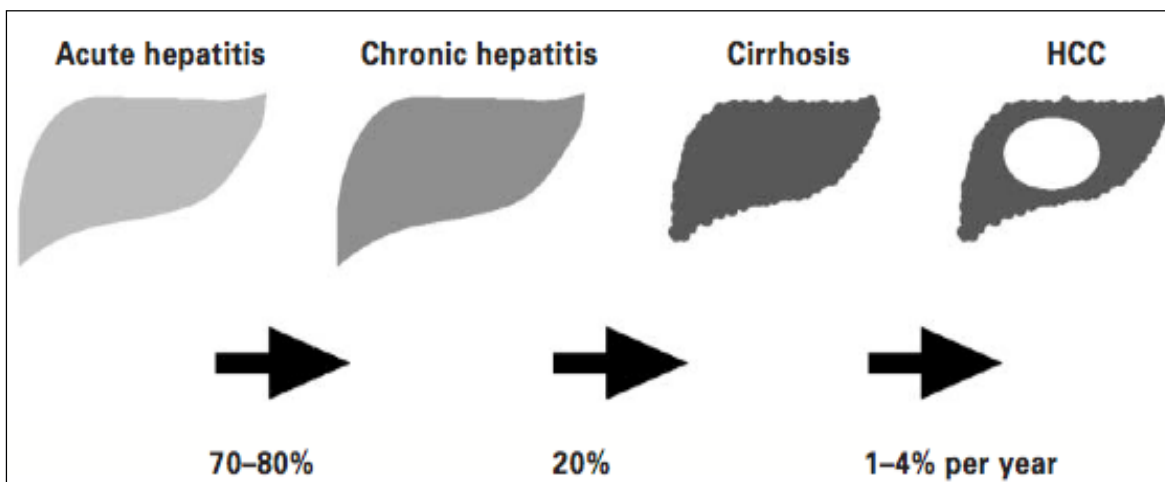


Figura 6: evolución de la infección crónica por el VHC.

1.6. Clínica de la infección por el VHC

1.6.1. Infección aguda

La hepatitis aguda ocurre después de un período de incubación variable de 15 a 160 días (media de 7 semanas). Sólo el 20-30% de los casos que contrae una hepatitis aguda por el VHC presentarán clínica.

Los síntomas prodrómicos son sistémicos y variables. La aparición de la ictericia puede estar precedida por 1 ó 2 semanas de anorexia, náuseas, vómitos, astenia, artralgias, cefalea, faringitis. Puede aparecer coluria e hipocolia de uno a cinco días antes de la aparición de la ictericia. Puede haber dolor en hipocondrio derecho por hepatomegalia.

La fase de recuperación se prolonga de 2 a 12 semanas. La eliminación espontánea se produce en el 23-44% de los casos (Gerlach JT et al, 2003), y suele ocurrir dentro de las 12 semanas después del diagnóstico. Se ha observado que los pacientes que desarrollan enfermedad sintomática y los que presentan una disminución rápida de la carga viral presentan mayor probabilidad de curación (Gerlach JT et al, 2003; Hofer H et al, 2003).

1.6.2. Infección crónica

La evolución de la hepatitis crónica por VHC es variable (Massard J et al, 2006). Cursa con escasas manifestaciones clínicas, pero las transaminasas se mantienen elevadas durante largo tiempo, presentando en algunos pacientes valores fluctuantes e incluso períodos de normalidad.

La evolución a cirrosis hepática suele ocurrir al cabo de aproximadamente 20 años. Los enfermos con cirrosis establecida pueden permanecer asintomáticos durante mucho tiempo, pero también es posible que presenten episodios de descompensación por el desarrollo de hipertensión portal. También es posible que estos pacientes desarrollen como complicación la aparición de un hepatocarcinoma, cuyo riesgo desde el diagnóstico alcanza hasta el 5% anual (Di Bisceglie et al, 1995).

No se conoce bien por qué la evolución a largo plazo es más desfavorable en unos pacientes o en otros, pero se han identificado diversos factores que se asocian a una progresión más rápida de la fibrosis hepática, como el consumo de alcohol (incluso en cantidades no excesivas), la adquisición de la infección a una edad relativamente avanzada, la coinfección por el VIH, el exceso de peso y la resistencia a la insulina. No se ha demostrado que el genotipo del virus o la carga viral condicionen la evolución de la hepatitis crónica por VHC.

1.6.3. Manifestaciones extrahepáticas

Los pacientes con infección crónica por el VHC pueden desarrollar patologías extrahepáticas, posiblemente secundarias a una hiperestimulación del sistema inmune. Las manifestaciones extrahepáticas son fundamentalmente tres: la crioglobulinemia mixta esencial, poco frecuente, con manifestaciones clínicas renales y de vasculitis; la glomerulonefritis membranoproliferativa, generalmente con escasa repercusión clínica; y la porfiria cutánea tarda. Sin embargo, se ha descrito la asociación con otras muchas enfermedades con un componente autoinmune (vasculitis leucocitoclástica, artritis reumatoide, liquen plano, sialoadenitis linfocitaria focal, enfermedades tiroideas), tumoral (linfoma no Hodgkin) y metabólico (diabetes mellitus).

Respecto a la diabetes mellitus tipo 2, la prevalencia es más elevada en pacientes cirróticos por VHC que en cirrosis debidas a otras etiologías (Zein NN et al, 2000). Se cree debido a la insulín-resistencia generada por la infección crónica por el VHC (García-Compean D et al, 2009).

II. ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA

A continuación pasamos a describir brevemente el estado de conocimiento actual acerca de la esteatosis hepática, haciendo especial en los mecanismos conocidos que influyen en su génesis y desarrollo, con el objetivo de explicar posteriormente su presencia en la infección crónica por el VHC. Luego explicaremos brevemente cómo pueden influenciar la presencia del alcoholismo y la coinfección por el VIH en los pacientes afectados de hepatitis C, con especial énfasis en la esteatosis.

2.1. Definición

La hepatopatía grasa no alcohólica primaria (HGNA) abarca un espectro clínico-patológico que oscila entre el hígado graso y la cirrosis. Se considera actualmente como la manifestación hepática del síndrome metabólico.

La prevalencia se sitúa en torno al 16-24% de la población adulta en países desarrollados.

2.2. Patogenia

La patogenia de la HGNA no se conoce del todo (Angulo P et al, 2002). Se considera multifactorial e intervendría en ella factores genéticos de predisposición sobre los que incidirían factores epigenéticos de progresión.

Se han postulado varias teorías. La primera de ellas, la teoría del doble impacto (Day CP et al, 1998) postula el desarrollo de una secuencia donde ocurren dos hechos esenciales: “el primer impacto” se debería al acúmulo de grasa en el hígado (esteatosis) favorecido por un contexto de resistencia insulínica periférica; “el segundo impacto” resultaría de un estrés oxidativo crónico sobre los hepatocitos esteatóxicos que conduciría a lesión hepatocelular y fibrosis (esteatohepatitis). La teoría del “multiimpacto” (Diehl AM et al) contempla un

“tercer impacto”, representado por el desarrollo de cirrosis; y un “cuarto impacto”, representado por el desarrollo de hepatocarcinoma.

Pasamos a describir brevemente los dos estadios de desarrollo, desde el hígado normal al hígado graso y desde el hígado graso a la esteatohepatitis, explicando brevemente antes el concepto de resistencia insulínica.

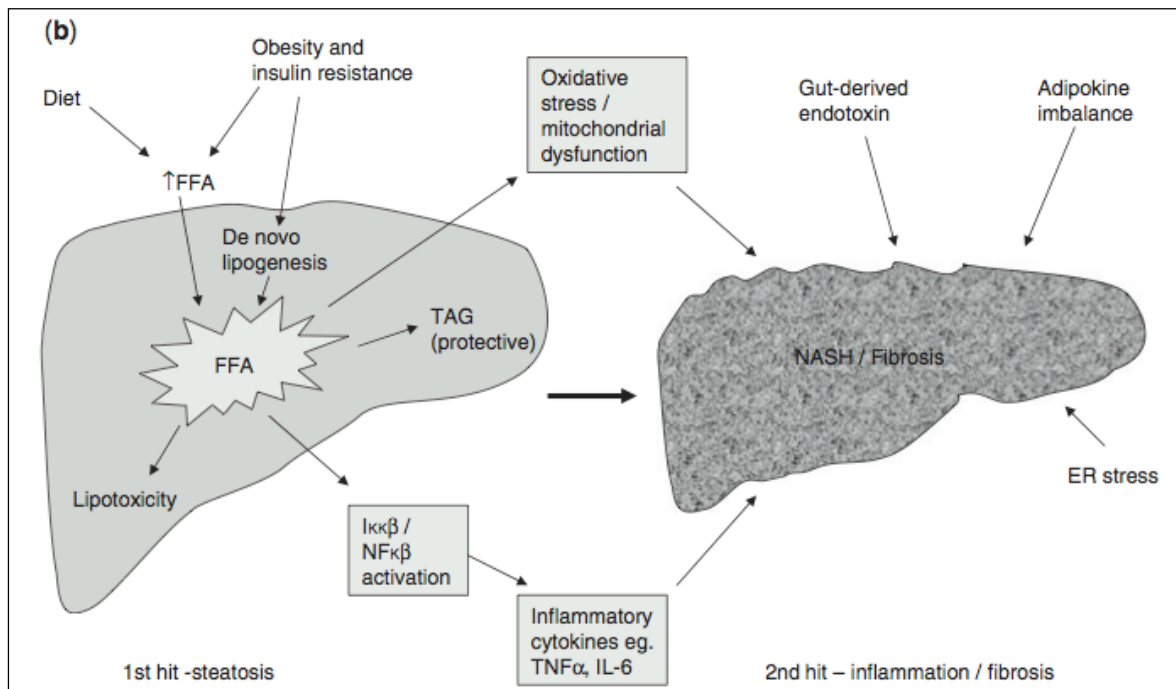


Figura 7: Hipótesis de los 2 impactos. Destacar que los ácidos grasos libres por sí solos puede ser suficiente para inducir lesiones hepáticas. FFA: free fatty acids; TAG: tryglicerides; ER: endoplasmic reticulum.

2.3. Resistencia insulínica

La resistencia insulínica (RI) se define como una alteración metabólica en la cual se precisan niveles más elevados de insulina de lo normal para lograr las respuestas metabólicas esperadas, o cuando niveles normales de insulina no logran dichas respuestas (Kamran Q et al, 2007). La RI se manifiesta como una disminución en la eficiencia de la insulina en inhibir la producción hepática de

glucosa y en estimular la captación de glucosa por el músculo esquelético y el tejido adiposo.

Las funciones biológicas de la insulina dependen de la interacción con su receptor, que consiste en un tetrámero formado por dos subunidades α extracelulares y dos subunidades β transmembrana con actividad tirosín-cinasa. Cuando la insulina activa el receptor causa la fosforilación de los residuos de tirosina de proteínas del sustrato del receptor (IRS-1 y IRS-2), lo que inicia una cascada que termina con la traslocación de transportador 4 específico de glucosa a la membrana celular (GLUT-4). GLUT-4 facilita la entrada de glucosa por gradiente en miocitos y adipocitos.

La RI se puede generar en la unión de la insulina a su receptor, en los IRS o en la GLUT-4. La RI se puede clasificar como central (hepática) o periférica (muscular y adiposa) dependiendo de cuál es el primer lugar afectado. El primer caso se manifiesta por una incontrolada producción de glucosa con alteración de la síntesis de glucógeno y ausencia de inhibición de la gluconeogénesis. El segundo caso se manifiesta por una alteración de la captación de glucosa en músculo y tejido adiposo. Se ha observado que primero ocurre la RI periférica y posteriormente la central.

2.4. Primer impacto: progresión del hígado normal a la esteatosis

Los mecanismos que conducen a la acumulación de grasa (en forma de triglicéridos) en el interior de los hepatocitos no están bien establecidos. Se han descrito múltiples polimorfismos y mutaciones genéticas (Sreekumar R et al, 2003, encontraron al menos 23 genes implicados) como terreno genético sobre el que actuarían factores epigenéticos que incidirían sobre el tejido adiposo y el metabolismo lipídico, como son la dieta y el ejercicio físico.

Como mecanismo fisiopatológico central en el desarrollo de esteatosis hepática se encuentra la resistencia insulínica (RI) en el adipocito (Pagano G et al, 2003). La RI en el tejido adiposo se ha interpretado como un mecanismo de defensa del tejido adiposo esteatósico presente en la obesidad y el sobrepeso. El adipocito cargado de grasa busca librarse de ella y uno de los mecanismos que emplearía sería volviéndose resistente a la acción de la insulina. La pérdida de señalización insulínica en el adipocito induce lipólisis, con formación de ácidos grasos libres a partir de los triglicéridos almacenados, que posteriormente viajarán al hígado y se acumularán en el interior del hepatocito. Se ha observado que cuanto más intensa es la RI más severa es la hepatopatía (Marchesini G et al, 1999).

La RI en el adipocito parece deberse a varias alteraciones que interfieren en diferentes vías postactivación del receptor de la insulina: aumento de adipoquinas y citocinas proinflamatorias derivadas del tejido adiposo (TNF- α , leptina, IL-6); disminución de otras moléculas que favorecen la sensibilidad a la insulina (adiponectina), ácidos grasos libres (Hotamisligil GS et al, 1993).

También se ha observado que la cantidad de grasa visceral, no la total, supone un factor predictivo de esteatosis, entre otras razones porque el flujo venoso mesentérico desemboca directamente en el hígado, con el consiguiente aumento de aporte de ácidos grasos libres y mediadores proinflamatorios derivados del tejido adiposo en esta localización. Para establecer la contribución relativa en la acumulación lipídica en la esteatosis hepática, Donnelly et al (2005) emplearon un método isotópico con el que observaron que un 60% del flujo de ácidos grasos libres al hígado procedía del tejido adiposo, un 26% de la lipogénesis de novo y un 15% de la dieta. Esto contrasta con la lipogénesis de novo en individuos sanos, que contribuye en menos del 5% al acúmulo de triglicéridos en el hígado.

El principal efecto del exceso de aporte de ácidos grasos libres al hígado es el incremento del sustrato para la lipogénesis. La insulina, elevada en el

contexto de la resistencia, por un lado estimula la lipogénesis (mediada por una regulación al alza del SREBP-1), y por otro bloquea la β -oxidación e inhibe la lipólisis (Stefan N et al, 2008). Los triglicéridos recién formados, por otra parte, tienden a acumularse por una menor exportación en forma de VLDL al disminuir la producción de su proteína precursora, la ApoB100.

El hepatocito esteatósico, al igual que el adipocito, también “se defiende” del exceso de grasa poniendo en marcha diversos mecanismos. El principal mecanismo es la β -oxidación mitocondrial de ácidos grasos que, si bien comentamos anteriormente se encontraría disminuida por el efecto de la insulina, se encuentra aumentada por el exceso de aporte de ácidos grasos.

Otro mecanismo que se activa cuando la β -oxidación mitocondrial se satura es la β -oxidación peroxisomal, en cuya activación juegan un papel fundamental los PPAR α ¹, estimulados a partir de la acilCoA derivada del exceso de β -oxidación de ácidos grasos en la mitocondria. La consecuencia del exceso de oxidación de ácidos grasos a nivel mitocondrial y peroxisomal es la generación de ERO (Browning JD et al, 2004).

Como consecuencia del exceso de ERO se activan en el hepatocito diversos sistemas antioxidantes, como la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y las catalasas. Por otro lado se sintetizan en la mitocondria proteínas desacoplantes² de la cadena respiratoria (estimulada dicha síntesis por la activación de los PPAR α), que si bien conducen a una menor producción de ERO también se genera menos ATP, con el consiguiente aumento de vulnerabilidad del hepatocito frente a situaciones de aumento de demanda energética o mayor agresión oxidativa.

¹ PPAR α constituye una familia de receptor nuclear para hormonas que está implicada en la regulación de la oxidación y el transporte de ácidos grasos.

² Las UCPs se trata de una serie de proteínas que desacoplan la cadena respiratoria de lfosforilación oxidativa, disipando energía en forma de calor sin que se produzca ATP. No se conoce de todo el mecanismo (Rodríguez VM et al, 2002).

2.5. Segundo impacto: progresión de esteatosis a esteatohepatitis

En el desarrollo de las lesiones de la esteatohepatitis (inflamación, necrosis hepatocelular y fibrosis) juega un papel central el estrés oxidativo derivado del desequilibrio entre procesos prooxidantes y antioxidantes (Browning JD et al, 2004).

Como se ha señalado anteriormente el exceso de oxidación mitocondrial y peroxisomal de ácidos grasos conduce a la formación de ERO (peróxido de hidrógeno) y RLO (anión peroxilo, anión superóxido, radical hidroxiperoxilo). El exceso de RLO/ERO puede inducir lesión hepatocelular, inflamación y/o fibrosis al menos por tres mecanismos (Moreno-Sánchez D et al, 2005):

- Peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos y las lipoproteínas de las membranas. Este proceso conduce a un aumento de la permeabilidad de la membrana (que favorecerá la balonización y posterior necrosis) y a la generación de subproductos metabólicos tóxicos, entre los que se encuentran los aldehídos reactivos malondialdehído e hidroxinonenal. Entre las alteraciones que pueden producir ambos se cuentan: 1) generación de entrecruzamiento y aglomeración de proteínas, lo que conduce a la formación de hialina de Mallory; 2) activación de las células estrelladas, que promueven la síntesis de colágeno; 3) interferencia en la síntesis de enzimas de la cadena respiratoria, con lo que la proporción de reducción incompleta del oxígeno aumenta y la de los RLO/ERO aumenta; 4) el hidroxinonenal ejerce quimiotactismo sobre los neutrófilos, lo que induce más inflamación tisular y generación de RLO/ERO en el proceso de fagocitosis.
- Liberación de citocinas proinflamatorias a través de la inducción del factor de transcripción NF- κ B (TNF- α , IL-8, TGF- β). Las citocinas liberadas contribuyen a la apoptosis hepatocitaria, a la fibrosis por estimulación de

las células estrelladas y a la formación de hialina de Mallory por aglomeración de proteínas.

- Expresión del ligando Fas, que a través de su interacción con el receptor de membrana Fas expresado en condiciones basales, conduce a la apoptosis del hepatocito.

Toda la actividad oxidativa descrita se trata de contrarrestar con procesos antioxidantes (vitamina E, superóxido dismutasa, catalasas), lo que termina conduciendo a la depleción de estos sistemas protectores.

III. ESTEATOSIS HEPÁTICA EN LA INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

La patogenia de la esteatosis hepática por el virus de hepatitis C no se conoce del todo. Sin embargo, se ha sugerido un efecto directo a raíz de varias observaciones: 1) la asociación frecuente con el genotipo 3, que sugiere que determinadas secuencias virales están implicadas en la acumulación de lípidos en el interior del hepatocito; 2) la correlación entre el grado de esteatosis y los niveles de replicaciones viral; 3) la asociación entre la respuesta favorable al tratamiento y la desaparición de la esteatosis en el caso del genotipo 3 (Bondini S et al, 2006).

Otros estudios sugieren que la esteatosis en la infección crónica por el virus de la hepatitis C se deben además a otras alteraciones metabólicas que pueden ser concomitantes, tales como la obesidad y la resistencia insulínica (Gutiérrez Grobe Y et al, 2011).

La presencia de esteatosis en la infección crónica por el virus de hepatitis C tiene consecuencias clínicas importantes, pues se ha observado una disminución de la respuesta al tratamiento cuanto mayor resulta el grado de esteatosis hepática (Asselah T et al, 2006).

3.1. Papel del virus en la patogenia de la esteatosis hepática en la infección por el VHC

La frecuencia de esteatosis hepática en la infección por el virus de hepatitis C oscila según los estudios entre el 40-80%, dependiendo en parte de las características de la población estudiada que puedan ejercer un papel, tales como el consumo de alcohol, la presencia de obesidad, diabetes y otros factores de riesgo para el desarrollo de esteatosis hepática (Asshelah T et al, 2006). Sin embargo, cuando se excluyen todos los factores de riesgo conocidos para el desarrollo de esteatosis hepática se ha observado que la prevalencia de

esteatosis es del 40%, lo que sugiere que el virus de hepatitis C puede causar esteatosis por sí mismo.

Asimismo se ha observado que la esteatosis hepática es más frecuente y severa en pacientes infectados por el genotipo 3 (Rubbia-Brandt L et al, 2000). Referido también al genotipo 3, la severidad de la esteatosis se correlaciona con los niveles de ARN viral (Adinolfi LE et al, 2001). Asimismo, la esteatosis se reduce significativamente o desaparece cuando el tratamiento es efectivo, especialmente en el caso del genotipo 3 (Kumar D et al, 2002).

Los mecanismos por los cuales los triglicéridos se acumulan en el hepatocito en la infección por el virus C no se conocen del todo. Se ha propuesto que el virus podría interferir con el metabolismo lipídico en tres niveles y producir lo que se ha denominado “esteatosis viral”:

1. Alteración de la secreción: históricamente este mecanismo es el primero que se propuso. Se ha observado que los niveles de apolipoproteína B (ApoB) y colesterol están reducidos en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C, lo que sugiere que el VHC podría interferir en el ensamblaje o secreción de la VLDL. La desaparición de la esteatosis tras el tratamiento coincide con la normalización de los niveles de ApoB y colesterol en estos pacientes (Rubbia-Brandt L et al, 2000). Uno de los mecanismos propuestos, basado en ratones transgénicos, se trata de la inhibición de la proteína transportadora microsomal de triglicéridos (MTP) por parte de la proteína del core del VHC (Perlemuter G et al, 2002), necesaria para el ensamblaje de las VLDL.
2. Aumento de la síntesis de ácidos grasos: se ha observado que el VHC incrementa la vía de señalización de la proteína de unión del elemento regulador de esterol (SBREPB-1c), la cual está implicada en la regulación al alza de enzimas implicadas en la lipogénesis *de novo* (Su AI et al, 2002). Por otra parte, la proteína del core también se puede unir al dominio

nuclear de receptor α de retinoide (RxR α), un regulador transcripcional implicado en varias funciones entre las que se cuentan la lipogénesis (Tsutsumi T et al, 2002).

3. Disminución de la degradación de ácidos grasos: el VHC reduce la expresión del receptor α activado de proliferador de peroxisomas (PPAR α), un receptor nuclear implicado en la regulación de varios genes implicados de la degradación de ácidos grasos en la β -oxidación mitocondrial (Yamaguchi A et al, 2005). El mRNA del PPAR α se encuentra significativamente más reducido en pacientes portadores de genotipo 3 en comparación con portadores del genotipo 1 (De Gottardi A et al, 2006).

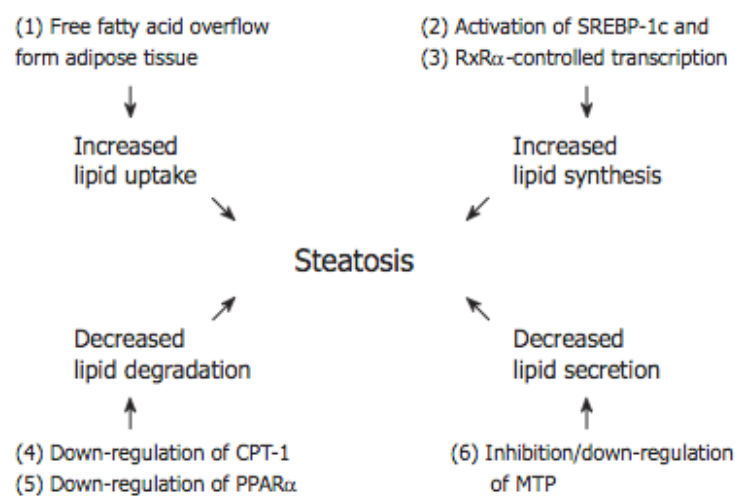


Figura 8: mecanismos implicados en el desarrollo de esteatosis hepática en la infección crónica por el VHC.

3.2. Papel de otros factores metabólicos en la patogenia de la esteatosis hepática en la infección crónica por el VHC

En la esteatosis hepática inducida por el VHC puede coexistir con otros factores de riesgo para su desarrollo. Dos factores de riesgo independientes son el índice de masa corporal (no sólo en pacientes obesos con un IMC > 30, sino

incluso en aquéllos con sobrepeso y, por tanto, con un IMC entre 25 y 30) y la grasa visceral (Adinolfi LE et al, 2001).

El mecanismo fisiopatológico más probable del componente de “esteatosis metabólica” en la infección por el VHC es la resistencia insulínica asociada al sobrepeso (Fartoux L et al, 2005). Como se ha indicado previamente, en el contexto de la resistencia insulínica los ácidos grasos liberados del tejido adiposo como consecuencia de la activación de la lipoproteína lipasa son captados por el hígado. Por otro lado, el estado de hiperinsulinemia e hiperglucemia estimula la síntesis de enzimas implicadas en la lipogénesis de novo a la vez que inhibe la β -oxidación mitocondrial (Browning JD et al, 2004).

A pesar de que la resistencia insulínica podría tratarse de un factor de riesgo independiente para el desarrollo de esteatosis, existe evidencia que apoya un papel del VHC sobre la contribución a la resistencia insulínica. Allison ME et al (1994), encontraron una mayor prevalencia de diabetes tipo 2 en pacientes cirróticos con VHC en comparación con pacientes con cirrosis de otro origen. Datos experimentales sugieren que el VHC podría interferir en la vía de señalización insulínica postreceptor, en parte mediado por el efecto de citocinas proinflamatorias, como el TNF- α y TGF- β , más elevadas en estos pacientes (Shintani Y et al, 2004); por lesión de las células β pancreáticas por las proteínas del core y por la regulación a la baja de los PPAR α , como ocurre más frecuentemente en la presencia del genotipo 3 (Del Campo JA et al, 2009). Sin embargo, se ha observado que la resistencia insulínica ocurre con todos los genotipos del VHC (Muzzi A et al, 2005).

Otro factor metabólico que se ha encontrado asociado al desarrollo de esteatosis hepática en la infección por el VHC es la presencia de hiperhomocisteinemia inducida por estrés del retículo endoplásmico (Adinolfi LE et al, 2005), que causa una regulación al alza de la vía SREBP con el consiguiente aumento de la lipogénesis de novo, y un aumento del estrés oxidativo por inhibir la expresión de varias enzimas antioxidantes. Este hecho ha sido apoyado en un

estudio que mostró que el polimorfismo TT de la metilentetrahidrofolato reductasa supuso una mayor prevalencia y un mayor grado de esteatosis en pacientes con VHC en comparación con el polimorfismo CT (Adinolfi LE et al, 2005).

Otro factor que podría contribuir al desarrollo de esteatosis hepática en la infección por el VHC se trata de las adipoquinas liberadas desde el tejido adiposo, que se analizarán más extensamente en el apartado correspondiente.

3.3. Papel de la esteatosis en el desarrollo de fibrosis hepática en la infección por VHC

Existen múltiples estudios que apoyan el hecho de que la esteatosis favorece la progresión de la fibrosis en la infección crónica por el VHC (Rubbia-Brandt L et al, 2000; Hourigan LF et al, 1999; Leandro G et al, 2006). Sin embargo, los datos no son definitivos, e incluso existe un estudio que no encuentra ninguna asociación (Asselah T et al, 2003).

Los mecanismos por los cuales la esteatosis favorece la progresión de la fibrosis no están elucidados. Los datos disponibles apoyan el papel del estrés oxidativo, citocinas proinflamatorias, resistencia insulínica (Patton HM et al, 2004), mayor sensibilidad a la apoptosis mediada por la esteatosis y determinadas adipoquinas (ejemplo: leptina, dado que las células estrelladas presentan receptores para esta molécula).

IV. ESTEATOSIS HEPÁTICA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VHC Y EL VIH

La prevalencia mundial de la infección por VIH está en torno a 33 millones de personas. Se estima que aproximadamente el 20-30% de estos pacientes están coinfectados por el VHC (Sherman K et al, 2002). La vía de transmisión más frecuente es la intravenosa y, por tanto, la población más frecuentemente coinfectada es la de adictos a drogas por vía parenteral (DiMartino V et al, 2001).

Las muertes relacionadas con la hepatopatía crónica por el VHC en pacientes con VIH constituye la tercera causa (Lewden C et al, 2005).

Se acepta ampliamente que la infección por VIH acelera el curso de la enfermedad hepática por el VHC. Se estima que en torno al 90% de los pacientes coinfectados desarrolla hepatitis crónica frente a los mono infectados, que en un 30% de los casos se curarán espontáneamente (Singal A, Anand BS, 2009).

4.1. Efectos del VIH sobre la infección crónica por VHC

La infección por VIH se ha asociado a viremia persistente del VHC, elevada carga viral y reducción de la respuesta al tratamiento con interferón.

Entre los mecanismos que se han propuesto cuentan (Tuyama AC et al, 2010; Sajadi MM et al, 2010):

- Descenso de la respuesta de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ al VHC.
- Alteración de la respuesta de citocinas liberadas. Es posible que determinadas proteínas del VIH (tat, gp120) o el mismo VIH medie la liberación de determinadas citocinas a través de su unión o internalización en hepatocitos, células estrelladas y células de Kupffer.

- Escape del VHC de la respuesta inmunológica debido a disfunción de las células T.
- Factores genéticos: los pacientes supresores virales naturales (carga viral del VIH < 400 copias) muestran tasas más elevadas de aclaramiento del VHC cuando se comparan con controles coinfectados.

También se ha descrito la acelerada progresión desde la fibrosis a la cirrosis en pacientes coinfectados. Los mecanismos no se conocen bien, pero se han propuesto varias hipótesis (Khakoo S et al, 2004; Lan I et al, 2008):

- Alteración en el balance CD8⁺/CD4⁺ con predominio de la primera respuesta, que es mediada por citocinas como IL-4, IL-5 y TGF-β, que promueven el depósito de colágeno por fibroblastos.
- Disminución de la secreción de INF-γ (citocina antifibrogénica) por parte de los linfocitos CD8⁺ a medida que disminuyen los linfocitos CD4⁺.
- Aumento de la expresión de TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand), que induce apoptosis hepatocitaria. Su expresión aumenta en contextos inflamatorios y en su regulación al alza interviene TGF-α. El ciclo continuo de apoptosis y regeneración en linfocitos y hepatocitos puede promover la fibrogénesis.

Por último hay que considerar el papel que pueden ejercer determinados factores concomitantes en estos pacientes, como la presencia de hepatotoxicidad inducida por el TARGA, el uso de otras drogas y alcohol y la presencia de esteatosis hepática.

4.2. Esteatosis y fibrosis hepática en pacientes coinfectados por VHC y VIH

Respecto a la esteatosis hepática en coinfectados los resultados son dispares en cuanto a que la coinfección suponga un aumento del riesgo de desarrollarla. Se estima que la proporción de esteatosis en coinfectados oscila en torno al 30% (Ristig M et al, 2005).

Con el objetivo de analizar los factores de riesgo de desarrollo de esteatosis en pacientes coinfectados, Verdelho M et al (2010) realizaron un metaanálisis que incluía 12 estudios con 1989 pacientes coinfectados con una prevalencia de esteatosis del 50% (oscilaba entre 23-72%). Encontraron como factores de riesgo un elevado IMC (OR 1.13, $p < 0.001$), diabetes mellitus (OR 2.32, $p = 0.003$), actividad necroinflamatoria (OR 1.72, $p = 0.016$) y fibrosis (OR 1.67, $p = 0.003$). No encontraron asociación con otros factores metabólicos (dislipemia, síndrome metabólico), factores relacionados con el VHC (carga viral, genotipo –el hecho de no encontrarse asociación con el genotipo 3 se pensó debido a la baja proporción de pacientes infectados) o VIH (carga viral, recuento de linfocitos CD4⁺, terapia antirretroviral).

En un estudio retrospectivo llevado a cabo en España (Pascual Pareja et al, 2008) sobre una muestra de 163 pacientes coinfectados, se encontró que las variables que guardaron una relación significativa con la presencia de esteatosis fueron el peso corporal (> 76 kg), el alcohol, la fibrosis avanzada, la exposición a estavudina y la ausencia de exposición a lopinavir/ritonavir. Las variables que mostraron relación con la esteatosis moderada-intensa (> 30% de hepatocitos según el sistema de Scheuer) fueron el alcohol, el genotipo 3, la carga viral de VHC y la fibrosis avanzada. La prevalencia de DM-2 en esta serie fue del 3%.

V. HEPATITIS C Y ALCOHOL

El VHC y el alcohol representan las dos causas más frecuentes de hepatopatía en el mundo occidental. Tomadas de forma conjunta, la prevalencia de ambos problemas se ha estimado en torno al 1-5% de la población occidental (Alter MJ et al, 1999).

La hepatopatía alcohólica es la manifestación orgánica más importante del consumo crónico de alcohol. Del 90 al 100% de los pacientes desarrolla esteatosis hepática en el curso de días; de un 20 a un 35% desarrolla esteatohepatitis en el curso de semanas, y un 8-20% desarrolla fibrosis con el paso de los años (Seitz HK et al, 2007).

Existe evidencia de que la coexistencia de ambos problemas conduce a un incremento de la severidad de la hepatopatía, una más rápida progresión de la misma y una mayor incidencia de cirrosis y hepatocarcinoma (Pessione F et al, 1998; Poynard T et al, 1997). Se ha calculado que la coexistencia de un consumo de alcohol > 80 g/día y la infección crónica por el VHC supone un riesgo 100 veces mayor de desarrollar hepatocarcinoma (Aizawa Y et al, 2000).

Existe un debate continuo acerca de si incluso bajas dosis de alcohol (< 20-30 g/día) pueden alterar la progresión de la infección por VHC. Westin et al (2002) encontraron en su estudio de 78 pacientes sometidos a 2 biopsias hepáticas en un intervalo de tiempo de 6,3 años que una ingesta total de alcohol, una ingesta diaria mayor de alcohol y un aumento de la frecuencia de consumo al día se asociaron a mayor grado de fibrosis.

Se muestra a continuación una figura del curso natural de la hepatopatía alcohólica y el VHC solas y en conjunto.

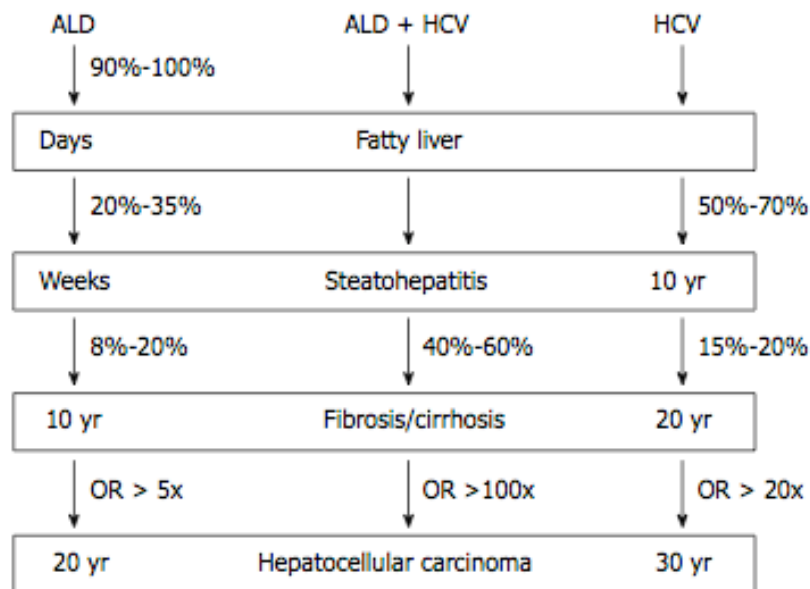


Figure 2 Natural course of ALD and HCV alone or in combination. Estimated risk and time interval for disease states are indicated (for more details see text).

Figura 9: curso natural de la hepatopatía alcohólica y la hepatopatía por VHC solas o en combinación.

5.1. Efectos del alcohol sobre la infección crónica por el VHC

La patogenia del daño hepático acelerado observado en pacientes alcohólicos infectados por el VHC no se conoce del todo, pero se piensa que es multifactorial.

Tanto el alcohol como el VHC pueden reproducir las cuatro lesiones progresivas de hepatopatía: esteatosis, esteatohepatitis, cirrosis y hepatocarcinoma. Se considera que ambos factores pueden ejercer un efecto sinérgico por el hecho de que las lesiones que producen pueden desarrollarse por vías diferentes.

En el caso de la esteatosis por VHC, hemos comentado anteriormente las vías por las cuales puede desarrollarse. En el caso del alcohol, se conocen los siguientes mecanismos que pueden promover el desarrollo de esteatosis (Sozio

M, 2008): 1) un desequilibrio a favor de la NADH, que estimula la lipogénesis; 2) un aporte de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo periférico facilitado por una liberación de TNF- α ; 3) inhibición de la β -oxidación de ácidos grasos en el hepatocito; 4) alteración en la secreción de triglicéridos en forma de VLDL desde el hepatocito.

Además de la esteatosis, otros mecanismos propuestos como aceleradores del daño hepático en los pacientes infectados por el VHC consumidores de alcohol han sido (Bhattacharva R et al, 2003):

- Disfunción inmune provocada por alcohol: el consumo de alcohol se ha asociado con una disminución de la función de granulocitos, macrófagos y linfocito, y también de la respuesta humoral a determinados antígenos, como a la vacuna de la hepatitis B. Se ha observado en pacientes alcohólicos una disminución de los niveles de INF- γ , lo que sugiere un predominio de la respuesta Th2, y esto podría jugar un papel en la persistencia del VHC.
- Aumento de la carga viral en alcohólicos: varios estudios han encontrado esta asociación incluso en bebedores moderados.
- Aumento del depósito de hierro hepático: en contraste con la infección por hepatitis B, depósitos de hierro hepático se encuentran en más de un 50% de pacientes con hepatopatía alcohólica e infección por VHC, incluso con consumo moderado (Ioannou GN et al, 2004). Los mecanismos subyacentes por los cuales se acumula el hierro en estas dos entidades no se conoce, pero se apunta a una inadecuada regulación al alza de la hepcidina (Kohgo Y et al, 2005), que controla la absorción duodenal de hierro y media la liberación del mismo desde el retículo endoplásmico vía ferropontina (exportador de hierro). Se conoce por pacientes con hemocromatosis que el hierro per se es un factor muy profibrogénico y genotóxico, y que el 50% de estos pacientes desarrollan fibrosis y

presentan un riesgo 200 veces superior de desarrollar hepatocarcinoma (Niederau C et al, 1985). En pacientes alcohólicos infectados por VHC el depósito de hierro hepático supone también un importante factor de progresión (Kohgo Y et al, 2005).

VI. PAPEL DE LAS CITOCINAS INFLAMATORIAS EN LA HISTOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC

6.1. Definición de citocina

Las citocinas (Farreras & Rozman, 2010) se tratan de cualquier proteína o péptido soluble liberado por cualquier tipo celular y que actúa como regulador de la actividad de otras células, a bajísimas concentraciones (nanomolares o picomolares). Comprenden varias subfamilias, que incluyen interferones, interleuquinas, factores de necrosis tumoral, factores de crecimiento transformante, factores estimulantes de colonia y quimioquinas. Ejercen una amplia variedad de funciones: crecimiento y diferenciación celular, reparación y remodelado tisular, hematopoyesis, lactancia, respuesta inflamatoria, reacciones inmunes. Son producidas por numerosas células (linfocitos, macrófagos, células hematopoyéticas, células endoteliales, incluyendo las células hepáticas).

En condiciones basales, las células productoras sintetizan cantidades insignificantes de citocinas, siendo necesaria su activación para que produzcan cantidades biológicamente funcionales. En general, los estímulos antigénicos originados por agentes infecciosos, como bacterias, hongos, virus y parásitos, son potentes inductores de su secreción. La mayoría de las citocinas no se acumulan intracelularmente, sino que una vez sintetizadas se secretan al medio extracelular. Algunas, además de la forma soluble, presentan formas que permanecen

ancladas en la membrana celular o asociadas a la matriz extracelular, donde cumplen funciones esenciales, no sustituibles por las formas solubles.

Algunas citocinas, como la IL-2, ejercen su efecto biológico sobre la propia células productora (efecto autocrino), otras lo hacen sobre células circundantes (efecto paracrino) y otras pueden actuar a distancia como hormonas (efecto endocrino).

Funcionalmente, las citocinas son pleiotrópicas y redundantes, es decir, ejercen múltiples efectos sobre diversos tipos celulares a la vez que varias citocinas contribuyen a una misma función. Las citocinas se unen a receptores específicos expresados de manera constitutiva en muchos tipos celulares, incrementándose su expresión tras la activación celular.

Las acciones de las citocinas se engloban dentro de un sistema o red funcional donde el efecto de una molécula está regulado por otras moléculas del sistema. Así, la secreción de una citocina puede estar inducida, potenciada o inhibida por otra, la cual, a su vez, puede incrementar o inhibir la expresión de sus receptores.

A nivel hepático la síntesis de citocinas constitutivas está ausente o es mínima. Sin embargo, determinados estímulos patológicos inducen su liberación.

De forma conceptual, podemos clasificar las citocinas en función de dónde ejercen sus principales efectos biológicos: 1) citocinas implicadas en la inmunidad innata; 2) citocinas implicadas en la inmunidad adquirida; 3) citocinas implicadas en la hematopoyesis; 4) quimioquinas; 5) factores de crecimiento.

A continuación pasamos a describir brevemente los dos primeros grupos de citocinas para posteriormente hablar de su papel en la infección crónica por el VHC, poniendo especial énfasis en las citocinas que analizamos en nuestro trabajo.

6.2. Citocinas implicadas en la inmunidad innata

La inmunidad innata se trata de la primera línea de defensa frente a los agentes infecciosos y las células tumorales (Roitt, 2003; Abbas, 2008). Las principales células que la constituyen son los neutrófilos, monocitos, macrófagos y las células natural killer. Estas células tienen capacidad de fagocitar, aniquilar células infectadas y tumorales y secretar citocinas que modulen la respuesta inmune.

Las citocinas implicadas en la respuesta inmune innata son:

- TNF- α : la describiremos con más detalle posteriormente.
- IL-1 (IL-1 α e IL-1 β): segregada por monocitos, macrófagos, células NK, células endoteliales, células dendríticas; la IL-1 α está asociada a la superficie celular; mientras que la IL-1 β es secretada al medio, pero ambas se unen al mismo receptor y ejercen las mismas funciones biológicas. Produce inflamación del endotelio con aumento de su permeabilidad y actividad protrombótica, induce síntesis de proteínas de fase aguda, y actúa como pirógeno inductor de sueño, fiebre y anorexia.
- IL-6: segregada por macrófagos, células endoteliales, células estromales de la médula ósea, linfocitos; induce síntesis de proteínas de fase aguda, regula la hematopoyesis, induce la secreción de inmunoglobulinas.
- IL-12: segregada por monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B; induce la secreción de INF- γ por células NK y linfocitos T, el cual activa los macrófagos produciendo un aumento de su capacidad microbicida.
- Interferones (sobre todo α y β): segregados por linfocitos, células NK; son moléculas con capacidad antiviral de amplio espectro, aunque también ejercen efectos inmunomoduladores. Incrementan la actividad citotóxica de

las células NK y macrófagos y promueven la generación de células dendríticas maduras que potencian la respuesta Th1.

- TGF- β : la analizaremos más en detalle posteriormente.

6.3. Citocinas implicadas en la respuesta inmune adaptativa

La inmunidad adaptativa se trata de la segunda línea de defensa específica frente al antígeno, que se activa cuando la inmunidad innata no puede contener el estímulo que la ha generado. Está constituida por una respuesta inmune celular, mediada por linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, y una respuesta inmune humoral, mediada por linfocitos B.

Los linfocitos T CD4⁺ o linfocitos T helper son las células encargadas de “orquestrar” la respuesta inmune adaptativa a través de la secreción de citocinas. En función del estímulo antigénico, los linfocitos T CD4⁺ se pueden diferenciar hacia Th1 o Th2. Los Th1 inducen una respuesta frente a virus y patógenos de crecimiento intracelular. Las citocinas que segregan son:

- IL-2: segregada por los linfocitos T, estimula la producción y diferenciación de los mismos de forma autocrina, además de favorecer la acción citolítica de las células NK.
- IL-15: segregada por células epiteliales, monocitos y otros tipos, ejerce funciones similares a la IL-2.
- IL-12: segregada por monocitos, macrófagos, células dendríticas y linfocitos B, activa los linfocitos T citotóxicos y las células NK, además de inducir la producción de INT- γ y promover la diferenciación de Th1.
- IL-18: segregada por células de Kupffer, monocitos, dendríticas y otros tipos, ejerce funciones similares a la IL-12.

- INF- γ : segregado por linfocitos T CD8⁺ y células NK, incrementa la expresión de antígenos de MHC clase I y II en varios tipos celulares, además de activar macrófagos y células NK, poseer efecto antitumoral, potenciar el efecto antiviral inducido por INT- α y β e inhibir la proliferación de linfocitos Th2.

Los linfocitos T CD4⁺ Th2 inducen una respuesta principalmente humoral, además de intervenir en respuestas alérgicas y ejercer un efecto antiinflamatorio regulador de la respuesta Th1. Las citocinas que segregan son:

- IL-4: segregada por linfocitos Th2, mastocitos, basófilos, induce crecimiento y diferenciación de linfocitos B, además de favorecer la producción de IgE e inhibir la producción de citocinas inflamatorias. Es la citocina que promueve la diferenciación hacia Th2 por excelencia.
- IL-5: segregada por linfocitos CD4⁺, mastocitos y eosinófilos, promueve la diferenciación y activación de eosinófilos.
- IL-10: segregada por linfocitos T y B, monocitos, macrófagos; se trata de la citocina antiinflamatoria por excelencia. En el contexto de la inmunidad innata inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) e incrementa la producción de IL-1ra (antagonista del receptor de IL-1).
- IL-13: segregada por linfocitos T activados, comparte múltiples de las funciones de la IL-4.

6.4. Citocinas en la infección por el VHC

En la inmunopatogenia de la hepatitis C crónica, junto a la respuesta celular ejercida por linfocitos T, células NK y macrófagos, se reconoce la intervención de una compleja red de citoquinas con funciones mediadoras y moduladoras de la respuesta inflamatoria que acontece en esta infección.

Las citocinas que regulan la respuesta inmune celular juegan un papel crucial en la respuesta del huésped frente al VHC. Los linfocitos Th1 secretan IL-2 e INT- γ , que actúan como estímulos para la respuesta inmune antivírica del huésped, incluida la producción de linfocitos T citotóxicos y la activación de las células NK. Los linfocitos Th2 producen IL-4 e IL-10, que potencian la producción de anticuerpos y deprimen la respuesta Th1. Así, la Th1 sería la respuesta principal frente al virus, mientras que la Th2 se encargaría de controlar la respuesta derivada de la Th1. Reiser M et al (1997) observaron que la primera acontece principalmente en el hígado, mientras que la segunda lo hace a nivel periférico.

Se ha planteado que cuando predomina la respuesta Th1 la hepatitis aguda se cura con mayor frecuencia, e incluso esta respuesta se puede detectar en la mayoría de los pacientes recuperados incluso tras varios años de la infección (Takaki A et al, 2000). Sarih M et al (2000), con el objetivo de estudiar la respuesta de citocinas en pacientes infectados por VHC, analizaron varias citocinas derivadas de la respuesta Th1 (IL-2, IL-12, INT- γ) y Th2 (IL-4, IL-10) en células mononucleares sanguíneas estimuladas, y encontraron que los niveles de IL-2 e INT- γ estaban más disminuidos de forma significativa en los pacientes con viremia detectable al compararlos con individuos con VHC sin viremia detectable y frente a controles, por lo que sugirieron que quizás una respuesta Th1 disminuida podría jugar un papel en la persistencia del virus. Cecere A et al (2004) observaron que una respuesta Th1 disminuida en el hígado, expresada por menores concentraciones de INT- γ e IL-12, se asociaba con una menor probabilidad de erradicar el virus.

Se ha observado que el tratamiento con interferón α puede modificar los niveles de citocinas derivadas de ambas respuestas Th. Cacciarelli et al (1996), con el objetivo de analizar los cambios en los perfiles de citocinas antes y después del tratamiento con interferón α , sobre una muestra de 23 pacientes, encontraron que los niveles de IL-2, IL-4, IL-10 e INT- γ estaban más elevados en los pacientes que en los controles antes del tratamiento, pero a las 12 semanas del mismo hallaron niveles más disminuidos de IL-4 e IL-10, con un descenso paralelo de la carga viral, por lo que sugirieron que el tratamiento con interferón podría disminuir la respuesta Th2.

6.5. Factor de necrosis tumoral α

El TNF- α , también denominada caquectina, es una molécula secretoria no glicosilada, de 17 kDa, que deriva de una de 26 kDa producida por varios tipos de células inflamatorias, como los monocito-macrófagos, neutrófilos, células T, pero también por otros tejidos, como el endotelio, el tejido adiposo (especial importancia reviste en el contexto de las hepatopatías el liberado por la grasa abdominal) o las neuronas. En el hígado, TNF- α es liberado por los hepatocitos y las células de Kupffer.

Posee dos receptores transmembrana, TNFR1 o CD120a y TNFR2 o CD120b. Producto de digestiones proteolíticas del dominio extracelular de TNFR1 y 2 se generan dos tipos de receptores solubles (TNF binding proteins), que están involucrados en la regulación de los niveles circulantes de esta citocina. Sus niveles en individuos sanos fluctúan entre indetectables a 50 pg/mL. Los niveles > 100 pg/mL se asocian a enfermedad.

TNF- α es una molécula clave en la inmunidad del huésped, con actividad antitumoral, antiviral y antimicrobiana. Además, interviene en el crecimiento celular y la diferenciación tisular. A nivel sistémico, TNF- α ejerce diversas funciones en diferentes órganos:

- En el hipotálamo actúa sobre el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal estimulando la liberación de CRH (hormona liberadora de corticotropina); además de suprimir el apetito (de ahí su nombre de caquectina) y generar una respuesta febril.
- En el hígado estimula la reacción de fase aguda, activando la síntesis de proteína C reactiva y otros mediadores inflamatorios. También estimula las células de Kupffer para liberar TGF- β , que posteriormente activará las células estrelladas para que secreten proteínas a la matriz extracelular.
- En el tejido graso puede inducir lipólisis, resistencia a la insulina interfiriendo en la señalización postreceptor (ISR-1) e inhibir la síntesis de Adiponectina.
- En el endotelio activa las células endoteliales, que liberan óxido nítrico con la consiguiente vasodilatación vascular, lo que contribuye al reclutamiento de células inflamatorias, inmunoglobulinas y complemento. También favorece la activación y adhesión plaquetaria, lo que causa oclusión vascular.

En el hígado, en condiciones normales, los hepatocitos son resistentes a la esteatosis inducida por TNF- α (Feingold KR et al, 1988), pero determinadas citocinas liberadas por los macrófagos, tales como INF- γ e IL-12, promueven la esteatohepatitis mediada por TNF- α (Chikano S et al, 2000). En este sentido, se ha observado que la expresión de TRAIL (tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand), estimulada por la presencia de una hepatitis viral, media la producción de esteatosis inducida por TNF- α (B Mundt et al, 2005).

Múltiples estudios han señalado la relación entre TNF- α con la esteatosis y fibrosis hepática. Lesmana CR et al (2009) observaron una correlación positiva entre el grado de fibrosis hepática y los niveles de TNF- α en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica. Crespo J et al (2001) observaron una expresión

aumentada de TNF- α en el hígado y el tejido adiposo de pacientes con esteatohepatitis y fibrosis significativa en comparación con los que no mostraban fibrosis o era de grado ligero.

Sin embargo, también hay estudios que no han encontrado correlación entre los niveles de TNF- α y el grado de esteatohepatitis (Lucero et al, 2011).

En el contexto de la infección crónica por VHC, TNF- α juega un papel central en los procesos inflamatorios. Se ha observado un incremento de la expresión intrahepática así como de la producción de TNF- α por las células mononucleares (Yoshioka K et al, 1989) así como unos niveles séricos de TNF- α superiores a los observados en sujetos sanos (Crespo et al, 2002). TNF- α puede inducir la apoptosis hepatocitaria a través de la activación de la vía del NF- $\kappa\beta$, la cual parece estar mediada por proteínas del core, NS4B y NS5B (Park J et al, 2012).

6.6. Interleuquina 6

IL-6 se trata de una citoquina liberada por adipocitos, células inmunes y células endoteliales. Entre sus funciones se encuentran: inducción de proteínas de fase aguda, regulación de la hematopoyesis e inducción de la secreción de inmunoglobulinas.

En el hígado, estudios iniciales sugerían una acción hepatoprotectora en hígados esteatósicos a través de la disminución del estrés oxidativo y la prevención de la disfunción mitocondrial en modelos murinos (El-Assal O et al, 2004). Sin embargo, parece ejercer efectos paradójicos en su exposición a corto y largo plazo, ya que en este último caso parece favorecer la apoptosis hepatocitaria.

En el contexto de la infección crónica por VHC, se han involucrado niveles elevados de IL-6 debidos a la estimulación del TLR-2 por proteínas del core, con

la patogenia de la crioglobulinemia mixta y el desarrollo de linfomas en estos pacientes (Feldmann G et al, 2006).

6.7. Interleuquina 8

IL-8 (CXCL8) se trata de una citocina de la familia de las quimiocinas, de naturaleza proinflamatoria. Su síntesis se produce en fibroblastos, células endoteliales, monocitos, macrófagos y células dendríticas. Es un potente factor quimiotáctico de neutrófilos, regula la producción de proteínas de adhesión y amplifica la respuesta inflamatoria local. Su producción es estimulada por citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-1.

En pacientes con hepatitis C se han encontrado niveles elevados de IL-8, relacionados con progresión de la enfermedad y menor respuesta al tratamiento con interferón (Polyak SJ et al, 2001). Por otro lado, se ha observado que IL-8 también podría ejercer un efecto profibrótico en el hígado. En cultivos celulares Huh-7 la proteína del core del VHC fue capaz de estimular las células estrelladas mediante la IL-8 (Clement S et al, 2010).

Zimmermann et al (2011) encontraron niveles elevados de IL-8 en pacientes con hepatopatía crónica, incluyendo la producida por el VHC, y observaron una correlación positiva con el grado de fibrosis. Encontraron que los niveles elevados de IL-8 procedían del mismo hígado, ya que la expresión génica de esta citocina estaba aumentada en dicho tejido.

6.8. Interferón γ

La función biológica del INT se realiza mediante su unión a receptores específico de la membrana celular, que induce la expresión génica. Las proteínas inducidas ejercen una función antiviral antiproliferativa, inmunomoduladora y antifibrogénica.

El INT ejerce un efecto antiviral mediante un mecanismo de acción múltiple: inhibición de síntesis de proteínas virales, inducción de mecanismos que destruyen el ARN viral, contribución a la presentación en la membrana celular de Ag de clase I del MHA, potenciación de la función de las células NK.

Algún estudio (Malaguarnera et al, 1997) ha mostrado que niveles disminuidos de INT- γ podrían asociarse a una mayor probabilidad de progresión de la hepatopatía por VHC.

6.9. Factor de crecimiento transformante β

TGF- β se trata de una citoquina-factor de crecimiento con propiedades inmunosupresoras, antiinflamatorias y profibróticas (Douglas HE et al, 2010). En el hígado la isoforma TGF- β 1 es la más abundante, y es liberada por células inmunes, células estrelladas y células epiteliales.

TGF- β 1 es la citocina más importante en el desarrollo de fibrosis hepática en las enfermedades hepáticas. La induce a través de la activación de células estrelladas y su producción de proteínas de la matriz extracelular (Bissel DM et al, 2001). De hecho, las células de Kupffer y las células estrelladas producen TGF- β 1, que induce la transformación de células estrelladas en miofibroblastos.

Se ha señalado que los niveles séricos de TGF- β 1 pueden estar en relación con el estadio de fibrosis hepática en los pacientes con hepatitis crónica C independientemente del grado de actividad necroinflamatoria (Neuman MG et al, 2002; Janczewska-Kazek E et al, 2006). En un estudio Neuman MG et al (2007) comprobaron que existe un aumento de los niveles de TGF- β 1 hasta el estadio F3 de fibrosis, de acuerdo con la puntuación de Knodell; sin embargo, esta tendencia se invertía en los pacientes con fibrosis estadio 4 (cirrosis hepática), en los que estas concentraciones eran menores que las detectadas en los estadios iniciales (0 y 1) de fibrosis.

Kinnman N et al encontraron expresión hepática medida mediante técnicas inmunohistoquímicas de tres isoformas de TGF- β 1-2-3, no presente en controles. Dicha expresión disminuyó significativamente en pacientes respondedores al tratamiento.

En lo que respecta a la esteatosis, Hasegawa et al encontraron niveles más elevados de TGF- β 1 en pacientes con NASH comparados con los que no presentaban esteatosis (2001). Soliman GM et al (2010), en un estudio sobre el papel del TGF- β en el desarrollo de fibrosis en pacientes con infección crónica por VHC que presentaron esteatohepatitis en la biopsia, no encontraron relación entre los niveles de TGF- β y la severidad de la esteatohepatitis.

6.10. Inhibidor tisular de la metaloproteinasa-1

En el desarrollo de la fibrosis hepática las células estrelladas juegan un papel central, ya que depositan proteínas en la matriz extracelular, como colágeno tipos I y III. Las mismas células estrelladas regulan simultáneamente la degradación de la matriz, liberando al medio inhibidores tisulares de las metaloproteasas (TIMPs). Se conoce que al menos TIMP-1 y TIMP-2 son segregadas por las células estrelladas.

Múltiples estudios (Flisiak R et al, 2002; Badra G et al, 2000; Leroy V et al, 2004) han señalado el papel potenciado del TIMP-1 como marcador no invasivo de fibrosis hepática. Boeker et al (2002) observaron que los niveles de TIMP-1 aumentan a medida que lo hace el estadio de fibrosis en pacientes con VHC.

González-Reimers et al (2009), en un estudio donde analizaban la relación entre la grasa corporal, la esteatosis hepática y el perfil citoquínico y adipoquínico en pacientes infectados por VHC no alcohólicos, encontraron una correlación positiva entre TIMP-1 y la esteatosis hepática, pero no entre la fibrosis y TIMP-1. Destacablemente mediante inmunohistoquímica no encontraron una elevada

expresión de TIMP-1 sobre las biopsias hepáticas, lo que puede sugerir otras fuentes de producción del mismo, como el tejido adiposo.

VII. PAPEL DE LAS ADIPOQUINAS EN LA HISTOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC

Las adipoquinas son mediadores activos liberados en el tejido adiposo, tanto por los adipocitos como por otras células incluidas en su interior, como los macrófagos (Guzik et al, 2006). Dentro de las adipoquinas liberadas principalmente por los adipocitos se encuentra la adiponectina, la resistina y la leptina.

Las adipoquinas clásicas, como la leptina y la adiponectina, se reconocieron inicialmente como mediadores de la regulación de las reservas energéticas. Por ejemplo, la leptina, a través de su acción sobre el hipotálamo, juega un papel como regulador negativo del apetito y, por tanto, se puede interpretar su acción como anorexígena.

En las últimas dos décadas se ha observado que las adipoquinas también pueden ejercer funciones sobre el sistema cardiovascular, el sistema inmune y el metabolismo del tejido adiposo (Guzik et al, 2006).

En el contexto de la infección crónica por el VHC, las adipoquinas podrían influir sobre la respuesta inflamatoria y la sensibilidad a la insulina y contribuir al desarrollo de alteraciones metabólicas e histopatológicas (esteatosis y fibrosis) en los pacientes infectados por el VHC.

A continuación pasamos a describir las características de varias adipoquinas

analizadas en nuestro trabajo y su posible contribución al desarrollo de esteatosis y fibrosis en los pacientes infectados por el VHC.

7.1. Leptina

Se trata de una proteína codificada por el gen *ob*. Su expresión acontece principalmente en el tejido adiposo blanco, y está determinada sobre todo por el estado de reserva energética de los adipocitos.

El receptor de leptina se expresa en múltiples tejidos periféricos, incluyendo el hígado, y presenta varias isoformas.

Entre las funciones de la leptina se han observado:

- Anorexígena: la leptina se segrega en función de la masa grasa para ejecutar señales antiobesidad, regulando la ingesta, el tono simpático y el gasto energético en situaciones de exceso de energía. Sin embargo, se ha observado que los pacientes obesos muestran elevadas concentraciones de leptina, lo que sugiere una situación de resistencia a la misma, que se establece a través de la interferencia con su receptor (Myers MG et al, 2008).
- Inmune: los ratones deficientes en leptina están protegidos frente al desarrollo de enfermedades autoinmunes (Faggioni R et al, 2000). Por otro lado también son más susceptibles a infecciones víricas y bacterianas.

En el contexto de la infección crónica por el VHC, la leptina parece que promueve el desarrollo de fibrosis (Wang J et al, 2008). De forma directa actuaría sobre las células estrelladas estimulando su proliferación e inhibiendo su apoptosis, las cuales incrementarían la síntesis de procolágeno tipo I. De forma indirecta activarían las células de Kupffer y las células endoteliales sinusoidales a

través del aumento de la síntesis de TGF- β y TIMP-1.

Respecto al desarrollo de esteatosis en la infección crónica por VHC, la asociación con la leptina tampoco está bien establecida (Myers RP et al, 2007). Aunque a nivel hepático parece reducir la esteatosis a través de la activación de la AMPK y de la disminución de la expresión de SREBP-1.

Respecto al desarrollo de fibrosis en la infección crónica por VHC, los estudios han mostrado resultados dispares, pues algunos han observado una relación con la severidad de la fibrosis (Piche T et al, 2004), mientras que otros estudios no han encontrado dicha relación (Myers RP et al, 2007).

7.2. Adiponectina

La adiponectina se trata de una adipoquina que circula en complejos de diferente tamaño, pero sus funciones están principalmente asociadas a la forma de elevado peso molecular. Sus niveles guardan una relación inversa con el tejido graso corporal, de forma que están disminuidos en la obesidad.

Posee dos receptores: AdipoR1, de expresión en varios tejidos periféricos, incluyendo el músculo esquelético; y AdipoR2, de expresión principalmente hepática.

Su principal función consiste en aumentar la sensibilidad a la insulina en el tejido adiposo, el músculo y el hígado.

En el contexto de la infección crónica por el VHC, la adiponectina ha mostrado ejercer acciones antiinflamatorias a través de diversas vías: incremento de la síntesis de IL-10, disminuyendo la de TNF- α , IL-6 e inhibiendo la activación del NF- κ B.

Respecto a la esteatosis hepática, adiponectina la atenúa a través de varias vías: disminuyendo la síntesis de TNF- α , disminuyendo la expresión de SREBP-1, incrementando la expresión de PPAR- α (Ku A et al, 2003).

Respecto a la fibrosis hepática, adiponectina la atenúa a través de su efecto sobre las células estrelladas, ya que inhibe su proliferación y migración y bloquea la expresión de TIMP-1 inducida por Leptina.

Aunque los procesos inflamatorios crónicos reducen la expresión y los niveles de Adiponectina, en la hepatopatía por VHC los estudios han mostrado resultados contradictorios. Mientras que algunos autores no encontraron niveles diferentes respecto a controles (Cua IH et al, 2007), otros autores han encontrado niveles disminuidos con mayor grado de esteatosis (Durente-Mangoni E et al, 2006).

7.3. Resistina

Resistina es una proteína de 114 aminoácidos. Se denomina así porque ejerce resistencia sobre la acción de la insulina (Steppan CM et al, 2001).

Su fuente parece ser los adipocitos y las células inflamatorias que infiltran la grasa. Su liberación parece estar estimulada por la inflamación, IL-6, hiperglucemia, hormonas del crecimiento, lipopolisacárido.

Sus principales lugares de acción son el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo, donde causa resistencia insulínica, entre otros mecanismos por inducir la expresión del supresor de señal citoquímica 3 (SOCS3), un inhibidor conocido de la señalización insulínica. También se ha descrito que ejerce una acción proinflamatoria, estimulando la secreción de TNF- α e IL-12 por parte de macrófagos y monocitos por una vía dependiente del NF- κ B.

A nivel hepático también se ha descrito que activa las células estrelladas, participando en la fibrogénesis.

7.4. Otras adipoquinas implicadas en la patogenia de la infección crónica por VHC

Visfatina, también denominada PBEF-1 (pre-B-cell colony-enhancing factor 1) o Nampt (nicotinamide phosphoribosyltransferase), se trata de una adipoquina liberada por múltiples células: linfocitos, monocitos, neutrófilos, hepatocitos, adipocitos, neumocitos. Ejerce una amplia variedad de funciones, entre las que se incluyen inmunomoduladoras (promueve la maduración de linfocitos B, inhibe la apoptosis de neutrófilos), angiogénicas, proinflamatorias (induce la síntesis de TNF- α , IL-6, IL-1 β) y metabólicas (disminuye los niveles de glucosa por un efecto “insulín-mimético”, dado que guarda una elevada afinidad por el receptor de la insulina; regula la síntesis de NAD y, por tanto, interviene en la regulación de las reservas energéticas celulares).

En el contexto de la infección crónica por el VHC, Kukla et al (2010) han observado que los niveles de visfatina están elevados al compararlos con controles, y que el grado de actividad necroinflamatoria se correlacionó de forma inversa con los niveles, lo que podría sugerir un efecto inmunomodulador de dicha adipoquina en la infección crónica. Respecto a la esteatosis y la fibrosis en el VHC no encontraron relación.

Quemerina, también denominada gen 2 inducido por tazaroteno (TIG2) o proteína 2 respondedora al receptor de ácido retinoico (RARRES2), se trata de una proteína quimiotáctica que actúa sobre su receptor acoplado a proteína G (ChemR23). Se produce en el tejido adiposo, hepático y pulmonar. Su receptor se expresa fundamentalmente en los adipocitos y las células inmunes. Entre sus funciones también se cuentan las inmunomoduladoras (ejerce quimiotactismo en zonas inflamatorias sobre macrófagos y células NK, a la vez que inhibe la síntesis

de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6), y metabólicas (aumenta la sensibilidad a la insulina en el tejido adiposo, donde también favorece la lipólisis y contribuye al aumento de la producción de adiponectina).

En el contexto de la hepatitis C, Kukla et al (2010) encontraron niveles más elevados de quemerina en pacientes que en controles. De forma parecida a la visfatina, los niveles guardaron una correlación negativa con el grado de actividad necroinflamatoria. Respecto a la fibrosis, este mismo autor no observó relación con los niveles, aunque sí una tendencia a que fueran superiores cuando mayor era el estadio de fibrosis.

Vaspina se trata de una adipoquina que se expresa en el tejido adiposo visceral y subcutáneo. Ejerce funciones antiinflamatorias (disminuyendo la secreción de TNF- α), y metabólicas (aumenta la captación de glucosa incrementando la sensibilidad a la insulina, incrementa la síntesis de adiponectina a la vez que reduce la de leptina y resistina).

En el contexto de la hepatitis C, Kukla et al (2010) encontraron niveles más disminuidos en pacientes que en controles, y no hallaron asociación con el grado de actividad necroinflamatoria ni con el de fibrosis.

VIII. EL TEJIDO ADIPOSO COMO FUENTE DE ADIPOQUINAS Y CITOCINAS PROINFLAMATORIAS

Inicialmente se consideró que el papel del tejido adiposo era servir como reserva energética. Actualmente se le conoce por ejercer importantes funciones endocrinas y jugar un papel en procesos metabólicos e inflamatorios (Ahima RS et al, 2006).

El tejido adiposo está compuesto por una asociación de adipocitos rellenos de lípidos sostenidos en un estroma compuesto por colágeno y acompañado de células vasculares, fibroblastos, leucocitos, macrófagos y preadipocitos (no rellenos de lípidos). Aproximadamente el 60-85% del tejido adiposo está compuesto por lípidos, los cuales son en un 90-99% triglicéridos. Los adipocitos están especialmente adaptados para la captación de ácidos grasos libres, que luego se convierten en triglicéridos en su interior. La insulina juega un papel central en el desarrollo y función del tejido adiposo. No sólo regular la lipogénesis, sino también la lipólisis y la exportación de ácidos grasos libres.

Dependiendo de su localización, el tejido adiposo se puede dividir en subcutáneo y visceral (intraperitoneal, compuesto por la grasa omental y mesentérica). La grasa visceral está más relacionada con el riesgo cardiovascular y el desarrollo de esteatosis hepática. Se conoce que la grasa visceral es la principal fuente de aporte de ácidos grasos libres al hígado (Thomas EL et al, 2005).

El tejido adiposo es una fuente de múltiples moléculas: adipoquinas, citocinas, prostaglandinas, colesterol, ácidos grasos, hormonas esteroideas. Se conocen en torno a 100 moléculas segregadas por el mismo (Grimble RF et al, 2002). La secreción de las moléculas aumenta a medida que crece el tejido adiposo, a excepción de la adiponectina. Varios estímulos se han propuesto para explicar la sobreproducción de adipoquinas en la obesidad: aumento de la masa tisular, inflamación crónica del tejido adiposo por infiltración macrofágica, hipoxia

relativa (el tejido vascular no aumenta en la misma proporción que lo hace el tejido adiposo), estrés del retículo endoplásmico, estrés oxidativo (Trayhurn P et al, 2004). Este incremento de sustancias liberadas es reversible con la disminución de peso.

Grupo de pertenencia	Proteínas
Citocinas y proteínas relacionadas	<ul style="list-style-type: none"> - Leptina - TNF-α - IL-6
Proteínas del sistema inmune	<ul style="list-style-type: none"> - Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1)
Proteínas del sistema fibrinolítico	<ul style="list-style-type: none"> - PAI-1
Proteínas del sistema complemento y relacionadas	<ul style="list-style-type: none"> - Factor tisular - Adipsina - Factor B - Adiponectina
Proteínas relacionadas con el metabolismo lipoproteico	<ul style="list-style-type: none"> - Lipoproteína lipasa - Proteína transportadora de colesterol esterificado - Apoproteína E
Proteínas del sistema renina-angiotensina	<ul style="list-style-type: none"> - Angiotensinógeno
Enzimas relacionadas con el metabolismo de esteroides	<ul style="list-style-type: none"> - Aromatasa - 17-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa
Otras	<ul style="list-style-type: none"> - Resistina

Tabla 3: Proteínas derivadas del adipocito con funciones endocrinas. Adaptado de Natalia Elissondo et al (2008, Acta bioquímica clínica latinoamericana).

Receptores	Ligandos
Receptores de citocinas	<ul style="list-style-type: none"> - Leptina - TNF-α - IL-6
Receptores de catecolaminas	<ul style="list-style-type: none"> - β1, β2, β3 - α1, α2
Receptores de hormonas proteicas	<ul style="list-style-type: none"> - Insulina - Glucagón - HGH - TSH - Gastrina - Angiotensina 1 y 2
Receptores nucleares	<ul style="list-style-type: none"> - Glucocorticoides - Vitamina D - Andrógenos, estrógenos

Tabla 4: Receptores expresados por el tejido adiposo y sus ligandos. Adaptado de Natalia Elissondo et al (2008, Acta bioquímica clínica latinoamericana).

IX. HORMONAS SISTÉMICAS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO GRASO Y SU POSIBLE CONTRIBUCIÓN A LA HISTOPATOLOGÍA HEPÁTICA EN VHC

9.1. Insulina

La insulina se trata de una hormona anabólica que controla en gran medida el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. El receptor de insulina es una glucoproteína tetramérica formada por 2 subunidades α (con un dominio extracelular) y 2 subunidades β (con un dominio extracelular, transmembrana e intracelular); estas últimas tienen actividad tirosincinasa cuando la insulina se une a las subunidades α .

Cuando se activa el receptor la tirosincinasa fosforila varias proteínas citoplasmáticas, las IRS (sustratos del receptor de insulina, del que se conocen varios tipos), de las cuales la más estudiada es IRS-1. El IRS-1 interacciona entonces con varias proteínas para continuar la transmisión de la señal intracelular, sobre todo con dos: PI3-K (fosfatidilinositol-3 cinasa) y . Como hemos comentado anteriormente, la resistencia a la insulina puede ocurrir en cualquiera de los pasos de activación, si bien es más probable que ocurra en la señalización postreceptor.

Múltiples trabajos han asociado la presencia de resistencia insulínica al desarrollo de esteatosis hepática y fibrosis en pacientes con VHC, como se ha señalado anteriormente.

9.2. Somatomedina C o IGF-1

Es una proteína de 70 aa con una estructura bastantes similar a la de la proinsulina. Se sintetiza en múltiples tejidos, en especial en el hígado. Circula en un 99% unido a IGFBP 1 y 3. La GH estimula la secreción hepática de IGF-1, la cual inhibe GH por un mecanismo de feed-back negativo sobre la hipófisis.

Sus efectos son sobre todo anabolizantes, tanto a corto plazo (favoreciendo la captación de glucosa y ácidos grasos libres) como a largo plazo (induciendo diferenciación y crecimiento celular en múltiples tejidos).

Helaly et al (2011) estudiaron los niveles de IGF-1 en 4 grupos de pacientes: 15 con VHC, 15 con VHC y DM-2, 15 con DM-2 sin VHC y 15 controles. Encontraron niveles significativamente más bajos de IGF-1 en los tres primeros grupos. En el grupo de VHC con viremia detectable se encontró una tendencia hacia una correlación significativa negativa entre el IGF-1 y el HOMA-IR.

En un trabajo similar (Helaly, 2011), estos mismos autores encontraron una correlación negativa significativa entre la carga viral y los niveles de hGH, pero no entre la carga viral y los niveles de IGF-1 (hubo una tendencia hacia la significación estadística). Dado que el hígado es el órgano central del eje hGH-IGF-1 y en la hepatitis C existe un contexto inflamatorio expresado entre otros factores por un aumento de citocinas proinflamatorias, estos autores se plantearon la posibilidad de si una alteración de este eje podría contribuir al desarrollo de alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado en estos pacientes, con el consiguiente riesgo de diabetes.

Los niveles disminuidos de IGF-1 en pacientes infectados por el VHC también se han asociado al desarrollo de hepatocarcinoma (Su WW et al, 2010).

9.3. Cortisol

El cortisol es el glucocorticoide por excelencia. Cada día la corteza suprarrenal segrega unos 20 mg de cortisol. Circula unido en un 90% a proteínas plasmáticas (70% transcortina y 20% albúmina), y el resto, la forma libre, es la biológicamente activa.

Interesa destacar en este trabajo sus funciones sobre el metabolismo intermediario: en el hígado aumenta la síntesis de glucógeno, la gluconeogénesis y promueve la esteatosis (mediante la inhibición de la β -oxidación de ácidos grasos y la inducción de la lipogénesis de novo); en el músculo y tejido adiposo induce resistencia insulínica; en el tejido adiposo, de forma global induce lipólisis, pero en el tejido adiposo troncular aumenta la lipogénesis.

Targher et al (2005) encontraron en pacientes diabéticos con esteatosis al compararlos con diabéticos sin esteatosis y controles, niveles más elevados de cortisol libre urinario en 24 horas, incluso tras ajustarlo por el IMC, duración de la diabetes y cifras de tensión arterial, por lo cual sugirieron una relación entre la esteatosis en diabéticos con la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal.

En un trabajo posterior (2006), el mismo grupo encontró una relación significativa entre unos niveles más elevados de cortisol libre urinario en 24 horas con las lesiones necroinflamatorias y el estadio de fibrosis observadas en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica.

9.4. Vitamina D

La vitamina D es una hormona liposoluble. El 80% se genera en la piel por efecto de los rayos ultravioleta sobre el 7-deshidrocolesterol. Para convertirse en su metabolito activo, el calcitriol o $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D, tiene que pasar por dos pasos enzimáticos, el primero a nivel hepático para convertirse en calcidiol o $25(\text{OH})$ vitamina D, y el segundo a nivel renal mediante la $1-\alpha$ hidroxilasa.

El receptor de la vitamina D está expresado en casi todos los tejidos corporales. Se almacena fundamentalmente en el hígado, tejido adiposo y músculo.

La vitamina D interviene en la regulación de la homeostasis del calcio y fósforo; a nivel intestinal incrementa la absorción de calcio; a nivel óseo disminuye la reabsorción inducida por PTH y citocinas, aumenta la formación de hueso cortical y aumenta el número y función de los osteoblastos a través de la inducción de factores de crecimiento óseo y de la síntesis de proteínas de la matriz ósea. Recientemente se han reconocido funciones “no clásicas” de la vitamina D, como sus efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios y antifibrogénicos.

En el contexto de las hepatopatías se ha observado que el déficit de vitamina D es frecuente, y en el caso de la hepatitis C se ha señalado que puede contribuir a disminución de la respuesta antiviral (Kitson MT et al, 2012).

Targher G et al (2007) encontraron en pacientes con esteatosis hepática comparados con controles niveles más bajos de 25(OH)D₃. También observaron que unos niveles más disminuidos se asociaban a mayor severidad de la esteatosis, necroinflamación y fibrosis, independientemente de la edad, el IMC y la presencia de síndrome metabólico.

9.5. Levotiroxina

La levotiroxina, también denominada tetrayodotironina, es la principal hormonal secretada por el tiroides. Circula en su casi totalidad (> 99%) unida a proteínas plasmáticas, especialmente a la tiroxin binding globulin. La tiroxina es la prohormona y reserva de la hormona tiroidea activa triyodotironina (T3), que es 4 veces más potente que la T4.

La tiroxina tiene múltiples funciones: una acción calorígena y termorreguladora, regula el metabolismo intermediario, interviene en la regulación del crecimiento, especialmente en la maduración del sistema nervioso.

Desde el punto de vista patológico, se sabe que el hipotiroidismo se asocia a hígado graso (Pagadala et al, 2011), incluso en un nivel subclínico.

En el contexto de la infección crónica por el VHC está descrito que el tratamiento con interferón puede producir hipotiroidismo por un mecanismo autoinmune (Tomer Y, 2010).

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La infección crónica por VHC tiene una elevada prevalencia mundial. Un 15% de estos pacientes evolucionarán hacia la cirrosis hepática. Se ha observado que las alteraciones histopatológicas analizadas en la biopsia hepática constituyen un factor pronóstico sobre la evolución de la enfermedad.

La esteatosis hepática se trata de una lesión frecuente en pacientes infectados por el VHC (hasta el 40% en algunas series, Czaja et al, 1998). Algunos estudios han sugerido su importancia porque podría favorecer el desarrollo hacia la fibrosis (Rubbia-Brandt et al, 2000; Leandro G et al, 2006) y disminuir la respuesta al tratamiento antiviral (Asselah et al, 2006).

La patogenia de la esteatosis hepática en pacientes con VHC no se conoce del todo (Negro et al, 2006). Se ha sugerido que en su desarrollo intervienen factores de orden metabólico, comenzando por la resistencia insulínica, aunque también factores virales en sí mismos. Incluso se ha apuntado a que el VHC podría generar más resistencia insulínica y favorecer el desarrollo hacia la diabetes mellitus (Gutiérrez-Grobe et al, 2011).

Como punto central hemos de destacar el papel del tejido adiposo, especialmente el tejido adiposo visceral, principal fuente de ácidos grasos libres al hígado (Thomas El et al, 2005). La movilización de ácidos grasos libres desde este tejido al hígado está orquestada por múltiples moléculas con influencia sobre los adipocitos (citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6; adipoquinas como leptina y adiponectina; hormonas como insulina), y esas mismas moléculas parecen favorecer el desarrollo de alteraciones histopatológicas en el hígado (esteatosis, esteatohepatitis y fibrosis), con el consiguiente riesgo de progresión hacia la cirrosis hepática.

Por último, hay que destacar también el papel que pueden ejercer los diferentes genotipos del VHC sobre la patogenia de las lesiones hepáticas. En el caso del genotipo 1 se ha sugerido que favorecería principalmente el desarrollo

de esteatosis metabólica, por su contribución a la resistencia insulínica; mientras que en el caso del genotipo 3 se ha observado un efecto citopático, principalmente a través de sus proteínas del core, que favorecería sobre todo el desarrollo de lo que se ha denominado esteatosis viral.

Por todo lo anteriormente expuesto, nos hemos planteado los siguientes objetivos en el trabajo:

1. Analizar las alteraciones histológicas de forma cuantitativa y semicuantitativa en la biopsia hepática de pacientes con VHC antes de ser sometidos a tratamiento antiviral.
2. Analizar de forma pormenorizada qué factores (bioquímicos, citoquínicos, hormonales, antropométricos, tisulares) se asocian a un mayor o menor grado de esteatosis, esteatohepatitis o fibrosis hepática en estos pacientes.
3. Analizar si existen diferencias en cuanto a dichos factores y en cuanto a las alteraciones histológicas en pacientes con VHC consumidores de alcohol y pacientes con VHC y VIH en comparación con pacientes con VHC.
4. Analizar si los diferentes genotipos ejercen por sí mismos un efecto sobre las alteraciones histológicas y sobre las alteraciones metabólicas (especialmente la resistencia insulínica) que podrían favorecer aún más el desarrollo de esteatosis hepática.

Nos planteamos como principal hipótesis del trabajo que cuanto mayor sea la cuantía de grasa en el cuerpo, mayor situación proinflamatoria y mayores lesiones histopatológicas se observarán, y que estas variables más aumentadas se asociarán a un mayor grado de esteatosis hepática en pacientes infectados por VHC.

III. MATERIAL Y MÉTODO

MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo observacional desarrollado entre enero de 2007 y Mayo de 2011 en el servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario de Canarias.

2. VARIABLES DE LOS PACIENTES

Un total de 88 pacientes fueron incluidos en el estudio junto a 10 controles de similar edad y sexo. Los pacientes ingresaron en el hospital para la realización de una biopsia hepática antes de la instauración del tratamiento, y durante su ingreso se procedía a la obtención de datos anamnésticos y exploratorios, a la extracción de sangre para ser congelada y analizada posteriormente y a la realización de una densitometría de composición corporal completa. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

A continuación se detallan las diversas variables obtenidas de cada paciente.

2.1. Variables clínico-demográficas

Todos los pacientes eran sometidos a una anamnesis que recogía los siguientes datos: edad, sexo, consumo de alcohol (tiempo de consumo en años y cantidad media diaria ingerida), hábito tabáquico, infección por el VHC (años del diagnóstico, forma de contagio), infección por el VIH (años del diagnóstico, forma de contagio).

2.2. Variables exploratorias

Se obtuvieron de los pacientes las siguientes variables:

- Peso y talla, para un cálculo posterior el índice de masa corporal (según la fórmula: $IMC = \text{peso}/\text{talla}^2$ (kg/m²).
- Perímetro braquial como expresión de la masa muscular, medido en el tercio medio del brazo no dominante (resultado en cm).
- Pliegue tricípital como expresión de masa grasa, medido en el tercio medio del brazo no dominante, obteniéndose el resultado en mm de la media de tres mediciones consecutivas con lipocalibre.
- Área muscular del brazo (resultado en cm²): se obtuvo según la fórmula:
 $AMB = PB - \pi PT / 4\pi$

2.3. Variables analíticas

A todos los pacientes se les realizó un análisis sanguíneo para la obtención de las variables que se detallan a continuación (algunas determinaciones fueron realizadas posteriormente a partir de suero congelado a -80° C mediante enzimoimmunoanálisis y/o quimioluminiscencia):

- Hemograma y coagulación.
- Bioquímica: glucosa, BUN, creatinina, bilirrubina, albúmina, GOT, GPT, GGT, FA, LDH, calcio, fósforo, magnesio.
- Perfil lipídico: colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos.
- Perfil hormonal: calcidiol (ng/mL); calcitriol (pg/mL); 17-β estradiol (pg/mL); testosterona total (pg/mL); T4 libre (ng/dL); cortisol basal (μg/dL); IGF-1

(ng/mL); insulina (μ U/mL). El HOMA se obtuvo del producto insulina x glucosa.

- Perfil de citocinas: INF- γ (pg/mL); TNF- α (pg/mL); IL-4 (pg/mL); IL-6 (pg/mL); IL-8 (pg/mL).
- Productos de peroxidación lipídica: malondialdehído (μ U).
- Perfil de adipoquinas: TIMP-1 (ng/mL); TGF- β (pg/mL); Resistina (ng/mL); Leptina (ng/mL); Adiponectina (μ g/mL).
- Perfil inmunológico: CD4+, cociente CD4/CD8.
- Perfil virológico: genotipo del VHC, carga viral del VHC, logaritmo de la carga viral del VHC, VIH.

La carga viral media de los pacientes con VHC fue de $2.323.567 \pm 3.081.737$ copias/mm³ (mediana 786.781, rango [242.000 – 3.700.000]). El logaritmo de la carga viral fue de $5,68 \pm 1,42$ (mediana 5,89, rango [5,38 – 6,56]).

La distribución por genotipos del VHC fue la siguiente:

- Genotipo 1: 65 pacientes.
- Genotipo 3: 8 pacientes.
- Genotipo 4: 12 pacientes.
- Genotipo 2,4,5a: 1 paciente.

2.4. Variables obtenidas de pruebas de imagen

Todos los pacientes fueron sometidos a la realización de un análisis de composición corporal mediante una técnica de DEXA (absorciometría por rayos X de doble energía). Sistema Hologic QDR-2000 (Software v 5.54).

A partir de esta prueba se obtuvieron variables referidas a compartimentos grasos y magros (resultados en gramos), como se detalla a continuación:

- Compartimentos grasos analizados: grasa en brazos, grasa en piernas, grasa troncular, grasa total.
- Compartimentos magros analizados: masa magra en brazos, en piernas, en tronco y total.

2.5. Variables histológicas

Se analizaron 88 biopsias hepáticas de pacientes infectados por el VHC que iban a ser sometidos a tratamiento antiviral.

Las biopsias fueron revisadas y evaluadas por un solo anatomopatólogo, que desconocía los datos clínicos y biológicos de los pacientes. El grado de fibrosis y actividad necroinflamatoria se midieron según los sistemas de Knodell y Metavir.

La cuantificación histomorfométrica de la grasa y la fibrosis se midieron con un software específico (LeicaQWin, versión 3.0), obteniéndose un resultado final en porcentaje. Se procedió a la obtención de 8 campos a 10 aumentos en muestras teñidas con hematoxilina-eosina (para la cuantificación de la grasa) y con tricrómico de Masson (para la cuantificación de la fibrosis).

La media, mediana y rango intercuartílico de la grasa y la fibrosis fueron 2.51 ± 5.83 , mediana 0.35, rango [0.024 – 1.57]; y 8.25 ± 9.34 , mediana 5.30, rango [3.32 – 9.05], respectivamente.

Las variables relativas a la grasa y la fibrosis se convirtieron en variables dicotómicas según la presencia (n = 69) o ausencia (n = 15) de grasa y según fuesen superior (n = 42) o inferior a la mediana (n = 42); y según fuese superior (n = 42) o inferior a la mediana (n = 42) en el caso de la fibrosis (dado que todos los pacientes presentaron algún grado de fibrosis no se pudo realizar la comparación con un grupo que no presentase fibrosis en la biopsia). Se procedió de esta forma con el objetivo de analizar qué variables podrían asociarse a una mayor cantidad de grasa y fibrosis hepática.

Para cuantificar la actividad histológica y la fibrosis se emplearon los índices de Metavir y Knodell. En ambos casos se clasificaron la actividad y la fibrosis por encima y debajo de la mediana y según su presencia o ausencia.

3. GRUPOS DE PACIENTES

Se procedió a la elaboración de varios subgrupos de pacientes para el análisis de la grasa hepática. Con el resto de variables histológicas (actividad y fibrosis) se procedió a realizar un análisis considerando todos los pacientes.

A continuación se presentan varias características de los subgrupos analizados:

- Subgrupo VHC alcohólicos: 30 pacientes. El consumo medio de alcohol por día fue de 153.15 ± 64.33 g/día. El consumo de alcohol en años fue de 14.03 ± 8.31 años.
- Subgrupo VHC no alcohólicos: 58 pacientes.
- Subgrupo VHC varones: 62 pacientes.
- Subgrupo VHC mujeres: 26 pacientes.

- Subgrupo VHC coinfectados por VIH: 22 pacientes. Los pacientes coinfectados presentaron una media de linfocitos CD4⁺ de 586,32 ± 278,58 células/mm³, y un cociente CD4⁺/CD8⁺ de 0,67 ± 0,29.
- Subgrupo VHC no coinfectados por VIH: 66 pacientes.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con fines descriptivos y analíticos se procedió a expresar las variables cuantitativas en forma de medias y desviación estándar si presentaban una distribución normal, y como medias, desviación estándar, medianas y rangos intercuartílicos si presentaban una distribución no normal. La normalidad de una distribución se comprobó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra.

La primera parte del análisis estadístico consistió en un análisis univariante de la presencia o ausencia de esteatosis hepática y de su mayor o menor cantidad clasificada según la mediana, con cada uno de los grupos de variables analizados (citocinas proinflamatorias, adipoquinas, hormonas, compartimentos grasos, compartimentos magros, variables virológicas y variables bioquímicas hepáticas). El mismo análisis univariante se procedió a realizar con la fibrosis, cuantificada según la mediana y con la actividad histológica según los índices de Knodell y Metavir. Las variables continuas se compararon con el test de la t de Student o el test de la U de Mann-Whitney según la distribución fuera normal o no, respectivamente. Para comparar las variables cualitativas categóricas se empleó la prueba del χ^2 .

La segunda parte del análisis estadístico consistió en la realización de un análisis multivariante de las alteraciones histológicas (esteatosis, actividad y fibrosis), incluyendo las variables que en el análisis univariante tenían un valor de

$p < 0.05$, y aquéllas que, aún rozando el límite de la significación estadística, se consideró pudieran ejercer algún efecto modificador acorde a la literatura sobre el tema. Las variables se introdujeron en el modelo multivariante utilizando el método por pasos hacia delante de Wald.

Los datos obtenidos en el presente estudio fueron analizados mediante el programa SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences).

IV. RESULTADOS DESCRIPTIVOS

1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS PACIENTES

Se procede a una breve descripción de las características basales de los pacientes separados según el sexo. Destaca que las mujeres presentaron mayor edad media que los hombres y que no hubo diferencias significativas en cuanto al consumo de alcohol en el grupo de pacientes alcohólicos.

	Hombres	Mujeres	Z/T/ χ^2	P
Edad media	39.34 \pm 8.03	44.21 \pm 10.29	T 2.45	0.03
Alcohol (sí/no)	25/60	8/28	χ^2 0.55	0.45
Gramos OH/día	62.48 \pm 86.17 0 [0 - 150]	40.69 \pm 76.38 0 [0 - 50]	Z 1.18	0.23
Años OH	5.26 \pm 8.3	4.41 \pm 8.54	Z 0.85	0.39
VIH	15/60	7/28	χ^2 0	0.99

Tabla 1: características basales de los pacientes.

2. CITOCINAS Y MDA

Hemos encontrado niveles significativamente elevados de interleuquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-8) en nuestros pacientes. En cambio, la IL-6 (aún cuando ejerciendo efectos proinflamatorios se puede considerar como una citocina inmunomoduladora) presenta niveles significativamente más bajos en pacientes que en controles. También las citocinas derivadas de las Th1 (INF- γ) y de las Th2 (IL-4) estaban significativamente más elevadas en pacientes que en controles.

El MDA, un producto de peroxidación lipídica, se encontró significativamente más elevado en los pacientes que en los controles.

El TGF- β , citocina central implicada en procesos fibrogénicos, estaba significativamente más elevada en pacientes que en controles.

	Pacientes	Controles	Z, T	P
IL-4 (pg/mL)	13.3 ± 17.05 8.3 [7.9-10.9]	0.48 ± 0.43 0.49 [0.19-0.65]	6.02	0.000
IL-6 (pg/mL)	4.42 ± 4.90 2 [2-5]	5.90 ± 1.64 5 [5-6.6]	4.35	0.000
IL-8 (pg/mL)	13.6 ± 9.27 10.7 [7.92-16.2]	6.37 ± 1.52 6.07 [5-7.4]	3.61	0.000
TNF-α (pg/mL)	11.12 ± 7.13 9.68 [6.92-13.2]	6.05 ± 1.90 5.2 [4.4-8]	4.4	0.000
INF-γ (pg/mL)	5.15 ± 2.13 4.63 [4.05-6.04]	0.69 ± 0.54 0.62 [0.32-1.02]	T 15.5	0.007
MDA (μM)	3.51 ± 2.92 2.48 [1.16-6.17]	1.72 ± 1.17 1.14 [0.74-2.26]	T 2.08	0.037
TGF-β (pg/mL)	181.65 ± 83	124.49 ± 66.25	T 2.56	0.012

Tabla 2: niveles de citocinas y MDA en pacientes y controles.

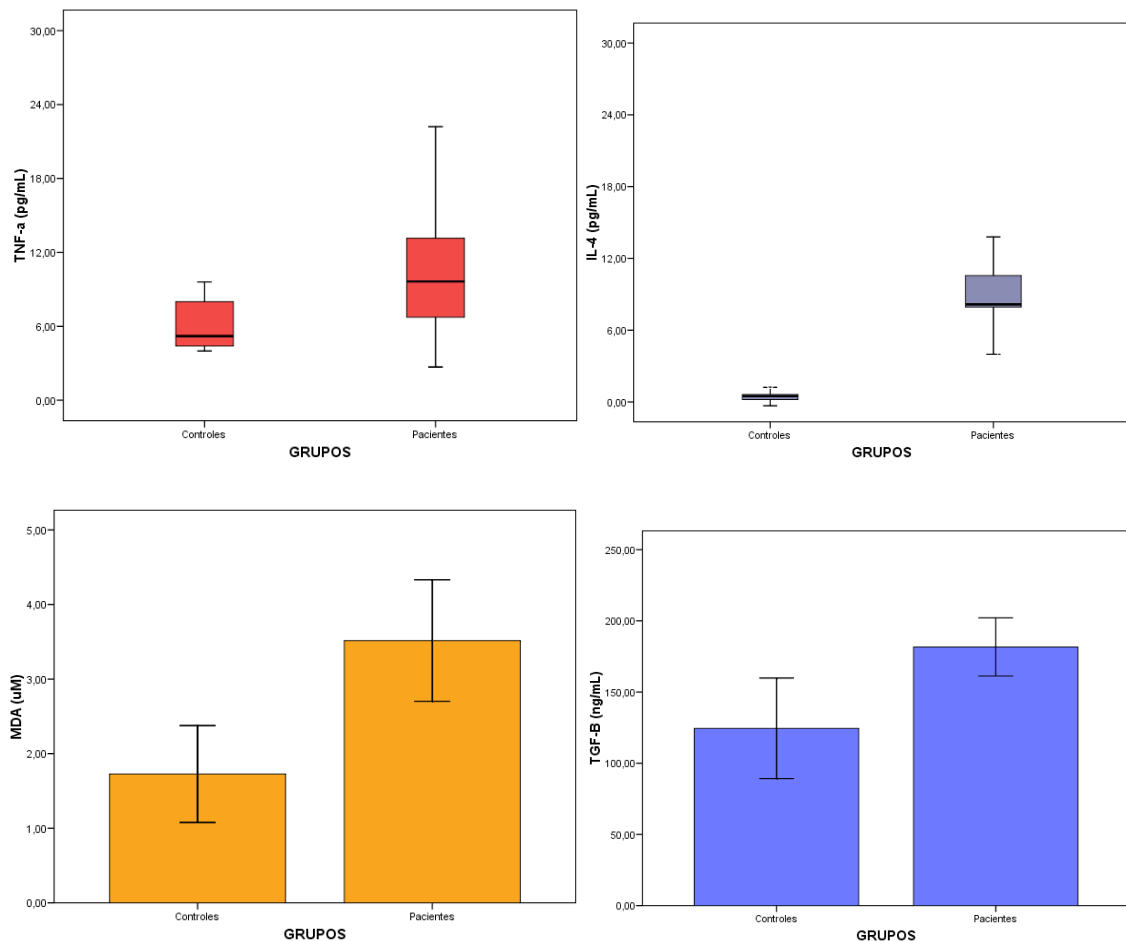


Gráfico 1: niveles de citocinas y MDA en pacientes y controles.

Al analizar los niveles de citocinas en los diferentes grupos (separados por sexo, alcoholismo y coinfección por VIH), encontramos una tendencia hacia la significación del TNF- α , más elevado en el grupo de mujeres y de coinfectados; y del MDA, más elevado en el grupo de hombres sin llegar a la significación estadística. No observamos diferencias significativas en los niveles de citocinas al clasificar a los pacientes según fuesen o no alcohólicos.

	Varones	Mujeres	Z	P
TNF-α (pg/mL)	11.04 \pm 8.13 9.52 [6.39 – 12.25]	11.63 \pm 4.53 10.6 [8.04 – 14.45]	1.73	0.08
MDA (μM)	3.97 \pm 3.10 2.85 [1.24 – 6.43]	2.14 \pm 1.78 1.33 [0.85 – 3.08]	1.82	0.068 (NS)

	VHC no VIH	VHC VIH	Z	P
TNF-α (pg/mL)	10.26 \pm 5.11 9.57 [6.57 – 12.05]	14.27 \pm 11.06 10.68 [8.52 – 15.22]	1.87	0.06

Tabla 3: niveles de citocinas y MDA en subgrupos.

Al analizar la relación que las citocinas y MDA podían guardar con el resto de variables analizadas, encontramos que TNF- α guardó una relación con la resistencia insulínica (medida por el índice HOMA), la carga viral y las enzimas de citolisis hepática; IL-6 guardó relación inversa con MDA, varias hormonas y el tejido magro total, e INT- γ una relación inversa con el cortisol, como se muestra en la siguiente tabla. Destacar que las citocinas no se relacionaron con ninguna adipoquina ni con la grasa troncular (interpretando que esta última contiene la grasa visceral y podría ser fuente de varias citocinas).

RELACIONES DE LAS CITOCINAS Y MDA	
Citocinas	IL-6 con MDA (ρ -0.35, p 0.01) IL8 con TNF- α (ρ 0.44, p 0.01)
Hormonas	TNF- α con insulina (ρ 0.26, p 0.03) TNF- α con HOMA (ρ 0.28, p 0.02) IL-8 con IGF-1 (ρ -0.38, p 0.04) IL-6 con T4 (ρ -0.27, p 0.001) IL-6 con calcitriol (ρ -0.29, p 0.02) IL-6 con calcidiol (ρ -0.28, p 0.02) INT- γ con cortisol (ρ -0.34, p 0.006)
Compartimentos	IL-8 con grasa brazos (ρ 0.41, p 0.03) MDA con grasa brazos (ρ 0.31, p 0.03) IL-6 con tejido magro total (ρ -0.24, p 0.04)
Bioquímica hepática	TNF- α con GOT (ρ 0.27, p 0.01) TNF- α con GPT (ρ 0.28, p 0.008) MDA con GPT (ρ 0.33, p 0.02)
Carga viral	TNF- α con logCV (ρ 0.21, p 0.05)

Tabla 4: relaciones significativas de las citocinas con el resto de variables.

3. ADIPOQUINAS, INSULINA Y TIMP-1

Con respecto a las adipoquinas y hormonas relacionadas con el metabolismo graso hemos encontrado que los pacientes presentaron niveles significativamente más bajos de adiponectina y más elevados de TIMP que los controles, no observándose diferencias significativas en lo que respecta a la insulina, la leptina y la resistina.

	Pacientes	Controles	Z	P
Resistina (ng/mL)	5.04 \pm 2.17 4.90 [3.91 – 5.57]	4.28 \pm 1.42 4.97 [3.32 – 5.29]	0.74	0.46
Adiponectina (μg/mL)	14.06 \pm 11.29	24.92 \pm 21.84	T 2.8	0.006
Leptina (ng/mL)	12.77 \pm 15.51 6.23 [1.60 – 16.57]	18.41 \pm 16.03 12.89 [4.65 – 34.42]	1.28	0.20
Insulina (μU/mL)	12.75 \pm 14.78 8.09 [4.66 – 14.72]	8.34 \pm 4.34 7.15 [5.08-10.63]	0.58	0.56
TIMP-1 (ng/mL)	438.75 \pm 53.02	100.61 \pm 23.84	T 38.25	0.000

Tabla 5: niveles de adipoquinas y TIMP-1 en pacientes y controles.

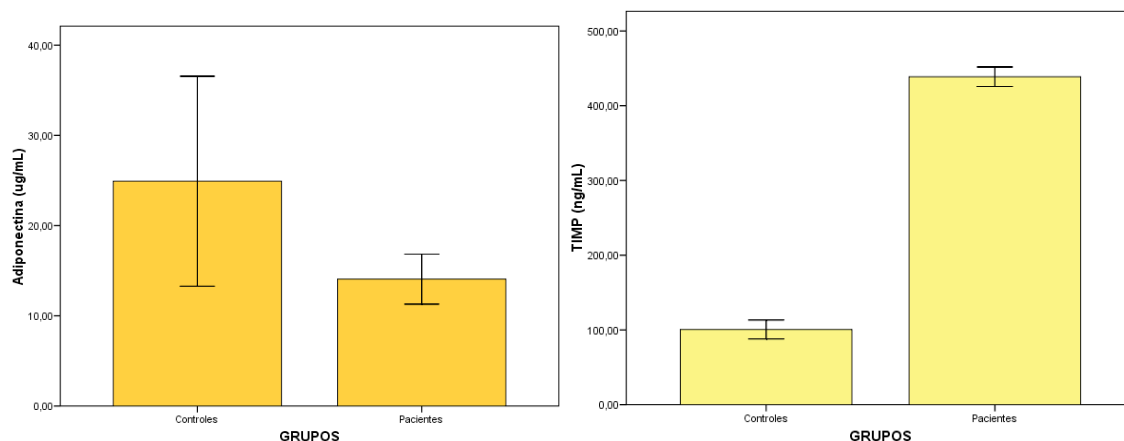


Gráfico 2: niveles de adiponectina y TIMP-1 en pacientes y controles.

Al analizar los niveles de adipoquinas, insulina y TIMP-1 en los diferentes grupos de pacientes (separados por sexo, alcoholismo y coinfección por VIH), encontramos que las mujeres presentaron niveles más elevados de insulina, adiponectina y leptina, y niveles más bajos de resistina (con una tendencia significativa) que los hombres. Por otra parte, los pacientes alcohólicos mostraron unos niveles más elevados de TIMP-1 que rozaban la significación estadística. Los pacientes coinfectados mostraron niveles más bajos de adiponectina en comparación con los no coinfectados.

	Varones	Mujeres	Z	P
Insulina (μU/mL)	10.65 \pm 11.04 6.8 [3.86 – 14.65]	16.19 \pm 19.19 11.49 [7.83 – 15.69]	2.30	0.02
Resistina (ng/mL)	5.44 \pm 2.51 5 [4.11 – 5.94]	4.37 \pm 1.21 4.81 [3.55 – 5.21]	1.78	0.074 (NS)
Adiponectina (μg/mL)	11.65 \pm 9.77	18.08 \pm 12.65	T 2.14	0.038
Leptina (ng/mL)	9.55 \pm 14.84 2.4 [0.92 – 10.22]	18.02 \pm 15.41 10.39 [6.04 – 31.9]	3.35	0.001

	VHC no alcohólicos	VHC alcohólicos	Z	P
TIMP-1 (ng/mL)	434.67 ± 56.66	448.11 ± 43.37	T 0.94	0.063 (NS)

	VHC no VIH	VHC VIH	Z	P
Adiponectina (µg/mL)	15.76 ± 12.14	8.73 ± 5.52	T 3.19	0.026

Tabla 6: niveles de adipoquinas en diferentes subgrupos.

Al analizar la relación que las adipoquinas guardaron con el resto de variables, encontramos que adiponectina se relacionó de forma inversa con el IMC, mientras que leptina e insulina lo hicieron de forma directa. De hecho, estas dos moléculas se relacionaron de forma significativa con el resto de compartimentos grasos y la grasa total. Destacar también que la adiponectina se relacionó de forma inversa con varios compartimentos musculares. Destacar, como ya comentamos antes, que ninguna adipoquina se relacionó con ninguna citocina.

RELACIONES DE ADIPOQUINAS, INSULINA Y TIMP-1	
Hormonas	TIMP-1 con insulina (ρ 0.28, p 0.002) TIMP-1 con HOMA (ρ 0.27, p 0.03) TIMP-1 con IGF-1 (ρ -0.46, p 0.00) Leptina con insulina (ρ 0.38, p 0.002)
Compartimentos grasos	TIMP-1 con grasa brazos (ρ 0.34, p 0.001) Adiponectina con IMC (ρ -0.25, p 0.05) Leptina con IMC (ρ 0.42, p 0.00) Leptina con grasa brazos (ρ 0.27, p 0.04) Leptina con grasa piernas (ρ 0.67, p 0.00) Leptina con grasa tronco (ρ 0.58, p 0.00) Leptina con grasa total (ρ 0.62, p 0.00) Insulina con IMC (ρ 0.40, p 0.001) Insulina con grasa brazos (ρ 0.49, p 0.00) Insulina con grasa piernas (ρ 0.43, p 0.00) Insulina con grasa tronco (ρ 0.46, p 0.00)
Compartimentos magros	Adiponectina con perímetro braquial (ρ -0.31, p 0.01)

	Adiponectina con masa brazos (ρ -0.41, p 0.002) Adiponectina con masa tronco (ρ -0.39, p 0.003) Adiponectina con masa total (ρ -0.39, p 0.002) Leptina con perímetro braquial (ρ 0.27, p 0.04)
Bioquímica hepática	TIMP-1 con GOT (ρ 0.42, p 0.00) TIMP-1 con GPT (ρ 0.27, p 0.03) TIMP-1 con GGT (ρ 0.29, p 0.02) Insulina con GGT (ρ 0.44, p 0.00) Adiponectina con GGT (ρ -0.28, p 0.02)

Tabla 7: relaciones de adipoquinas, TIMP-1 e insulina con el resto de variables. Otras relaciones significativas se muestran en tablas anteriores.

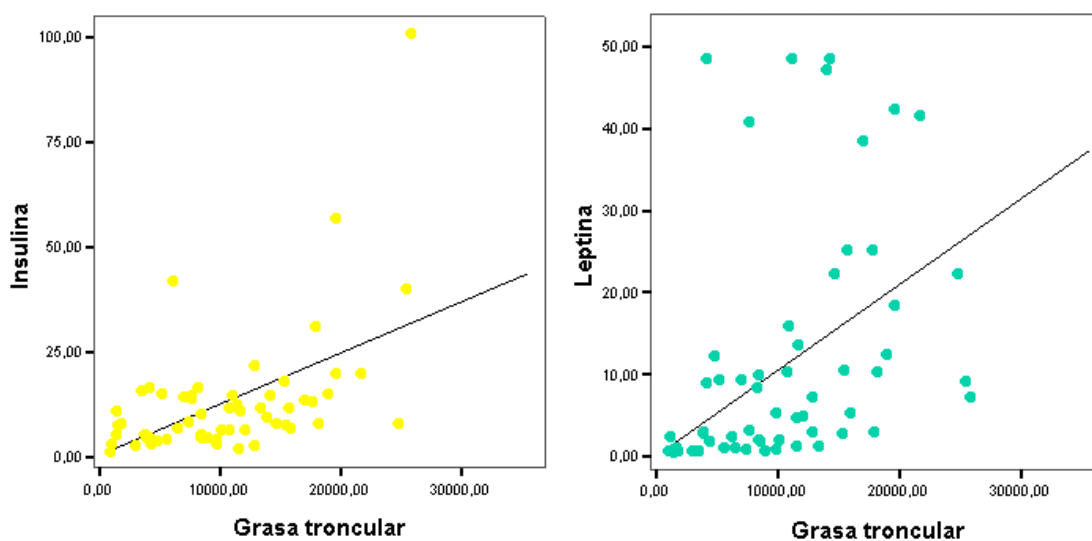


Gráfico 3: curvas de regresión de la grasa troncular con insulina y leptina.

4. HORMONAS

Los pacientes mostraron de forma significativa niveles más disminuidos de calcitriol y testosterona que los controles.

	Pacientes	Controles	Z, T	P
IGF-1 (ng/mL)	126.40 ± 38.56 123.75 [96.75-166.50]	135.78 ± 79.46 111 [88.20-179]	0.19	0.84
Cortisol (µg/mL)	18.56 ± 5.44	17.30 ± 8.27	T 0.49	0.62
Calcitriol (pg/mL)	50.68 ± 17.40 50 [38.50-60.50]	84.02 ± 28.30 79.86 [55.01-113.88]	T 5.27	< 0.001
Testosterona (ng/mL)	18.87 ± 2.98 19.31 [15.68-20.92]	5.58 ± 4.58 5.47 [0.59-8.40]	T 8.42	< 0.001

Tabla 8: niveles de hormonas en pacientes y controles.

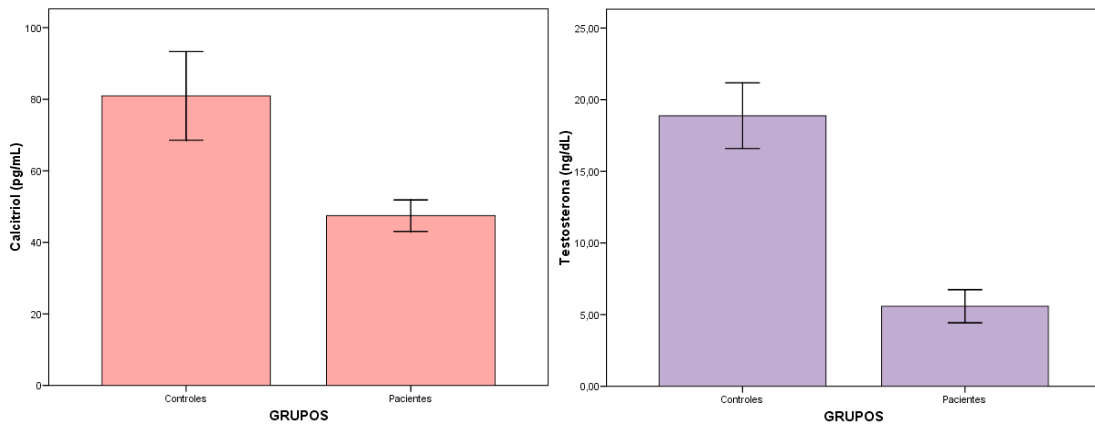


Gráfico 4: niveles de calcitriol y testosterona en pacientes y controles.

Al comparar los niveles de hormonas en los diferentes subgrupos se encontró que los niveles de testosterona estaban más elevados en varones y los de estradiol en mujeres. También se observó que los niveles de calcitriol (25(OH)VitD) estaban más elevados en el grupo de pacientes alcohólicos.

	Varones	Mujeres	Z	P
Testosterona (ng/mL)	7.59 ± 3.79	0.92 ± 2.22	T 8.7	< 0.001
Estradiol (pg/mL)	29.40 ± 12.40	60.57 ± 61.72	Z 2.56	0.01

	VHC no alcohólicos	VHC alcohólicos	T	P
Calcidiol (pg/mL)	45.01 ± 17.27	53.92 ± 19.39	2.05	0.04

Tabla 9: niveles de hormonas en subgrupos.

Al analizar la relación que las hormonas guardaron con el resto de variables observamos que el IGF-1 se relacionó de forma inversa con la grasa en brazos y tronco. Por su parte, la testosterona se relacionó de forma inversa con todos los compartimentos grasos, y de forma directa con todos los compartimentos magros. Destacó también una relación inversa entre el calcidiol y el IMC. Exponemos los resultados en la siguiente tabla:

RELACIONES DE LAS HORMONAS	
Compartimentos grasos	IGF-1 con grasa brazos (ρ -0.33, p 0.004) IGF-1 con grasa tronco (ρ -0.27, p 0.02) IGF-1 con grasa total (ρ -0.23, p 0.04) Cortisol con grasa piernas (ρ -0.24, p 0.04) Calcidiol con IMC (ρ -0.24, p 0.04) Testosterona con grasa brazos (ρ -0.27, p 0.04) Testosterona con grasa piernas (ρ -0.51, p 0.00) Testosterona con grasa tronco (ρ -0.45, p 0.00) Testosterona con grasa total (ρ -0.47, p 0.00)
Compartimentos magros	Testosterona con masa brazos (ρ 0.53, p 0.00) Testosterona con masa piernas (ρ 0.45, p 0.00) Testosterona con masa tronco (ρ 0.48, p 0.00) Testosterona con masa total (ρ 0.53, p 0.00) Estradiol con masa piernas (ρ -0.33, p 0.005) Estradiol con masa tronco (ρ -0.33, p 0.005) Estradiol con masa total (ρ -0.28, p 0.02) Calcitriol con masa piernas (ρ 0.24, p 0.03)

Bioquímica hepática	IGF-1 con albúmina (ρ 0.34, p 0.002) IGF-1 con GOT (ρ -0.50, p 0.00) IGF-1 con GGT (ρ -0.43, p 0.00)
----------------------------	--

Tabla 10: relaciones significativas de hormonas con el resto de variables. Otras relaciones significativas se muestran en tablas anteriores.

5. COMPARTIMENTOS GRASOS E IMC

Los pacientes presentaban un adecuado estado de nutrición, con una proporción de grasa similar a los controles, pero con IMC significativamente inferior al de éstos, como se muestra en la tabla:

	Controles	Pacientes	T	P
IMC (kg/m²)	25.90 ± 3.42	24.02 ± 3.48	2.84	0.006
Grasa total (g)	21443.10 ± 6393.37	19279 ± 11791.87	0.82	0.41
Grasa brazos (g)	1436.04 ± 441.90	1047.27 ± 759.56	1.64	0.10
Grasa piernas (g)	3311.49 ± 870.69	3191.69 ± 2132.80	0.13	0.89
Grasa troncular (g)	11430.95 ± 3067.35	9824.80 ± 5995.65	0.81	41

Tabla 11: compartimentos grasos en pacientes y controles.

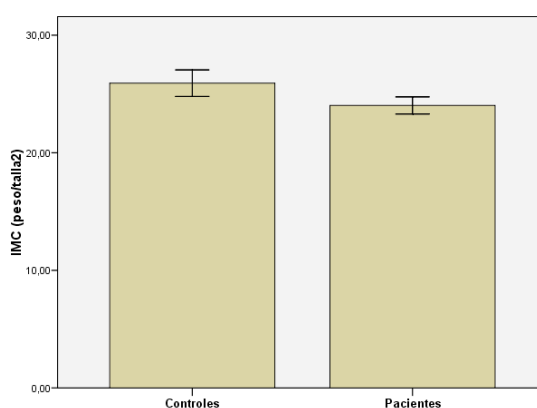


Gráfico 5: IMC entre pacientes y controles.

Al comparar los compartimentos grasos y el IMC en los diferentes subgrupos se encontró que el IMC, la grasa troncular y el pliegue tricéptico fue

superior en el grupo de las mujeres. En los grupos separados por alcoholismo y coinfección no se encontraron diferencias significativas.

	VHC varones	VHC mujeres	T	P
IMC (kg/m²)	23.85 ± 3.07	24.38 ± 4.11	0.61	0.05
Grasa piernas (g)	2542.62 ± 1656.71	4733.23 ± 2369.74	4.12	0.00
Grasa troncular (g)	8378.02 ± 5065.33	13260.93 ± 6712.48	3.58	0.01
Pliegue tríceps (mm)	5.98 ± 5.90 5 [3 – 6.75]	9.35 ± 8.37 7 [4 - 9]	Z 2.77	0.00 5

Tabla 12: compartimentos grasos en VHC varones y mujeres.

Al analizar la relación que los compartimentos grasos guardaron con el resto de variables (varias de las cuales hemos comentado ya), encontramos que el IMC y la grasa en brazos se relacionaron con la GGT y la FA.

RELACIONES DE LOS COMPARTIMENTOS GRASOS E IMC	
Bioquímica hepática	IMC con GGT (ρ 0.23, p 0.03) IMC con FA (ρ 0.24, p 0.02) Grasa brazos con FA (ρ 0.24, p 0.03)

Tabla 13: relaciones significativas de compartimentos grasos e IMC con bioquímica hepática. Otras relaciones significativas se muestran en tablas anteriores.

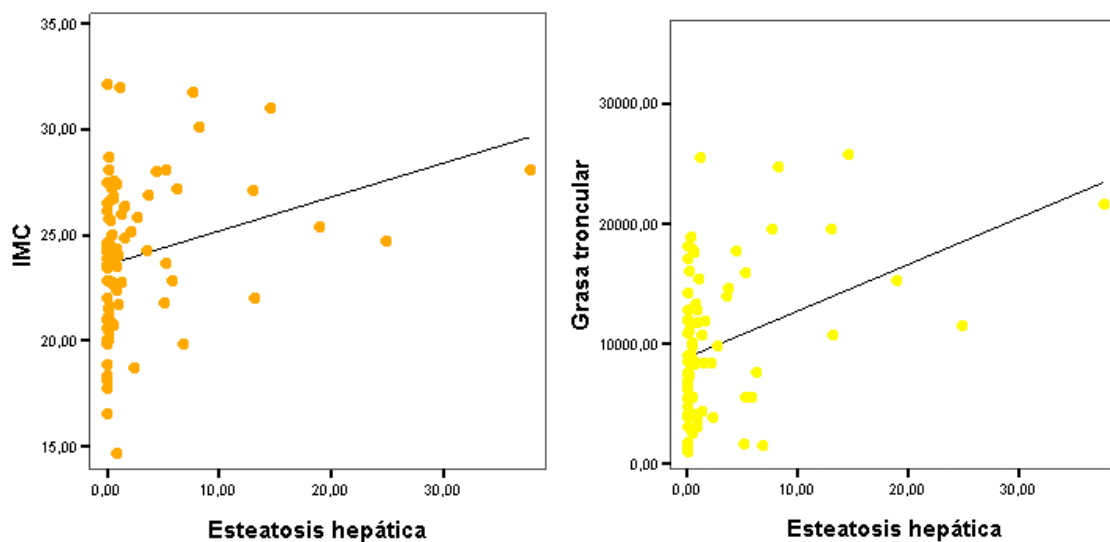


Gráfico 6: curvas de regresión entre esteatosis hepática con IMC y grasa troncular.

6. COMPARTIMENTOS MAGROS

No hubo diferencias en cuanto a la masa magra total entre pacientes y controles.

	Controles	Pacientes	T	P
Masa magra total (g)	50130.55 ± 15796.49	48636.52 ± 8528.78	0.50	0.66
Masa troncular (g)	24143.5 ± 2684.03	24226.39 ± 4189.18	0.28	0.78
Masa brazos (g)	2703.66 ± 740.40	2910.36 ± 917.37	0.40	0.68
Masa piernas (g)	7524.5 ± 1437.26	7497.35 ± 1512.70	0.1	0.99

Tabla 14: comparación de compartimentos magros entre controles y pacientes.

Al comparar los compartimentos magros en los diferentes subgrupos se observó que todas las variables analizadas fueron significativamente superiores en el grupo de hombres al compararlo con las mujeres. En los pacientes alcohólicos y coinfectados no hubo diferencias significativas al compararlos con los no alcohólicos y no coinfectados.

	VHC varones	VHC mujeres	T, Z	P
Masa magra total (g)	52650.63 ± 6385.56	39270.26 ± 4644.09	9.25	< 0.001
Masa magra brazos (g)	3310.40 ± 775.49	1976.94 ± 392.06	7.97	< 0.001
Masa magra piernas (g)	8146.87 ± 1241.52	5981.80 ± 865.93	7.75	< 0.001
Masa magra troncular (g)	26001.59 ± 3407.06	20084.25 ± 2633.33	7.58	< 0.001
Perímetro braquial (cm)	26.36 ± 3.18	24.53 ± 4.83	2.11	0.04
Área muscular brazo (cm²)	15.05 ± 15.96	4.63 ± 5.29	Z 3.65	< 0.001

Tabla 15: comparación de compartimentos magros entre VHC varones y mujeres.

Al analizar las relaciones de los compartimentos magros con el resto de variables destacó la que guardó el tejido magro troncular con las enzimas hepática.

CORRELACIONES DE LOS COMPARTIMENTOS MAGROS	
Bioquímica hepática	Bilirrubina (ρ 0.29, p 0.01) GOT (ρ 0.26, p 0.02) GGT (ρ 0.25, p 0.02)

Tabla 16: relaciones de compartimentos magros con variables hepáticas. Otras relaciones significativas se muestran en tablas anteriores.

7. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS HEPÁTICOS

Al comparar los parámetros bioquímicos hepáticos en los diferentes subgrupos se observaron diferencias significativas en las siguientes variables:

	Varones	Mujeres	Z	P
Bilirrubina (mg/dL)	1.01 ± 1.02 0.7 [0.5-1.02]	0.65 ± 0.27 0.6 [0.5-0.85]	1.99	0.05
GPT (U/L)	76.11 ± 50.61 58.5 [44-98.25]	65.21 ± 71.77 39 [27.5-81]	2.44	0.02

	VHC no alcohólicos	VHC alcohólicos	Z	P
Bilirrubina (mg/dL)	0.74 ± 0.52 0.6 [0.5-0.8]	1.17 ± 1.24 0.8 [0.55-1.2]	2.57	0.01
GGT (U/L)	84.10 ± 83.04 55 [31.75-109.25]	146.24 ± 161.49 109 [38.5-169]	2.15	0.03
FA (U/L)	79.04 ± 23.62 78.5 [58.75-93]	107.88 ± 60.22 87 [75.5-119.25]	2.47	0.01

	Coinfectados	No coinfectados	Z	P
GGT (U/L)	147.18 ± 109.60 125 [56.50-210.25]	93.71 ± 121.80 55 [30.5-111.5]	3.12	0.002

Tabla 17: parámetros bioquímicos hepáticos en diferentes grupos.

8. HISTOPATOLOGÍA HEPÁTICA

No hubo diferencias en cuanto al valor absoluto del índice de Knodell, ni en cuanto a la actividad o la fibrosis valoradas por los índices de Knodell y Metavir en los diferentes grupos (separados por sexo, alcoholismo y coinfección por VIH). Tampoco en cuanto al porcentaje de esteatosis y fibrosis hepática. Mostramos únicamente a continuación la tabla al clasificar a los pacientes por el sexo:

	VHC hombres	VHC mujeres	Z	P
Índice de Knodell	5.98 ± 2.67 5 [5 – 8]	5.72 ± 2.52 5 [5 – 7.5]	0.041	0.96
Actividad Metavir	1.20 ± 0.66 1 [1-2]	1.10 ± 0.67 1 [1-2]	0.57	0.56
Actividad Knodell	1.55 ± 1.03 1 [1-3]	1.37 ± 0.97 1 [1-2]	0.78	0.43
Fibrosis Metavir	1.59 ± 0.87 1 [1-2]	1.89 ± 1.13 1 [1-3]	1.02	0.30
Fibrosis Knodell	1.52 ± 0.97 1 [1-1]	1.62 ± 1.14 1 [1-3]	0.22	0.82
% grasa	1.79 ± 4.01 0.28 [0.03 – 1.37]	4.04 ± 8.39 0.51 [0.01 – 3.55]	0.61	0.53
% fibrosis	7.69 ± 7.99 5.5 [5.5 – 8.85]	9.45 ± 11.78 4.5 [3.3 - 11]	0.05	0.95

Tabla 18: comparación de índices histológicos, esteatosis y fibrosis en ambos sexos.

9. GENOTIPO VIRAL

No se observaron diferencias en cuanto a la distribución de genotipos o el logaritmo de la carga viral entre varones y mujeres. Sí se observaron una cifra más elevada del logaritmo de la carga viral en pacientes no alcohólicos frente a alcohólicos. No hubo diferencias en cuanto a carga viral en pacientes coinfectados con VIH.

	Varones VHC	Mujeres VHC	Z	P
Genotipo	1 = 49 3 = 4 4 = 8	1 = 20 3 = 4 4 = 4		
LogCV	5.55 ± 1.65 5.84 [5.37-6.53]	5.96 ± 0.66 5.93 [5.42-6.60]	0.43	0.66

Tabla 19: distribución de los genotipos por sexo y logCV.

	VHC alcohólicos	VHC no alcohólicos	Z	P
LogCV	5.09 ± 2.07 5.61 [4.99-6.35]	6.01 ± 0.69 5.96 [5.52-6.64]	1.94	0.05

Tabla 20: diferencias significativas en logCV entre alcohólicos y no alcohólicos.

V. RESULTADOS ANALÍTICOS

1. ESTEATOSIS HEPÁTICA

Como comentamos en la sección anterior, procedimos a cuantificar la grasa hepática en 84 pacientes. La media, mediana y rango intercuartílico de la grasa presente en las biopsias fue de 2,52, 0,36 y [0,024 - 1,57], respectivamente. Debe destacarse que 15 de nuestros pacientes no presentaban esteatosis en absoluto.

En el caso de la esteatosis hepática procedimos a su análisis en todos los pacientes y por subgrupos separados por sexo, alcoholismo y coinfección por el VIH.

Es destacable que al considerar la presencia (n = 69) o ausencia (n = 15) de esteatosis en las biopsias, sólo 1 de 28 (3%) pacientes alcohólicos frente a 14 de 56 (25%) no alcohólicos se encontraba en esta situación ($\chi^2 = 5.77$, $p = 0.016$). No observamos diferencias al clasificar los pacientes por sexo, alcohol o coinfección por VIH.

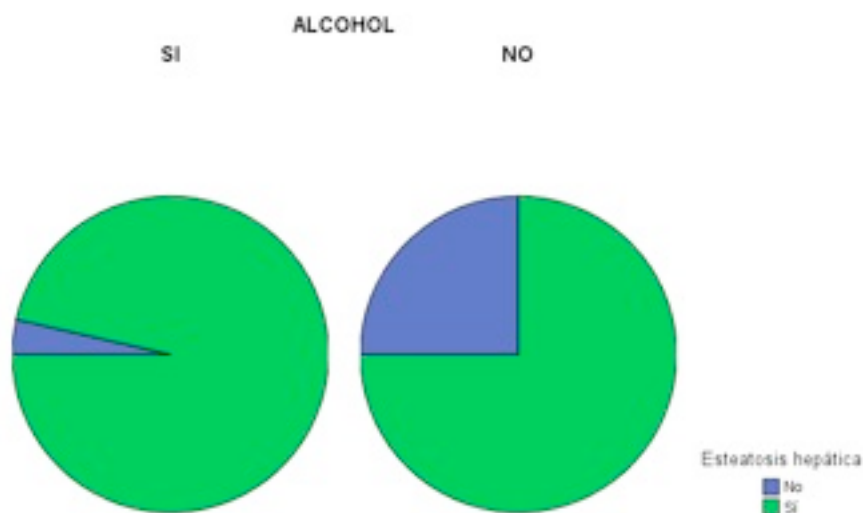


Gráfico 1: pacientes alcohólicos con esteatosis y sin esteatosis hepática.

1.1. Esteatosis hepática y citocinas proinflamatorias

El TNF- α y la IL-6 mostraron una relación estadísticamente significativa con el porcentaje de esteatosis hepática. Esta asociación se mantuvo en el grupo de las mujeres. Una relación inversa y significativa entre grasa hepática y INT- γ se observó en el grupo de no coinfectados.

CORRELACIONES ESTEATOSIS HEPÁTICA	
Todos los pacientes	TNF- α (ρ 0.24, p 0.03) IL-6 (ρ 0.22, p 0.04)
Varones	
Mujeres	TNF- α (ρ 0.44, p 0.02) IL-6 (ρ 0.43, p 0.03)
Alcohólicos	
No alcohólicos	
Coinfectados VIH	
No coinfectados	INF- γ (ρ -0.31, p 0.04)

Tabla 1: correlaciones entre esteatosis hepática y citocinas en todos los pacientes y subgrupos.

Al clasificar la esteatosis hepática por encima y debajo de la mediana no hubo diferencias significativas en los niveles de citocinas.

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	Z, T	P
TNF-α (pg/mL)	12.91 \pm 9.37 10.18 [7.43-14.42]	9.79 \pm 3.66 9.54 [6.95-11.85]	1.42	0.15
IL-6 (pg/mL)	4.88 \pm 5.39 2 [2-5.77]	3.31 \pm 3.79 2 [2-2.09]	1.31	0.18
IL-8 (pg/mL)	14 \pm 10.74	13.66 \pm 9.52	T 0.08	0.93
INT-γ (pg/mL)	5.40 \pm 2.46 4.70 [4.05-5.89]	5.21 \pm 1.54 4.78 [4.2-6.16]	0.46	0.64
IL-4 (pg/mL)	15.24 \pm 19.59 8.3 [7.88-11.18]	12.50 \pm 15.29 8.39 [7.88-11.57]	0.26	0.79
MDA (μM)	3.82 \pm 3.36	3.82 \pm 3.36	T 0.78	0.44
TGF-β (pg/mL)	161.10 \pm 64.55	194.88 \pm 95.21	T 1.65	0.10

Tabla 2: comparación entre grasa hepática clasificada según la mediana y niveles de citocinas.

A pesar de que no se observaron diferencias en los niveles de TNF- α cuando se clasificó la grasa según la mediana, sí se observó una diferencia significativa en los niveles de dicha citocina cuando la grasa se clasificó por cuartiles, mostrando unos niveles más elevados en el grupo del percentil75. Dicha diferencia también se observó con la IL-6.

	Esteatosis P75	Esteatosis P25	Z	P
TNF-α (pg/mL)	15.52 \pm 11.34 12.70 [9.8-15.15]	10.04 \pm 4.58 9.05 [6.95-11.95]	2.70	0.007
IL-6 (pg/mL)	7.07 \pm 6.35 5.17 [2-10.80]	3.10 \pm 3.53 2 [2-2]	3.92	0.00

Tabla 3: comparación entre grasa hepática clasificada según cuartiles y citocinas proinflamatorias.

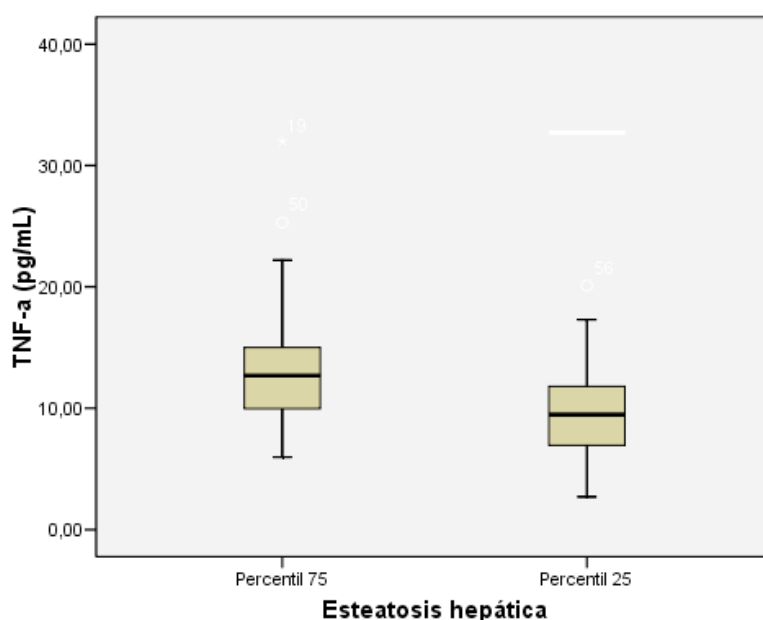


Gráfico 2: niveles de TNF- α en esteatosis clasificada según percentiles

Al clasificar la esteatosis hepática según su presencia o ausencia no encontramos diferencias significativas con las citocinas analizadas ni con el MDA.

	Esteatosis SI (n 64)	Esteatosis NO (n 15)	Z, T	P
TNF-α (pg/mL)	11.83 \pm 7.80 9.85 [7.43-13.75]	9.13 \pm 3.02 8.46 [6.95-10.70]	1.33	0.18
IL-6 (pg/mL)	4.11 \pm 4.71 2 [2-3.11]	3.80 \pm 4.56 2 [2-2.62]	0.23	0.81
IL-8 (pg/mL)	14.74 \pm 10.54	8.82 \pm 4.10	T 1.09	0.29
INT-γ (pg/mL)	5.28 \pm 2.10	5.48 \pm 1.99	0.87	0.38

	4.63 [4.2-5.93]	4.93 [4.34-6.16]		
IL-4 (pg/mL)	14.84 ± 19.12 8.3 [7.93-11.61]	9.41 ± 4.22 8.49 [7.93-10.66]	0.23	0.81
MDA (µM)	3.74 ± 3.03	2.43 ± 2.18	T 1.23	0.23
TGF-β (pg/mL)	167.52 ± 69.15	220.42 ± 118.48	T 1.42	0.17

Tabla 4: comparación entre grasa hepática clasificada según su presencia o ausencia y niveles de citocinas

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de citocinas proinflamatorias con la esteatosis hepática clasificada según la mediana o según presentasen o no algún grado de esteatosis en los diferentes grupos separados por sexo, alcoholismo y VIH no encontramos diferencias significativas.

En el análisis multivariante que se realizó entre las citocinas analizadas y la esteatosis clasificada según la mediana no encontramos relaciones significativas. Al realizar dicho análisis con la grasa clasificada en cuartiles observamos que tanto TNF-α como IL-6 guardaron una relación significativa e independiente con la grasa hepática.

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1	IL6	-,232	,097	5,714	1	,017	,793
	Constante	2,005	,450	19,843	1	,000	7,428
Paso 2	TNFα	-,203	,081	6,243	1	,012	,816
	IL6	-,184	,077	5,689	1	,017	,832
	Constante	4,315	1,098	15,455	1	,000	74,795

Tabla 5: análisis multivariante entre esteatosis hepática clasificada en cuartiles y citocinas proinflamatorias.

1.2. Esteatosis hepática, adipoquinas, TIMP-1 e insulina

Insulina y HOMA mostraron una relación significativa con el porcentaje de esteatosis hepática. Al clasificar los pacientes en grupos observamos que la relación entre la insulina y la esteatosis se mantuvo en el grupo VIH, mientras que la del HOMA, en el grupo de mujeres, no alcohólicos y VIH. En los pacientes alcohólicos observamos una relación significativa entre esteatosis hepática y TIMP-1.

CORRELACIONES	
Todos	Insulina (ρ 0.26, p 0.04) HOMA (ρ 0.30, p 0.02)
Hombres	
Mujeres	HOMA (ρ 0.30, p 0.05)
Alcohólicos	TIMP-1 (ρ 0.50, p 0.02)
No alcohólicos	HOMA (ρ 0.30, p 0.03)
Coinfectados VIH	Insulina (ρ 0.60, p 0.02) HOMA (ρ 0.59, p 0.02)
No coinfectados	

Tabla 6: correlaciones entre adipocinas y esteatosis en todos los pacientes y en subgrupos.

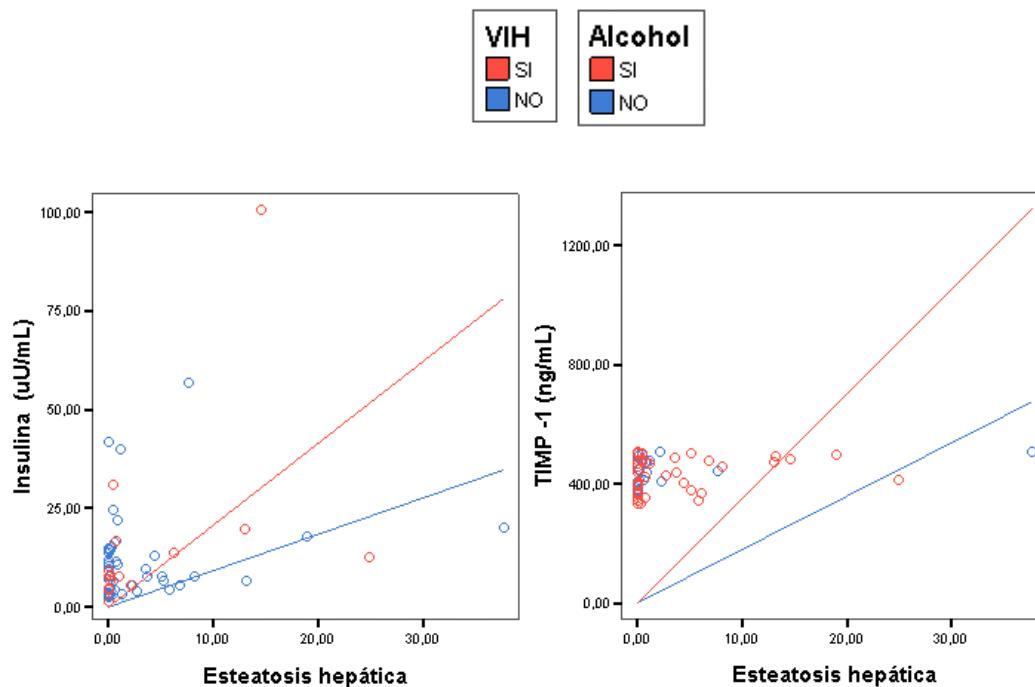


Gráfico 3: correlaciones entre insulina y esteatosis hepática en pacientes coinfectados y no coinfectados; y entre TIMP-1 y esteatosis hepática en alcohólicos y no alcohólicos.

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de adipocinas y la esteatosis hepática clasificada según la mediana observamos diferencias significativas con los niveles de TIMP-1, además de una tendencia hacia la significación de la resistina.

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	Z, T	P
Insulina (μU/mL)	16.35 ± 18.98 10.9 [5.98-18.82]	8.89 ± 7.70 7.79 [3.66-12.72]	2.17	0.03
HOMA	1668.43 ± 2533.59	816.02 ± 722.53	2.43	0.01
Adiponectina (μg/mL)	13.74 ± 11.03	13.58 ± 9.69	T 0.05	0.95
Leptina (ng/mL)	12.61 ± 14.17 7.19 [1.91-20.32]	13.31 ± 17.75 3.57 [0.90-14.22]	0.75	0.45
Resistina (ng/mL)	4.54 ± 1.23 4.87 [3.59-5.36]	5.82 ± 2.78 5.16 [4.6-6.28]	1.84	0.06
TIMP-1 (ng/mL)	452.95 ± 46.26	420.47 ± 58.57	T 2.43	0.02

Tabla 7: comparación entre grasa hepática clasificada según la mediana y niveles de adipocinas e insulina.

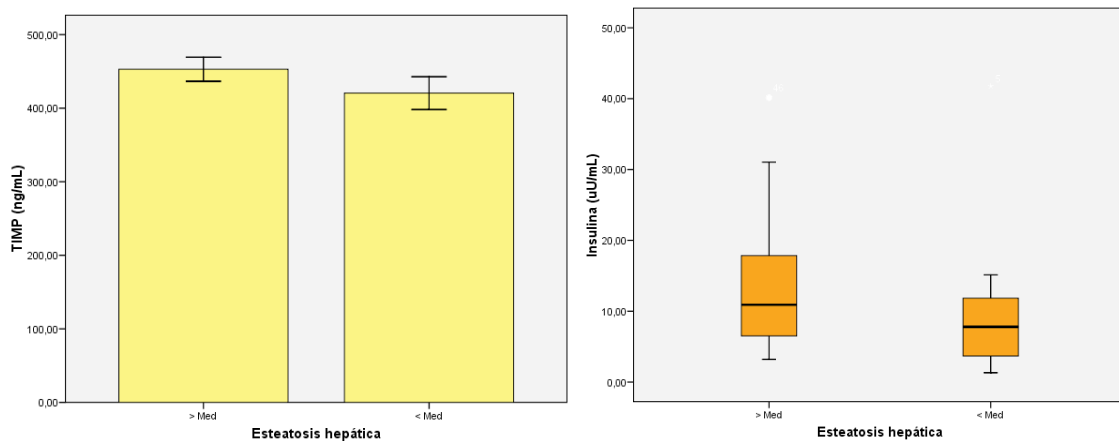


Gráfico 4: niveles de TIMP-1 e Insulina en esteatosis clasificada según la mediana.

El análisis entre niveles de adipocinas y esteatosis hepática clasificada según su ausencia o presencia no mostró diferencias significativas.

	Esteatosis SI	Esteatosis NO	Z, T	P
Insulina (μU/mL)	13.63 ± 16.54 7.83 [4.68-16.36]	9.28 ± 4.54 10.35 [4.5-14.34]	0.22	0.82
HOMA	1373.87 ± 2127.11	786.87 ± 435.25	0.84	0.40
Adiponectina (μg/mL)	13.49 ± 10.70	14.48 ± 8.89	T 0.28	0.77

Leptina (ng/mL)	12.36 ± 14.90 7.12 [1.88-13.62]	15.60 ± 20.14 4.91 [3.92-5.66]	0.28	0.77
Resistina (ng/mL)	5.18 ± 2.33 5 [4.14-5.56]	4.93 ± 1.34 3.57 [0.3-4.88]	0.12	0.89
TIMP-1 (ng/mL)	442.47 ± 52.69	415.92 ± 59.69	T 1.48	0.14

Tabla 8: comparación entre esteatosis hepática clasificada según su presencia o ausencia y niveles de adipoquinas e insulina.

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de adipoquinas e insulina con la esteatosis hepática clasificada según la mediana o según presentasen o no algún grado de esteatosis en los diferentes grupos separados por sexo, alcoholismo y VIH, encontramos que en el grupo de coinfectados había niveles significativamente más elevados de insulina y TIMP-1 en el grupo con esteatosis hepática clasificada por encima de la mediana.

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	Z, T	P
Insulina (μU/mL)	25.94 ± 31.25 15.22 [8.82-28.22]	6.05 ± 2.78 6.47 [4.5-8.26]	2.43	0.02
HOMA	3115.30 ± 4699.84	535 ± 248.94	2.31	0.02
TIMP-1 (ng/mL)	454.64 ± 45.28	392.21 ± 44.85	T 2.19	0.03

Tabla 9: comparación entre esteatosis hepática clasificada según la mediana y niveles de insulina y TIMP-1 en pacientes coinfectados por VIH.

En el análisis multivariante que se realizó entre las adipoquinas analizadas y la esteatosis clasificada según la mediana encontramos relaciones significativas independientes con el TIMP-1 y la resistina.

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	
Paso 1	TIMP	-,012	,005	5,267	1	,022	,988
	Constante	4,989	2,247	4,929	1	,026	146,860
Paso 2	Resistina	,367	,187	3,864	1	,049	1,444
	TIMP	-,012	,005	5,022	1	,025	,988
	Constante	3,196	2,460	1,688	1	,194	24,424

Tabla 10: análisis multivariante entre esteatosis hepática clasificada según la mediana con adipoquinas e insulina.

1.3. Esteatosis hepática y hormonas

La IGF-1 y la T4 se relacionaron de forma inversa y significativa con el porcentaje de esteatosis hepática. Dicha asociación se observó en varios subgrupos.

CORRELACIONES	
Todos los pacientes	IGF-1 (ρ -0.32, p 0.005) T4 (ρ -0.24, p 0.03)
Hombres	T4 (ρ -0.27, p 0.04)
Mujeres	IGF-1 (ρ -0.56, p 0.006)
Alcohólicos	IGF-1 (ρ -0.51, p 0.008)
No alcohólicos	IGF-1 (ρ -0.28, p 0.02) T4 (ρ -0.33, p 0.01)
Coinfectados VIH	
No coinfectados	IGF-1 (ρ -0.32, p 0.01) T4 (ρ -0.30, p 0.01)

Tabla 11: correlaciones significativas entre esteatosis hepática y hormonas

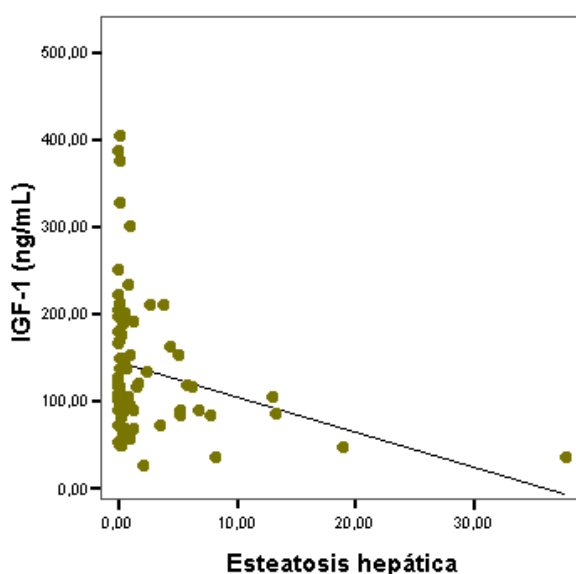


Gráfico 5: correlación inversa entre IGF-1 y esteatosis hepática.

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de hormonas y la esteatosis hepática clasificada según la mediana encontramos niveles más

elevados de cortisol y más disminuidos de IGF-1 en el grupo con más grasa, como se muestra en la tabla y figuras siguientes:

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T, Z	P
IGF-1 (ng/mL)	117.22 ± 60.09 99.6 [83.3-152]	154.79 ± 91.94 117 [96.65-189.5]	Z 1.95	0.05
Cortisol (µg/mL)	19.30 ± 9.93	15.52 ± 6.12	1.99	0.05
T4 (ng/mL)	1.19 ± 0.27	1.27 ± 0.27	1.31	0.19
Calcidiol (pg/mL)	44.97 ± 16.84	51.87 ± 20.69	1.56	0.12
Calcitriol (pg/mL)	52.82 ± 19.33	51.97 ± 13.62	0.20	0.85
Testosterona (ng/mL)	5.65 ± 5.23	5.98 ± 4.01	0.27	0.78
Estradiol (pg/mL)	39.38 ± 40.94 24.6 [20-40.15]	39.40 ± 39.17 27 [20-40.3]	Z 0.20	0.84

Tabla 12: diferencias entre niveles de hormonas y esteatosis hepática clasificada según la mediana.

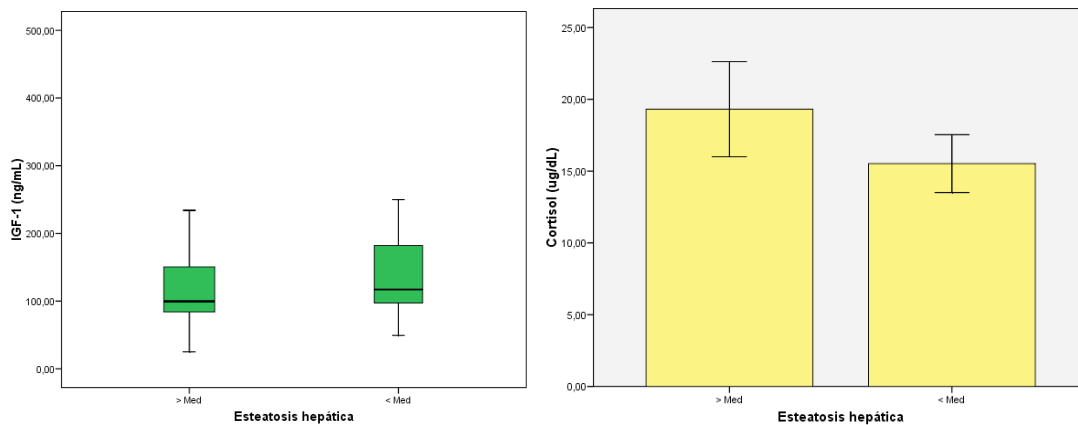


Gráfico 6: niveles de IGF-1 y cortisol en esteatosis hepática clasificada según la mediana.

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de hormonas y la esteatosis hepática clasificada según su presencia o ausencia encontramos una tendencia hacia unos niveles más disminuidos de IGF-1 en el grupo sin esteatosis, como se muestra en la tabla siguiente:

	Esteatosis SI	Esteatosis NO	T, Z	P
IGF-1 (ng/mL)	128.93 ± 76.63	164.65 ± 85.75	Z 1.88	0.06

	106 [84.42-155.5]	147.5 [101.5-209]		
Cortisol ($\mu\text{g/mL}$)	17.40 \pm 8.93	17.32 \pm 5.93	0.03	0.97
T4 (ng/mL)	1.21 \pm 0.27	1.32 \pm 0.27	1.36	0.17
Calcidiol (pg/mL)	48.20 \pm 19.23	49.73 \pm 19.05	0.26	0.79
Calcitriol (pg/mL)	53.12 \pm 17.19	48.91 \pm 11.86	0.77	0.44
Testosterona (ng/mL)	6.09 \pm 4.69	4.48 \pm 4.12	1.00	0.31
Estradiol (pg/mL)	38.33 \pm 34.95 25 [20-40.3]	43.71 \pm 56.71 25 [20-40.3]	Z 0.02	0.98

Tabla 13: diferencias entre niveles de hormonas y esteatosis hepática clasificada según su presencia o ausencia

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de hormonas con la esteatosis hepática clasificada según la mediana o según presentasen o no algún grado de esteatosis en los diferentes grupos separados por sexo, alcoholismo y VIH, encontramos que en el grupo no alcohólico hubo niveles más elevados de cortisol en aquellos pacientes con mayor esteatosis hepática (T 2.22, p 0.03; 20.56 \pm 11.96 $\mu\text{g/dL}$ con esteatosis > mediana frente a 14.96 \pm 5.27 $\mu\text{g/dL}$ con esteatosis < mediana), y en los no coinfectados se mantuvieron las diferencias significativas entre los niveles de cortisol y una tendencia hacia la significación con T4 e IGF-1. No hubo diferencias en los grupos al comparar los niveles de hormonas con la presencia o ausencia de grasa.

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T, Z	P
IGF-1 (ng/mL)	119.80 \pm 64.86 117 [88.8-153]	158.30 \pm 100.06 156 [112.25-255.785]	Z 1.74	0.08
Cortisol ($\mu\text{g/mL}$)	20.56 \pm 11.96	14.96 \pm 5.27	2.22	0.03
T4 (ng/mL)	1.19 \pm 0.27	1.31 \pm 0.26	1.80	0.07

Tabla 14: diferencias entre niveles de hormonas y esteatosis hepática clasificada según la mediana en grupo de pacientes no coinfectados.

En el análisis multivariante que se realizó entre las hormonas analizadas y la esteatosis clasificada según la mediana encontramos una tendencia hacia la significación con el cortisol.

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a	CORTISOL	-,076	,040	3,527	1	,060	,927
	Constante	1,524	,762	4,004	1	,045	4,590

Tabla 15: análisis multivariante entre hormonas y esteatosis hepática clasificada según la mediana.

1.4. Esteatosis hepática y compartimentos grasos

El IMC, la grasa troncular y la grasa en brazos mostraron relaciones significativas con la esteatosis hepática. Se muestra en la siguiente gráfica los resultados significativos en los diferentes grupos, destacando que la grasa troncular guardó relación en todos ellos salvo en el de los alcohólicos:

CORRELACIONES	
Todos los pacientes	IMC (ρ 0.32, p 0.006) Grasa troncular (ρ 0.35, p 0.001) Grasa brazos (ρ 0.32, p 0.006)
Varones	IMC (ρ 0.32, p 0.02) Grasa troncular (ρ 0.33, p 0.02)
Mujeres	IMC (ρ 0.47, p 0.01) Grasa troncular (ρ 0.46, p 0.03) Grasa brazos (ρ 0.57, p 0.006)
Alcohólicos	Grasa brazos (ρ 0.44, p 0.04)
No alcohólicos	IMC (ρ 0.40, p 0.002) Grasa troncular (ρ 0.42, p 0.002) Grasa brazos (ρ 0.29, p 0.03) Grasa total (ρ 0.34, p 0.01)
Coinfectados VIH	IMC (ρ 0.67, p 0.002) Grasa troncular (ρ 0.55, p 0.01) Grasa brazos (ρ 0.62, p 0.003) Grasa total (ρ 0.51, p 0.02)
No coinfectados	IMC (ρ 0.29, p 0.02) Grasa troncular (ρ 0.31, p 0.02)

Tabla 16: correlaciones entre esteatosis hepática y compartimentos grasos.

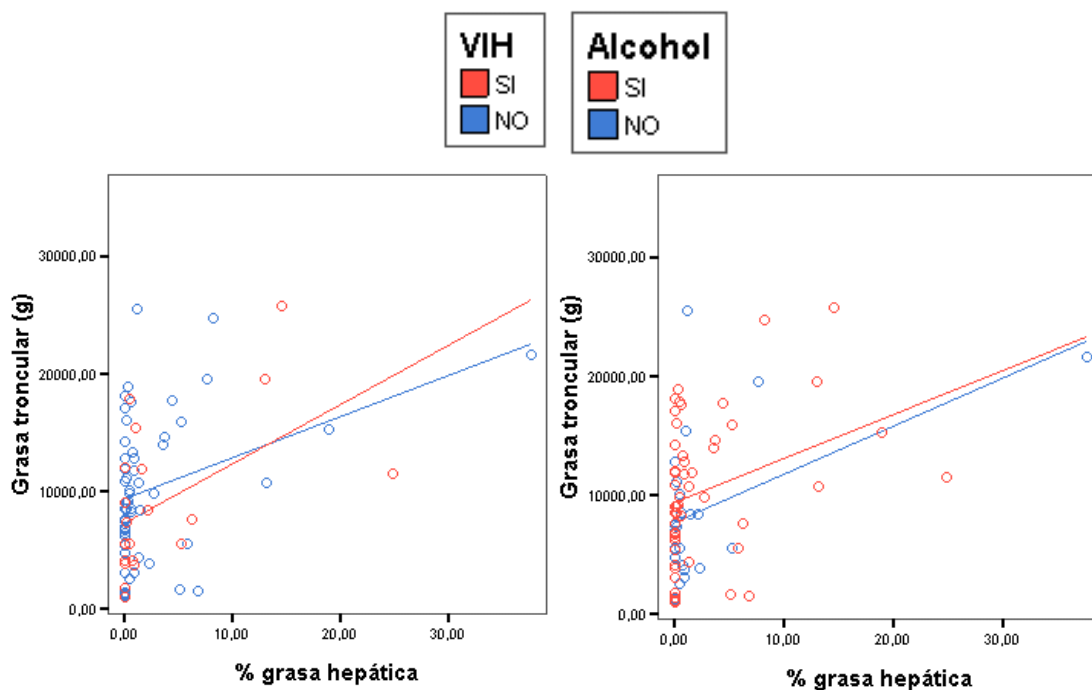


Gráfico 7: regresión entre grasa troncular y esteatosis hepática en pacientes coinfectados y alcohólicos.

Cuando se analizó si existían diferencias entre la cantidad de grasa contenida en los compartimentos grasos y la esteatosis hepática clasificada según la mediana observamos diferencias significativas con el IMC, la grasa troncular y el pliegue tricípital, con una tendencia hacia la significación en el caso de la grasa en brazos, la grasa en piernas y la grasa total.

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T	P
IMC (kg/m²)	24.92 ± 3.47	23 ± 3.34	2.52	0.01
Grasa troncular (g)	11502.17 ± 6686.16	8117.23 ± 4914.49	2.44	0.02
Grasa brazos (g)	1193.78 ± 726.8	897.17 ± 830.24	1.63	0.10
Grasa piernas (g)	3614.98 ± 2398.84	2778.07 ± 1864.53	1.63	0.10
Grasa total (g)	21856.57 ± 12343.61	16948.16 ± 11600.07	1.73	0.08
Pliegue tríceps (mm)	5.67 ± 2.34	4.51 ± 2.07	2.21	0.03

Tabla 17: comparación entre compartimentos grasos en ambos grupos de esteatosis clasificada según la mediana.

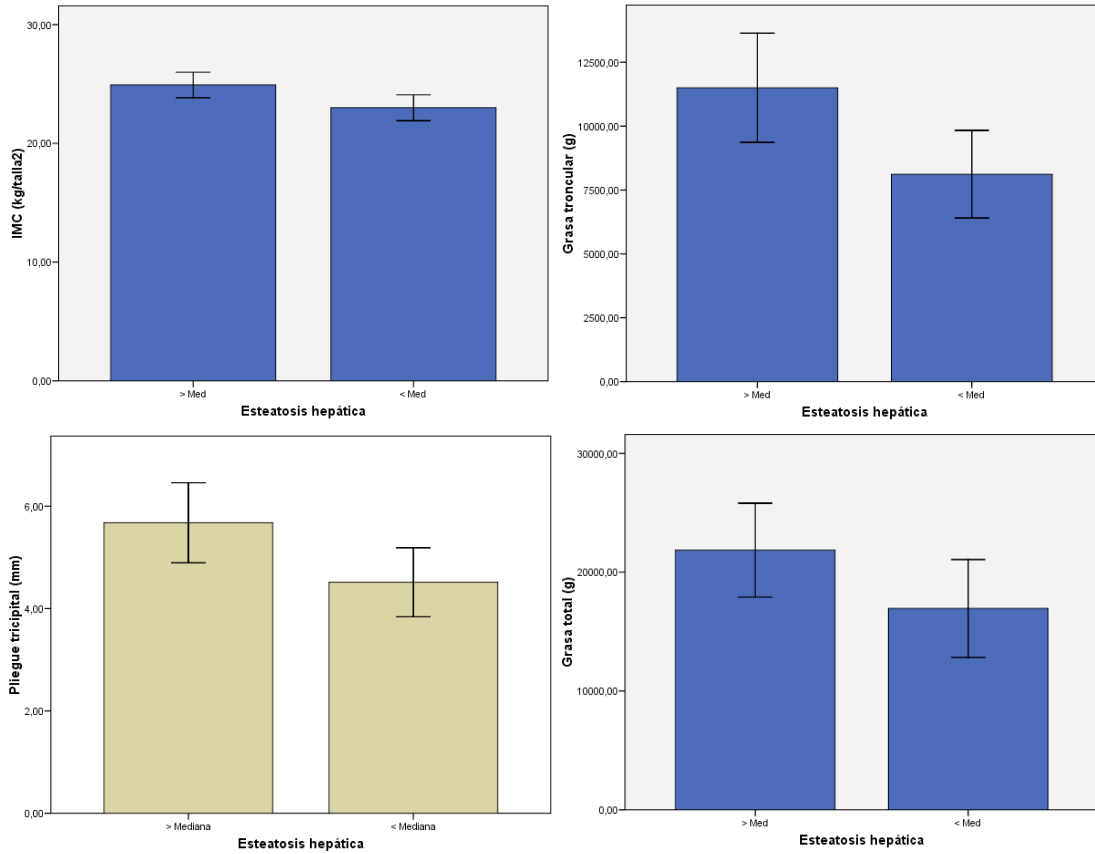


Gráfico 8: compartimentos grasos y esteatosis clasificada según la mediana.

El análisis entre IMC, compartimentos grasos y esteatosis hepática clasificada según su ausencia o presencia mostró una diferencia significativa sólo con el IMC, con una tendencia hacia la significación de la grasa troncular, la grasa en brazos y la grasa total, como se muestra en la siguiente tabla:

	Esteatosis SI	Esteatosis NO	T	P
IMC (kg/m²)	24.36 ± 3.52	22.39 ± 3.16	1.98	0.05
Grasa tronco (g)	10485.84 ± 6352.15	7162.55 ± 4030.66	1.74	0.08
Grasa brazos (g)	1132.37 ± 804.33	670.67 ± 552.50	1.89	0.06
Grasa piernas (g)	3331.76 ± 2265.13	2707.03 ± 1786.68	0.90	0.37
Grasa total (g)	20633.05 ± 12583.17	14578.01 ± 8613.03	1.59	0.11

Pliegue tríceps (mm)	5.03 ± 2.32	5.30 ± 2.09	0.50	0.61
-----------------------------	-------------	-------------	------	------

Tabla 18: comparación entre compartimentos grasos en ambos grupos de esteatosis clasificada según su ausencia o presencia.

Cuando se analizó si existían diferencias entre la cuantía de los compartimentos grasos con la esteatosis hepática clasificada según la mediana o según presentasen o no algún grado de esteatosis en los diferentes grupos separados por sexo, alcoholismo y VIH encontramos varias diferencias significativas, que resumimos en las tablas siguientes. Queremos destacar que en el grupo de alcohólicos no encontramos diferencias significativas, pero sí en el de no alcohólicos.

MUJERES				
	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T	P
Grasa brazos (g)	1547.15 ± 631.87	808.11 ± 470.37	2.97	0.005
	Esteatosis SI	Esteatosis NO		
IMC (kg/m²)	25.33 ± 4.18	21.35 ± 2.62	2.19	0.01

Tabla 19: diferencias significativas de compartimentos grasos en el grupo de mujeres.

NO ALCOHÓLICOS				
	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T	P
IMC (kg/m²)	25.65 ± 2.57	22.88 ± 3.64	3.21	0.002
Grasa troncular (g)	12566.76 ± 6151.67	8406.54 ± 5281.69	2.59	0.01
Grasa total (g)	23652.45 ± 12241.29	16684.22 ± 10676.36	2.16	0.04
	Esteatosis SI	Esteatosis NO		
IMC (kg/m²)	24.83 ± 3.31	22.32 ± 3.26	2.09	0.02
Grasa troncular (g)	11344.38 ± 6197.24	7178.51 ± 4226.99		

Tabla 20: diferencias significativas de compartimentos grasos en el grupo de no alcohólicos.

COINFECTADOS				
	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T	P
IMC (kg/m ²)	24.48 ± 3.96	20.75 ± 2.57	2.45	0.02
Grasa troncular (g)	11438.84 ± 6985.45	5590.62 ± 3723.40	2.15	0.04
Grasa brazos (g)	1116.21 ± 496.68	342.81 ± 220.84	4.11	0.001
Grasa total (g)	20471.80 ± 11277.01	10111.50 ± 6713.08	2.32	0.03

Tabla 21: diferencias significativas de compartimentos grasos en grupo de coinfectados.

En el análisis multivariante que se realizó entre los compartimentos grasos, el IMC y la esteatosis clasificada según la mediana encontramos relaciones significativas independientes con la grasa troncular al excluir el IMC, porque al incluirlo sólo fue el IMC el que guardó dicha relación:

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a Grasa troncular	,000	,000	4,663	1	,031	1,000
Constante	,786	,493	2,538	1	,111	2,195

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a IMC	-,203	,087	5,457	1	,019	,816
Constante	4,562	2,056	4,921	1	,027	95,746

Tabla 22: análisis multivariante excluyendo e incluyendo el IMC.

1.5. Esteatosis hepática y compartimentos de tejido magro

No se encontraron relaciones significativas entre la esteatosis hepática, los compartimentos magros analizados (masa magra troncular, total, en brazos y piernas), ni con las variables relacionadas con el tejido magro (perímetro braquial, área muscular del brazo, fuerza medida por dinamometría).

Cuando se analizó si existían diferencias entre la cuantía de los diversos compartimentos magros y la esteatosis hepática clasificada según la mediana observamos diferencias significativas con el área muscular del brazo y el pliegue tricitoral, y una tendencia con la masa muscular en brazos, como se muestra en la siguiente tabla:

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T, Z	P
Masa brazos (g)	2766.20 ± 759.08	3136.75 ± 1056.98	1.73	0.09
Masa piernas (g)	7475.12 ± 1504.41	7648.59 ± 1533.16	0.48	0.62
Masa troncular (g)	24398.99 ± 4196.53	24145.90 ± 4211.70	0.25	0.79
Masa total (g)	48350.48 ± 8717.87	49482.26 ± 8284.75	0.56	0.57
Perímetro braquial (cm)	26.21 ± 4.25	25.39 ± 3.33	0.97	0.33
Área muscular braquial (cm²)	8.90 ± 11.07 4.01 [1.48-14.02]	15.42 ± 17.15 10.01 [3.11-23.87]	Z 2.04	0.04
Fuerza	221.60 ± 40.18 220 [220-242]	216.15 ± 39.24 220 [190-250]	Z 0.46	0.64

Tabla 23: comparación de compartimentos magros en grupos de esteatosis clasificada según la mediana.

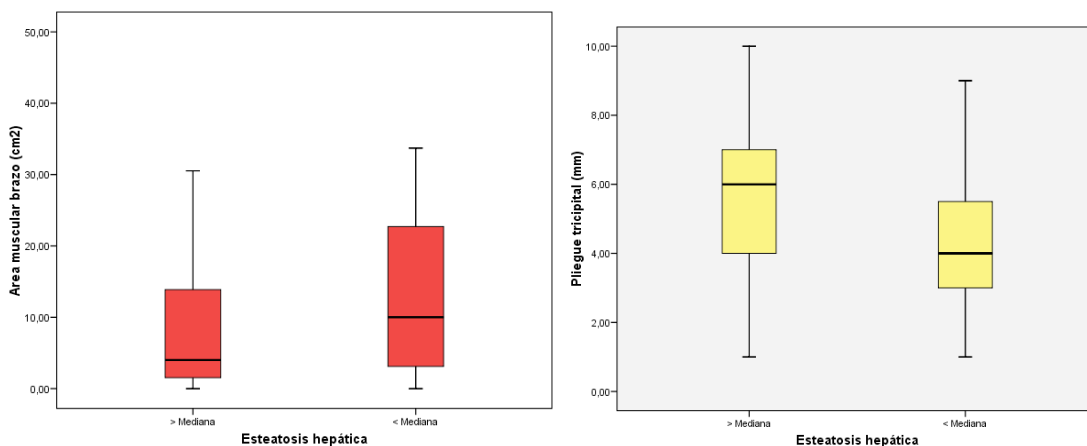


Gráfico 8: compartimentos magros y esteatosis clasificada según la mediana.

Cuando se clasificó la esteatosis según su presencia o ausencia se encontró una diferencia significativa con el tejido magro troncular (T 2.11, p 0.04, medias 22000.63 ± 3775.29 g en grupo sin esteatosis frente 24729.73 ± 4131.75 g en grupo con esteatosis):

	Esteatosis SI	Esteatosis NO	T, Z	P
Masa brazos (g)	2961.90 ± 890.36	2821.29 ± 1107.60	0.48	0.63
Masa piernas (g)	7661.04 ± 1485.90	7021.54 ± 1582.41	1.34	0.18
Masa troncular (g)	24729.73 ± 4131.75	22000.63 ± 375.29	2.11	0.04
Masa total (g)	49511.16 ± 8502.19	45657.10 ± 7921.01	1.45	0.15
Perímetro braquial (cm)	26.18 ± 3.85	23.92 ± 3.12	2.05	0.04
Área muscular braquial (cm²)	11.90 ± 12.49 6.99 [1.97-16.68]	13.94 ± 23.59 3.99 [0.62-16.76]	Z 0.69	0.49
Fuerza	221.26 ± 39.99 220 [205-250]	206.92 ± 36.37 220 [180-240]	Z 1.49	0.13
Pliegue tríceps (mm)	5.03 ± 2.32	5.30 ± 2.09	0.50	0.61

Tabla 23: comparación de compartimentos magros en grupos de esteatosis clasificada según su ausencia o presencia.

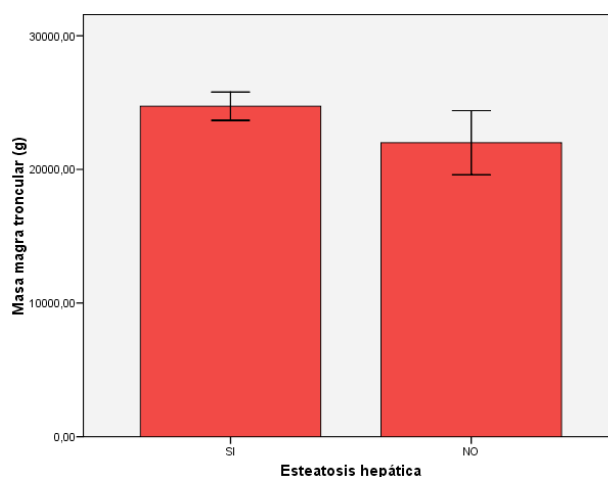


Gráfico 9: masa magra troncular más elevada en pacientes con esteatosis al compararlos con pacientes sin esteatosis.

Cuando se analizó si existían diferencias entre la cuantía de los compartimentos magros y variables relacionadas con la esteatosis hepática clasificada según la mediana o según presentasen o no algún grado de esteatosis en los diferentes grupos separados por sexo, alcoholismo y VIH encontramos como diferencia significativa que los varones presentaron mayor cantidad de tejido magro en brazos en el grupo con esteatosis por debajo de la mediana (T 2.25, p 0.03, medias 3112.78 ± 674.83 g frente 3586.58 ± 818.68 g), y que los pacientes alcohólicos presentaron una mayor cantidad de tejido magro en piernas en el grupo con esteatosis por debajo de la mediana (T 2.27, p 0.03, medias 7511.61 ± 1241.98 g frente 8667.33 ± 968.78 g), como se muestra en las gráficas siguientes:

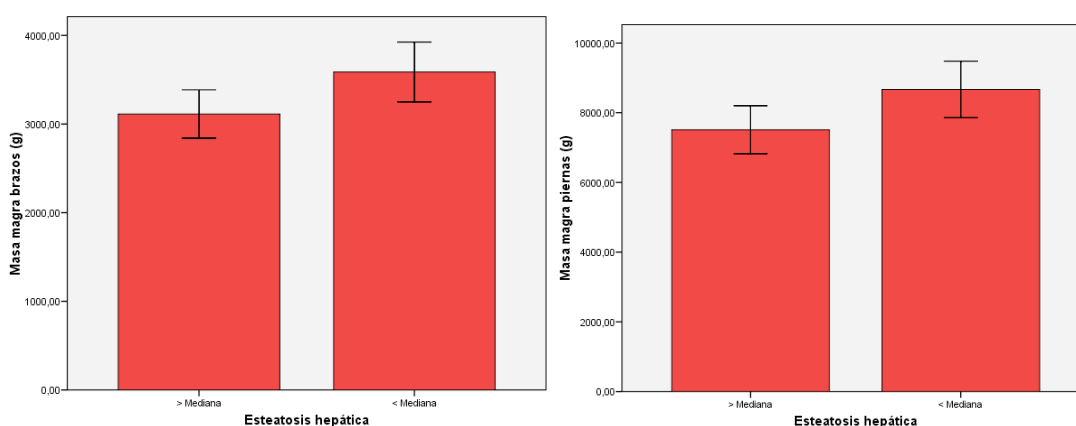


Gráfico 10: diferencias significativas encontradas entre la esteatosis hepática clasificada según la mediana y compartimentos magros en el grupo de hombres y de alcohólicos.

1.6. Esteatosis hepática y metabolismo lipídico

No se observaron relaciones estadísticamente significativas entre el porcentaje de esteatosis hepática con los triglicéridos o el colesterol (ni con sus fracciones HDL y LDL).

Tampoco se observaron diferencias significativas entre la esteatosis hepática clasificada según la mediana y según su presencia o ausencia con los niveles de lípidos, aunque hubo una tendencia hacia la significación en cuanto a los triglicéridos, más descendidos en el grupo sin esteatosis hepática.

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	T, Z	P
Triglicéridos (mg/dL)	132.29 ± 99.60 104.5 [79.5-157]	143.36 ± 83.68 112 [89.75-163.25]	Z 1.08	0.27

Colesterol (mg/dL)	171.90 ± 36.12	172.45 ± 40.07	0.06	0.94
HDL (mg/dL)	47.24 ± 14.12	42.64 ± 15.89	1.39	0.17
LDL (mg/dL)	99.23 ± 36.61	102.17 ± 33.82	0.37	0.70

Tabla 24: comparación de niveles de lípidos en grupos de esteatosis clasificada según la mediana.

	Esteatosis SI	Esteatosis NO	T, Z	P
Triglicéridos (mg/dL)	143.17 ± 96.59 112 [89-163]	113.20 ± 60.34 90 [80-135]	Z 1.67	0.09
Colesterol (mg/dL)	172.14 ± 36.87	172.33 ± 43.84	0.01	0.98
HDL (mg/dL)	43.99 ± 14.66	49.13 ± 16.98	1.19	0.23
LDL (mg/dL)	100.87 ± 33.96	100.13 ± 40.71	0.07	0.73

Tabla 25: comparación de niveles de lípidos en grupos de esteatosis clasificada según su ausencia o presencia.

1.7. Esteatosis hepática y parámetros bioquímicos hepáticos

La GOT, GGT y FA guardaron relaciones significativas con la esteatosis hepática. Se muestra en la siguiente gráfica los resultados significativos en todos los pacientes y en los diferentes grupos, destacando que la GGT mantuvo dicha relación en todos ellos:

CORRELACIONES	
Todos los pacientes	GOT (ρ 0.29, p 0.006) GGT (ρ 0.47, p 0.00) FA (ρ 0.25, p 0.02)
Varones	GGT (ρ 0.48, p 0.00)
Mujeres	GOT (ρ 0.62, p 0.001) GGT (ρ 0.52, p 0.005) FA (ρ 0.46, p 0.02) Bilirrubina (ρ 0.40, p 0.04)
Alcohólicos	GOT (ρ 0.30, p 0.03) GGT (ρ 0.46, p 0.00)
No alcohólicos	GGT (ρ 0.49, p 0.008) Albúmina (ρ -0.47, p 0.01)

Coinfectados VIH	GGT (ρ 0.64, p 0.002)
No coinfectados	GOT (ρ 0.26, p 0.04) GGT (ρ 0.43, p 0.00) FA (ρ 0.25, p 0.04)

Tabla 26: relaciones significativas de los parámetros bioquímicos hepáticos en todos los pacientes y grupos.

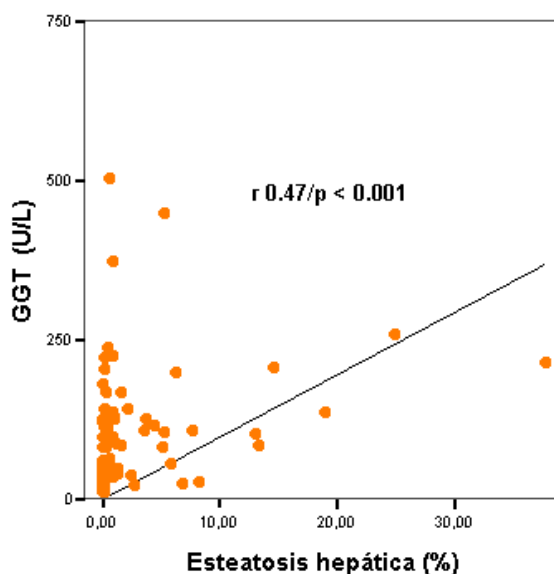


Gráfico 11: curva de regresión entre GGT y esteatosis hepática.

Cuando se analizó si existían diferencias entre los niveles de parámetros bioquímicos hepáticos con la esteatosis hepática clasificada según la mediana o según presentasen o no algún grado de esteatosis en todos los pacientes, observamos diferencias en la GOT y GGT en el primer caso, y en la GOT, GGT y FA en el segundo, como se muestra en las siguientes tablas:

	Esteatosis > Me	Esteatosis < Me	Z	P
GOT (U/L)	69.69 ± 53.50 55.5 [32.5-79]	46.45 ± 24.29 40.5 [32.75-61]	2.10	0.03
GPT (U/L)	86.98 ± 76.04 61.5 [33.75-113.5]	62 ± 32.87 53 [38.5-81.5]	0.90	0.36
GGT (U/L)	128.9 ± 108.87 107.5 [47.75-113.5]	65.55 ± 55.45 43 [26.5-100.5]	3.50	0.00
FA (U/L)	85.07 ± 21.99 82.5 [67.5-101]	81.88 ± 34.55 75.5 [59.5-88.25]	1.40	0.15
Albúmina (g/dL)	4.34 ± 0.33 4.4 [4.1-4.6]	4.4 ± 0.35 4.5 [4.2-4.62]	1.01	0.31

Actividad protrombina (%)	96.52 ± 6.80 100 [96.25-100]	97.43 ± 7.40 100 [100-100]	1.02	0.30
Bilirrubina (mg/dL)	0.79 ± 0.48 0.7 [0.5-0.92]	0.80 ± 0.58 0.70 [0.5-0.9]	0.12	0.90

Tabla 27: comparación de parámetros bioquímicos hepáticos en grupos de esteatosis clasificada según la mediana.

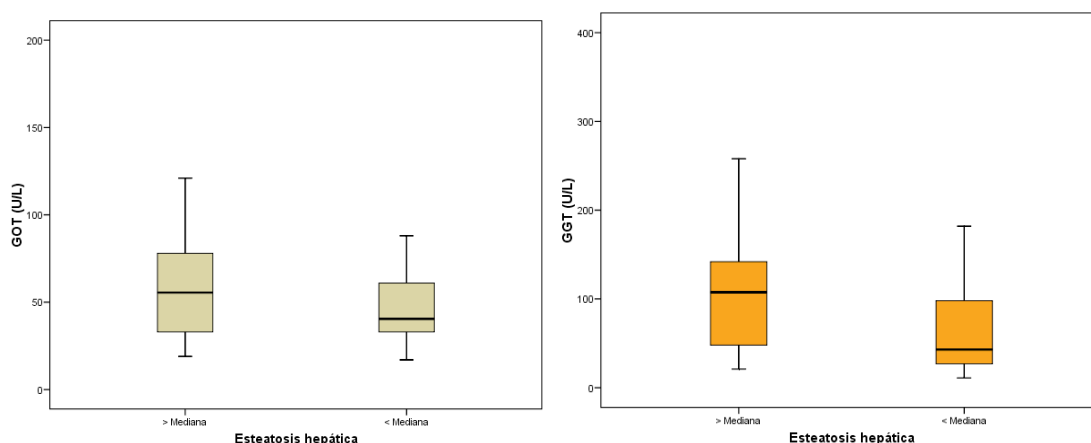


Gráfico 12: parámetros bioquímicos hepáticos y esteatosis.

	Esteatosis SI	Esteatosis NO	Z	P
GOT (U/L)	62.90 ± 45.41 49 [33.5-73]	35.87 ± 16.17 33 [23-54]	2.96	0.003
GPT (U/L)	79.39 ± 63.23 57 [39-101]	51.93 ± 30.81 41 [29-78]	1.77	0.07
GGT (U/L)	110.83 ± 95.41 98 [39-137]	34.67 ± 20.44 27 [17-48]	3.94	< 0.001
FA (U/L)	86.43 ± 28.68 84 [67-100]	69.87 ± 26.27 64 [51-84]	2.69	0.007
Albúmina (g/dL)	4.36 ± 0.36 4.4 [4.2-4.6]	4.42 ± 0.24 4.4 [4.2-4.6]	0.15	0.87
Actividad protrombina (%)	96.53 ± 7.66 100 [97.25-100]	99.04 ± 2.55 100 [100-100]	1.25	0.21
Bilirrubina (mg/dL)	0.84 ± 0.57 0.70 [0.5-0.95]	0.60 ± 0.27 0.60 [0.3-0.7]	1.90	0.06

Tabla 28: comparación de parámetros bioquímicos hepáticos en grupos de esteatosis clasificada según su ausencia o presencia.

En el análisis multivariante que se realizó entre los parámetros bioquímicos hepáticos y la esteatosis clasificada según la mediana encontramos relaciones significativas independientes con la GGT:

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso	GGT	-,011	,004	8,401	1	,004	,989
1	Constante	1,018	,396	6,603	1	,010	2,769

Tabla 29: análisis multivariante entre esteatosis hepática clasificada según la mediana y parámetros bioquímicos hepáticos.

1.8. Esteatosis hepática y genotipo viral

La carga viral no guardó relación significativa con el porcentaje de esteatosis hepática.

Al analizar si existían diferencias entre la esteatosis hepática y los diferentes genotipos encontramos que los pacientes con genotipo 3 presentaron más esteatosis que los genotipos no 3, y que los genotipo no1 presentaron más esteatosis que los genotipo 1, como se muestra en las siguientes tablas:

GENOTIPO VIRAL						
Esteatosis hepática (%)	Genotipo 3		Genotipo no 3		Z	P
	7.79 ± 12.75		1.95 ± 4.38			
	2.51 [1.02-10.85]		0.19 [0.02-1.10]			
	Genotipo 1		Genotipo no 1		Z	P
1.19 ± 2.39		6.47 ± 10.08		2.43		
0.15 [0.02-0.88]		1.25 [0.09-10.34]				

Tabla 30: esteatosis hepática según genotipo viral.

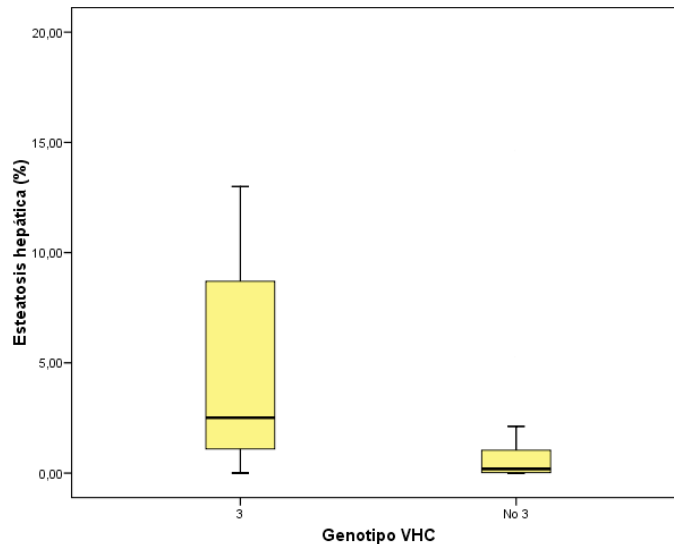


Gráfico 13: relación entre esteatosis hepática y genotipo 3.

2. ACTIVIDAD HISTOLÓGICA

En el caso de la actividad histológica procedimos a analizarla en función de los índices de Metavir y Knodell, como comentamos en el apartado de material y métodos. En el primer caso procedimos a realizar un análisis comparando el grupo que presentaba una actividad por encima de la mediana ($n = 26$) con el grupo con actividad por debajo de la misma ($n = 62$). También procedimos a un análisis comparativo entre el grupo que no presentaba actividad según el índice Metavir ($n = 12$) y el grupo que presentaba actividad ($n = 76$). Con el índice de Knodell procedimos a comparar el grupo que presentaba actividad por encima de la mediana ($n = 25$) con el grupo por debajo de la mediana ($n = 63$).

No se procedió a la comparación entre grupos con ausencia o presencia de actividad según el índice de Knodell porque estaban constituidos por 7 y 81 pacientes, respectivamente.

2.1. Actividad histológica valorada según el índice Metavir

2.1.1. Actividad histológica clasificando Metavir según la mediana

La actividad histológica valorada según el índice Metavir se relacionó de forma significativa con múltiples de las variables que analizamos en este trabajo, como se expone en la siguiente tabla:

ACTIVIDAD METAVIR	
Citoquinas	IL-4 (ρ 0.24, p 0.02)
Adipoquinas	TIMP-1 (ρ 0.40, p 0.001) TGF- β (ρ -0.31, p 0.01)
Hormonas	Insulina (ρ 0.36, p 0.003) HOMA (ρ 0.29, p 0.02) IGF-1 (ρ -0.36, p 0.001)
Compartimentos	Grasa brazos (ρ 0.35, p 0.002) Masa magra tronco (ρ 0.41, p 0.00)
Bioquímica hepática	Albúmina (ρ -0.26, p 0.01) Protrombina (ρ -0.50, p 0.01) GOT (ρ 0.46, p 0.00) GPT (ρ 0.31, p 0.003) GGT (ρ 0.32, p 0.002) FA (ρ 0.24, p 0.02)
Histología hepática	% grasa (ρ 0.28, p 0.01) % fibrosis (ρ 0.58, p 0.00)

Tabla 31: relaciones significativas de la actividad según el índice Metavir con las variables analizadas.

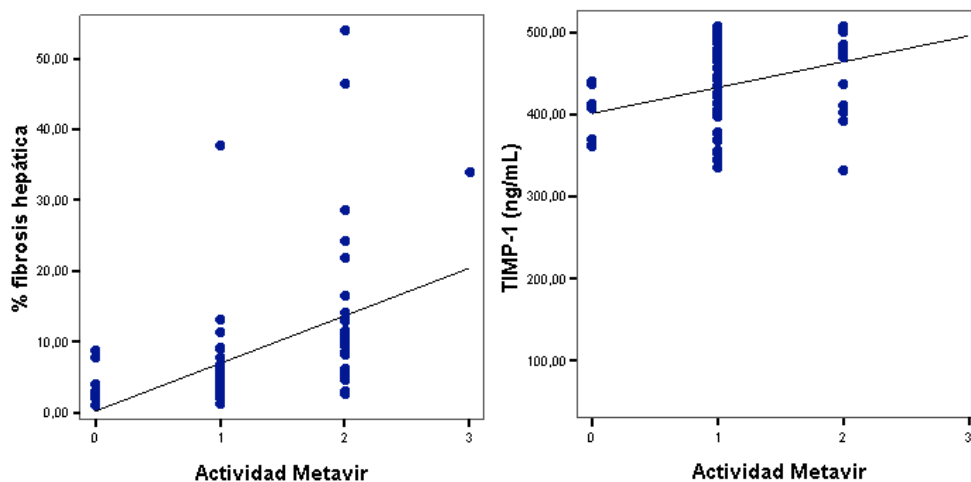


Gráfico 14: curvas de regresión entre fibrosis hepática y TIMP-1 con actividad según el índice Metavir.

Cuando se clasificó la actividad histológica valorada según el índice Metavir por encima y debajo de la mediana se observaron diferencias significativas con las siguientes variables:

	ActividadMet < Me	ActividadMet > Me	Z, T	P
INF-γ (pg/mL)	5.24 \pm 2.46 4.34 [4.05-5.92]	5.39 \pm 1.02 5.23 [4.49-6.16]	Z 2.04	0.04
TIMP-1 (ng/mL)	426.40 \pm 52.16	465.19 \pm 45.53	T 2.92	0.00 5
TGF-β (pg/mL)	197.41 \pm 71.83	147.86 \pm 96.36	T 2.33	0.02
Insulina (μU/mL)	9.29 \pm 8.37 7.79 [4.55-12.12]	20.14 \pm 21.70 16.49 [5.40-23.25]	Z 2.77	0.00 6
HOMA	894.66 \pm 787.40 682.95 [393.14-1198.08]	2028.09 \pm 3056.45 1481.55 [496.75-1947.3]	Z 2.16	0.03
IGF-1 (ng/mL)	155.83 \pm 82.44 137 [95.40-194]	97.63 \pm 50.17 92.40 [62.50-108]	Z 3.38	0.01
Estradiol (pg/mL)	40.84 \pm 35.70 26.6 [21.65-45.22]	36.07 \pm 47.51 20 [20-33.57]	Z 2.06	0.04
Masa magra troncular (g)	23233.81 \pm 4117.90	26417.71 \pm 3734.71	T 3.14	0.00 2
Grasa brazos (g)	846.42 \pm 544.15	1512.60 \pm 1017.69	T 3.75	0.00
Albúmina (g/dL)	4.46 \pm 0.26 4.50 [4.20-4.62]	4.17 \pm 0.41 4.15 [4.15-4.50]	Z 3.26	0.00
Protrombina (%)	98.92 \pm 4.43 100 [100-100]	92.58 \pm 9.50 95.50 [87.75-100]	Z 4.59	0.00
GOT (U/L)	46.10 \pm 26.81 37 [28.75-55]	83.62 \pm 58.79 64 [46-93.25]	Z 3.83	0.00
GPT (U/L)	63.58 \pm 48.15 52 [32.75-88.25]	95.08 \pm 75.24 68.50 [42-127.50]	Z 2.19	0.03
GGT (U/L)	70.74 \pm 53.30 51.50 [30.25-109]	152.04 \pm 128.69 118 [51.75-217]	Z 3.28	0.00 1
% grasa hepática	1.82 \pm 4.08 0.10 [0.01-1.30]	4.06 \pm 8.45 0.56 [0.24-2.66]	Z 2.12	0.03
% fibrosis hepática	5.36 \pm 4.96 4.45 [3.10-5.90]	14.70 \pm 13.08 10.30 [5.95-17.82]	Z 4.82	0.00

Tabla 32: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de actividad según Metavir clasificada según la mediana.

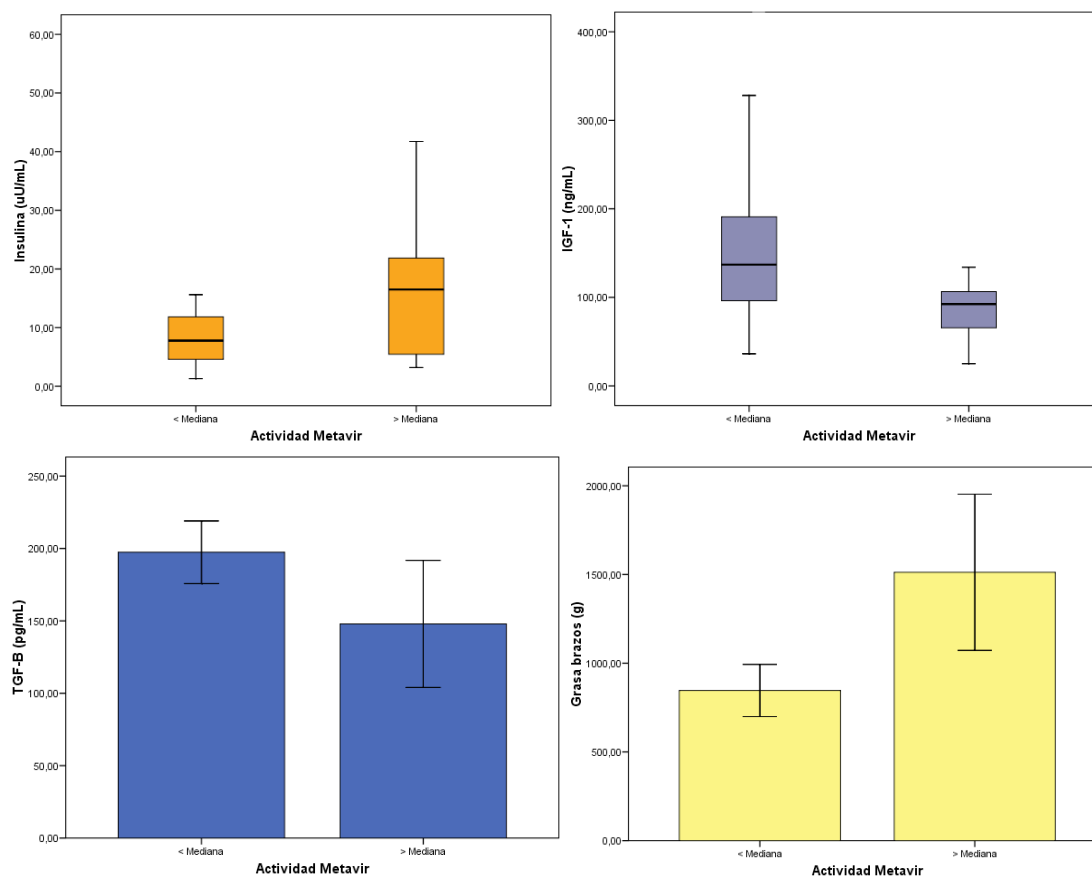


Gráfico 15: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de Metavir clasificada según la mediana.

En el análisis multivariante que incluyó todas las variables que habían mostrado una relación significativa en el análisis univariante se observó que los parámetros bioquímicos hepáticos guardaron una relación significativa e independiente con la actividad. Al excluir dichas variables fueron el porcentaje de fibrosis hepática, TIMP y TGF- β quienes mantuvieron dicha relación:

Variable	Log verosimilitud del modelo	Cambio en -2 log de la verosimilitud	gl	Sig. del cambio
Paso 1 GGT	-32,470	13,215	1	,000
Paso 2 Actividad protrombin	-25,931	10,376	1	,001
GGT	-28,057	14,628	1	,000
Paso 3 Albúmina	-20,789	4,895	1	,027
Actividad protrombin	-20,452	4,221	1	,040
GGT	-25,211	13,738	1	,000

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1	% fibrosis hepática	,133	,060	4,972	1	,026	1,143
	Constante	-1,728	,542	10,174	1	,001	,178
Paso 2	TGF-B	-,012	,006	4,225	1	,040	,988
	% fibrosis hepática	,105	,055	3,657	1	,056	1,111
	Constante	,371	1,060	,123	1	,726	1,450
Paso 3	TIMP	,022	,009	6,293	1	,012	1,022
	TGF-B	-,019	,008	6,517	1	,011	,981
	% fibrosis hepática	,074	,053	1,968	1	,161	1,077
	Constante	-8,067	3,535	5,207	1	,022	,000
Paso 4	TIMP	,024	,009	7,636	1	,006	1,024
	TGF-B	-,022	,007	8,715	1	,003	,978
	Constante	-7,928	3,455	5,265	1	,022	,000

Tabla 33: análisis multivariante de la actividad Metavir incluyendo y excluyendo los parámetros bioquímicos hepáticos.

2.1.2. Actividad histológica clasificando Metavir según su presencia o ausencia

Cuando se clasificó la actividad histológica valorada según el índice Metavir según su ausencia o presencia se observaron diferencias significativas con las siguientes variables:

	Actividad Met SI	Actividad Met NO	Z, T	P
IL-4 (pg/mL)	13.88 ± 15.54 8.49 [8.12-11.85]	14.47 ± 26.78 7.85 [5.77-8.12]	Z 2.83	0.005
MDA (µM)	3.80 ± 2.97	1.26 ± 0.80	T 2.06	0.04
TIMP-1 (ng/mL)	443.52 ± 53.54	404.13 ± 34.72	T 2.01	0.05
IMC (kg/m²)	24.34 ± 3.52	22.16 ± 2.64	T 2.04	0.04
Masa magra troncular (g)	24616.72 ± 4082.95	21304.14 ± 4252.82	T 2.47	0.02
Grasa brazos (g)	1109.79 ± 810.52	635.20 ± 220.30	T 1.92	0.06 (NS)
Protrombina (%)	96.58 ± 7.37 100 [96.32-100]	100 100 [100-100]	Z 2.17	0.03
GOT (U/L)	59.58 ± 42.29	42 ± 41.21	Z 2.74	0.006

	48.50 [33-71.75]	28 [21.5-40.5]		
GPT (U/L)	74.50 ± 53.66 58.50 [39-93.50]	62.67 ± 87.22 32.5 [26.5-48.75]	Z 2.45	0.01
% grasa hepática	2.80 ± 6.16 0.43 [0.03-2.41]	0.38 ± 0.63 0.05 [0-0.82]	Z 1.85	0.06 (NS)
% fibrosis hepática	8.88 ± 9.75 5.60 [3.67-9.40]	3.65 ± 2.56 2.65 [2.15-4.87]	Z 3.14	0.002

Tabla 34: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de actividad según Metavir clasificada según su ausencia o presencia.

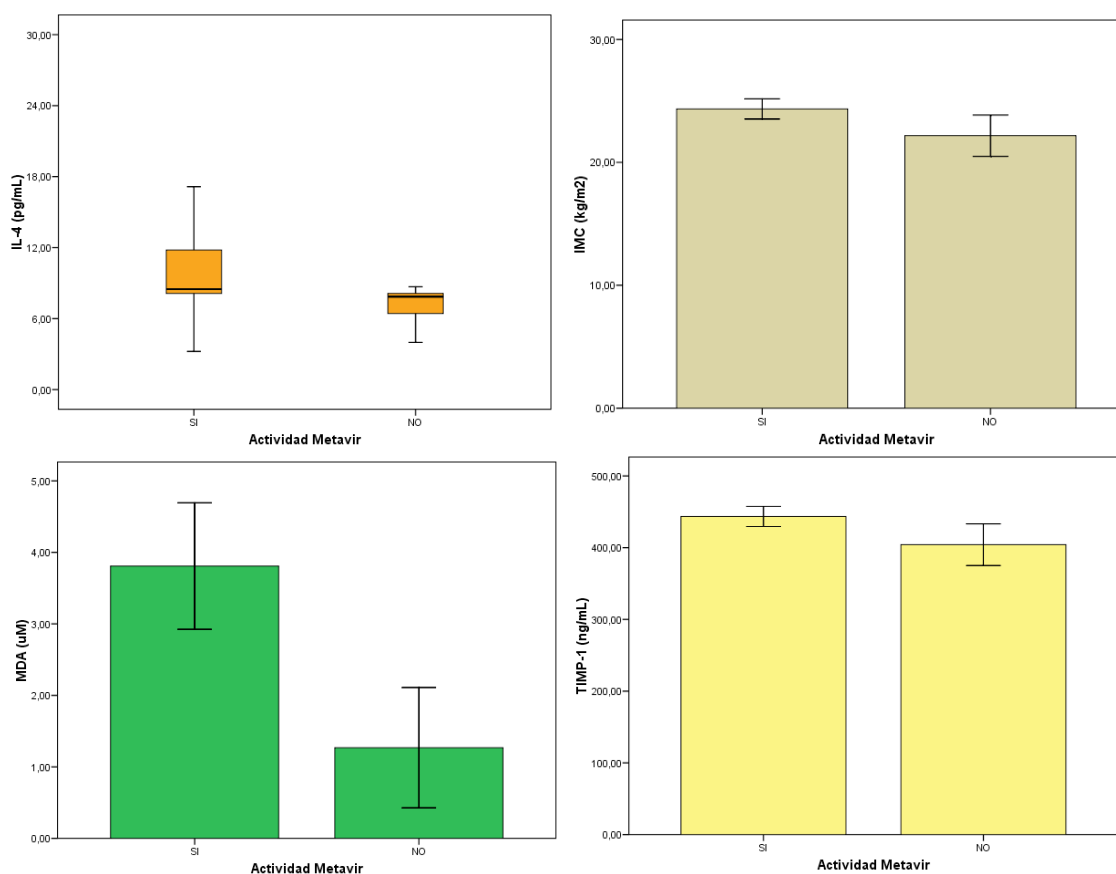


Gráfico 15: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de actividad Metavir clasificados según su ausencia o presencia.

2.2. Actividad histológica valorada según el índice de Knodell

2.2.1. Actividad histológica valorada según la necrosis periportal y en puentes clasificada según la mediana

La actividad histológica valorada según el índice de Knodell se relacionó de forma significativa con múltiples de las variables que analizamos en este trabajo, como se expone en la siguiente tabla:

CORRELACIONES ACTIVIDAD KNODELL	
Citoquinas	IL-4 (ρ 0.22, p 0.04)
Adipoquinas	TGF- β (ρ -0.39, p 0.001) TIMP-1 (ρ 0.23, p 0.06, NS)
Hormonas	IGF-1 (ρ -0.26, p 0.02)
Compartimentos	IMC (ρ 0.19, p 0.07, NS) Masa magra tronco (ρ 0.41, p 0.00) Masa magra total (ρ 0.31, p 0.006) Grasa brazos (ρ 0.22, p 0.05)
Bioquímica hepática	Albúmina (ρ -0.22, p 0.03) Protrombina (ρ -0.44, p 0.00) GOT (ρ 0.32, p 0.002) GGT (ρ 0.22, p 0.03)
Alteraciones histológicas	% grasa hepática (ρ 0.22, p 0.04) % fibrosis hepática (ρ 0.58, p 0.00)
Índices histológicos	Metavir actividad (ρ 0.87, p 0.00) Metavir fibrosis (ρ 0.54, p 0.00)

Tabla 35: relaciones significativas entre la actividad según el índice Knodell y las variables analizadas.

Cuando se clasificó la actividad histológica valorada según el índice de Knodell clasificado por encima y debajo de la mediana se observaron diferencias significativas con las siguientes variables:

	ActividadKnod < Me	ActividadKnod > Me	Z, T	P
TGF- β (pg/mL)	200.87 \pm 69.20	137.43 \pm 96.32	T 3.02	0.004
IGF-1 (ng/mL)	153.32 \pm 83.48 132.5 [93.9-192.5]	101.59 \pm 49.59 96.15 [67.22-111.25]	Z 2.79	0.005

Masa magra troncular (g)	23207.41 ± 4061.56	26639.73 ± 3746.36	T 3.37	0.001
Grasa brazos (g)	895.28 ± 578.56	1418.50 ± 1051.94	T 2.80	0.006
Albúmina (g/dL)	4.45 ± 0.27 4.5 [4.2-4.6]	4.18 ± 0.42 4.2 [4-4.5]	Z 2.88	0.004
Protrombina (%)	98.80 ± 4.50 100 [100-100]	96.62 ± 9.70 97 [87.5-100]	Z 4.23	0.00
GOT (U/L)	49.57 ± 32.83 37 [29-61]	76.36 ± 56.40 62 [42.5-84.5]	Z 3.15	0.002
GGT (U/L)	75.40 ± 58.27 55 [31-113]	143.56 ± 131.45 108 [50.5-214.5]	Z 2.63	0.008
% grasa hepática	2.33 ± 6.17 0.09 [0.01-1.24]	2.94 ± 5.05 0.60 [0.36-3.01]	Z 2.16	0.03
% fibrosis hepática	5.32 ± 4.92 4.4 [3.1-5.9]	15.18 ± 13.11 10.3 [6.15-19.15]	Z 5.19	0.00

Tabla 36: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de actividad según Knodell clasificada según la mediana.

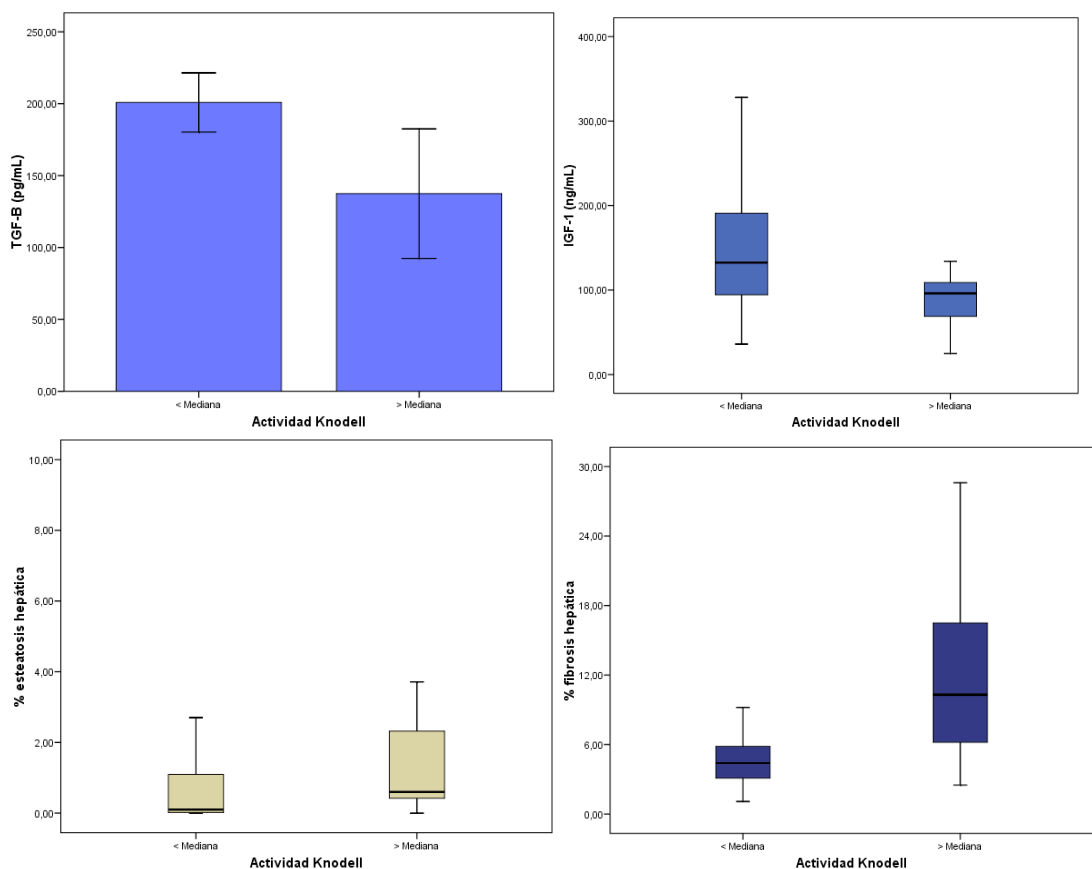


Gráfico 16: algunas variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de actividad según Knodell clasificada según la mediana.

En el análisis multivariante se observó una relación significativa independiente con el TGF- β , el porcentaje de fibrosis hepática y la albúmina:

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a	TGF-B	-,022	,007	9,043	1	,003	,979
	Constante	2,516	1,075	5,481	1	,019	12,374
Paso 2 ^a	% fibrosis hepática	,119	,057	4,374	1	,036	1,126
	TGF-B	-,022	,008	7,146	1	,008	,978
	Constante	1,546	1,254	1,521	1	,218	4,693
Paso 3 ^a	% fibrosis hepática	,114	,055	4,270	1	,039	1,121
	TGF-B	-,024	,009	6,950	1	,008	,976
	Albúmina	-2,995	1,357	4,871	1	,027	,050
	Constante	14,751	6,197	5,666	1	,017	2548012

Tabla 37: análisis multivariante de la actividad según el índice Knodell.

3. FIBROSIS HEPÁTICA

La media, mediana y rango intercuartílico de la fibrosis hepática fueron 8.25%, 5.30% y 3.32 – 9.05%.

Como se comentó en el apartado material y métodos procedimos a clasificar la fibrosis por debajo y encima de la mediana. También se valoró la fibrosis con los índices de Knodell y Metavir clasificados por debajo y encima de la mediana.

3.1. Relaciones significativas de la fibrosis hepática con las variables analizadas

La fibrosis hepática se relacionó de forma significativa con la grasa en los brazos, la masa magra troncular, la GOT, GGT y de forma inversa con los niveles de IGF-1 y protrombina. No se observaron relaciones significativas con las citocinas, las adipoquinas, la carga viral ni la esteatosis hepática.

CORRELACIONES DE LA FIBROSIS HEPÁTICA	
Hormonas	IGF-1 (ρ -0.35, p 0.002)
Compartimentos grasos	Grasa brazos (ρ 0.25, p 0.03)
Compartimentos magros	Masa magra troncular (ρ 0.23, p 0.05)
Parámetros bioquímicos hepáticos	GOT (ρ 0.39, p 0.00) GGT (ρ 0.22, p 0.04) Protrombina (ρ -0.30, p 0.006)

Tabla 38: relaciones significativas de la fibrosis hepática.

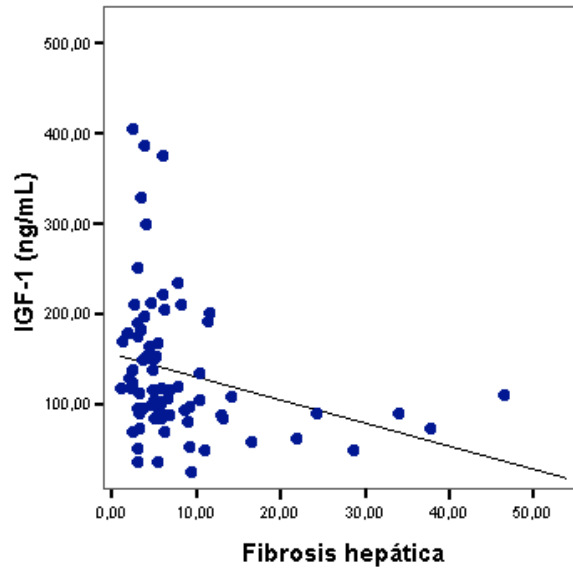


Gráfico 17: relación inversa entre niveles de IGF-1 y fibrosis hepática.

3.2. Diferencias significativas entre la fibrosis hepática y las variables analizadas

Sólo IGF-1, GOT y logaritmo de la carga viral mostraron diferencias significativas en los grupos de fibrosis clasificados según la mediana. No se observaron diferencias significativas con las citocinas, adipoquinas, compartimentos grasos o magros ni con la esteatosis hepática.

	Fibrosis > Me	Fibrosis < Me	Z	P
IGF-1 (ng/mL)	115.07 ± 68.29 94.45 [78.62-123.5]	155.94 ± 84.48 137.5 [98.97-184]	2.74	0.006
GOT (U/L)	68.38 ± 51.61 54.5 [36.5-79]	47.76 ± 29.13 36.5 [27.25-63.5]	2.41	0.02
LogCV	6.11 ± 0.66 6.19 [5.59-6.7]	5.75 ± 0.79 5.73 [5.36-6.41]	2.06	0.04

Tabla 39: variables que mostraron diferencias significativas en grupos de fibrosis hepática clasificada según la mediana.

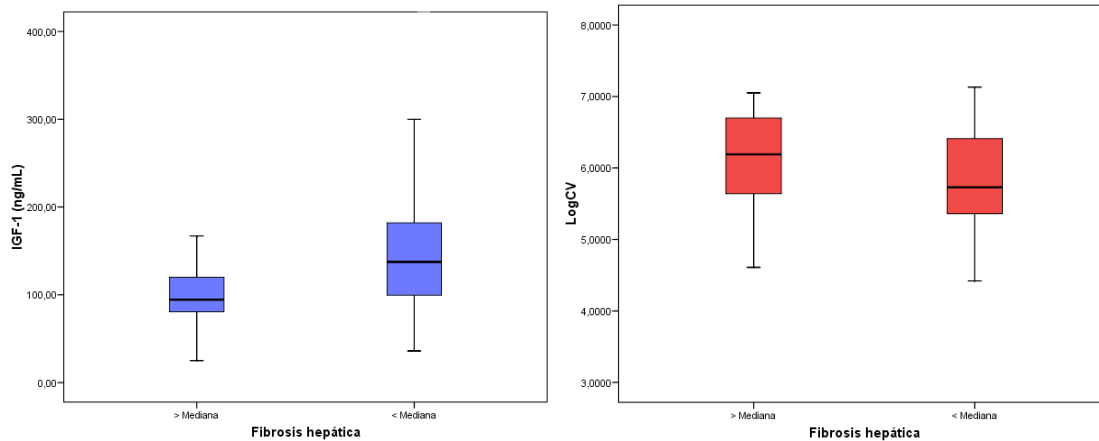


Gráfico 18: variables que mostraron diferencias significativas en grupos de fibrosis clasificada según la mediana.

En el análisis multivariante introduciendo las variables que habían mostrado diferencias significativas en el análisis univariante se observó que tanto el logaritmo de la carga viral como la GOT mantuvieron una relación independiente con la fibrosis hepática clasificada según la mediana:

Variable	Log verosimilitud del modelo	Cambio en -2 log de la verosimilitud	gl	Sig. del cambio
Paso 1 LogCV	-52,682	7,568	1	,006
Paso 2 GOT	-48,907	5,144	1	,023
LogCV	-50,900	9,129	1	,003

Tabla 40: análisis multivariante de la fibrosis hepática.

3.3. Fibrosis hepática valorada según el índice Metavir

La fibrosis hepática valorada según el índice de Metavir se relacionó de forma significativa con múltiples de las variables analizadas, como se muestra en la siguiente tabla:

CORRELACIONES FIBROSIS METAVIR	
Citocinas	IL-4 (ρ 0.24, p 0.002) TGF- β (ρ -0.31, p 0.01)
Adipoquinas	TIMP-1 (ρ 0.4, p 0.001)
Hormonas	Insulina (ρ 0.36, p 0.003) IGF-1 (ρ -0.36, p 0.001)

Compartimentos	IMC (ρ 0.25, p 0.02) Grasa brazos (ρ 0.35, p 0.002) Tejido magro tronco (ρ 0.41, p 0.00)
Bioquímica hepática	Protrombina (ρ -0.49, p 0.00) Albúmina (ρ -0.26, p 0.01) GOT (ρ 0.46, p 0.00) GPT (ρ 0.32, p 0.002) GGT (ρ 0.32, p 0.002) FA (ρ 0.24, p 0.02)
Histopatología	% fibrosis (ρ 0.58, p 0.00) Knodell fibrosis (ρ 0.74, p 0.00)

Tabla 41: relaciones significativas de la fibrosis según el índice Metavir.

Cuando se clasificó la fibrosis valorada según el índice Metavir por encima y debajo de la mediana se observaron diferencias significativas con las siguientes variables:

	MetavirF < Me	MetavirF > Me	Z, T	P
IL-4 (pg/mL)	11.93 \pm 10.27 8.12 [7.75-10.91]	17.03 \pm 24.24 8.49 [8.12-13.79]	Z 1.99	0.05
IGF-1 (ng/mL)	159.71 \pm 84.24 137.5 [99.95-190.75]	108.16 \pm 58.75 92.5 [64.07-129.5]	Z 3.20	0.001
T4 (ng/mL)	1.27 \pm 0.29	1.15 \pm 0.22	T 2.03	0.05
Grasa brazos (g)	876.14 \pm 574.71	1295.63 \pm 957.29	T 2.41	0.02
GOT (U/L)	48.94 \pm 31.48 37 [28-62]	69.66 \pm 52.98 58 [37-78]	Z 2.56	0.01
Protrombina (%)	99.54 \pm 1.53 100 [100-100]	93.26 \pm 9.76 98 [98-100]	Z 2.64	0.008
Bilirrubina (mg/dL)	0.69 \pm 0.32 0.6 [0.5-0.8]	0.95 \pm 0.71 0.8 [0.5-1]	Z 1.93	0.05
% grasa	1.16 \pm 2.42 0.12 [0.01-0.93]	4.39 \pm 8.28 0.53 [0.04-5.22]	Z 1.92	0.055 (NS)
% fibrosis	4.60 \pm 2.32 3.90 [3.05-5.75]	13.37 \pm 12.62 9.1 [5.2-14.1]	Z 4.93	0.00

Tabla 42: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de fibrosis según Metavir clasificada según la mediana.

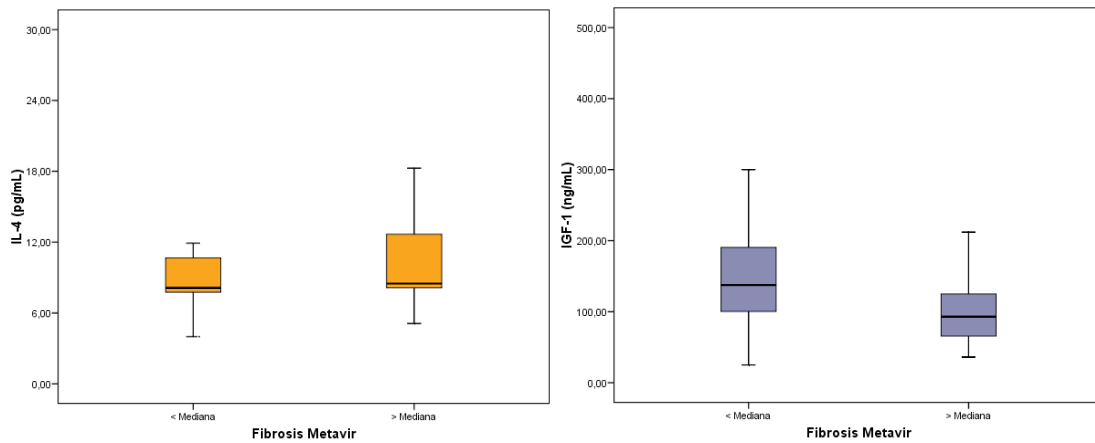


Gráfico 19: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de fibrosis según Metavir clasificada según la mediana.

En el análisis multivariante entre la fibrosis hepática valorada según Metavir y clasificada según la mediana, se observó que guardó una relación significativa e independiente con la actividad de la protrombina, y al excluirla dicha relación se estableció con IGF-1 y bilirrubina:

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a	Actividad protrombin	-,373	,138	7,327	1	,007	,689
	Constante	36,361	13,664	7,081	1	,008	6E+015
Paso 1 ^a	IGF-1	-,012	,005	5,645	1	,018	,988
	Constante	1,196	,638	3,512	1	,061	3,307
Paso 2 ^a	IGF1	-,014	,006	6,227	1	,013	,986
	Bilirrubina	1,380	,688	4,016	1	,045	3,973
	Constante	,288	,788	,133	1	,715	1,333

Tabla 43: análisis multivariante de la fibrosis hepática valorada según el índice Metavir y clasificada según la mediana.

3.4. Fibrosis hepática valorada según índice de Knodell

La fibrosis hepática valorada según el índice de Knodell se relacionó de forma significativa con múltiples de las variables analizadas, como se muestra en la siguiente tabla:

CORRELACIONES FIBROSIS KNODELL	
Citocinas	IL-4 (ρ 0.21, p 0.05) TGF- β (ρ -0.37, p 0.002)
Hormonas	IGF-1 (ρ -0.28, p 0.01)
Compartimentos	Grasa brazos (ρ 0.26, p 0.002)
Bioquímica hepática	Protrombina (ρ -0.44, p 0.00) Albúmina (ρ -0.23, p 0.03) Bilirrubina (ρ 0.21, p 0.05) GOT (ρ 0.34, p 0.001) GPT (ρ 0.26, p 0.02) GGT (ρ 0.29, p 0.008)
Histopatología	MetavirF (ρ 0.74, p 0.00) % fibrosis (ρ 0.62, p 0.00)

Tabla 44: relaciones significativas de la fibrosis hepática según el índice Knodell.

Cuando se clasificó la fibrosis valorada según el índice de Knodell por encima y debajo de la mediana se observaron diferencias significativas con las siguientes variables:

	KnodelIF < Me	KnodelIF > Me	Z, T	P
IL-4 (pg/mL)	12.90 \pm 14.27 8.12 [7.89-11.57]	17.13 \pm 24.37 8.88 [8.12-11.57]	Z 2.04	0.04
TGF-β (pg/mL)	197.23 \pm 72.25	143.08 \pm 96.62	T 2.49	0.02
IGF-1 (ng/mL)	151 \pm 83.44 125 [94.45-190.75]	103.38 \pm 49.58 89.25 [68.82-114.25]	Z 2.69	0.007
Protrombina (%)	98.74 \pm 4.47 100 [100-100]	91.96 \pm 10.09 95.5 [85.7-100]	Z 4.29	0.00
Albúmina (g/dL)	4.43 \pm 0.29 4.5 [4.2-4.62]	4.21 \pm 0.42 4.3 [4-4.5]	Z 2.35	0.02
GOT (U/L)	49.06 \pm 31.94 38 [28.75-61.25]	81.55 \pm 58.67 65 [46-90.5]	Z 3.52	0.00

GGT (U/L)	75.06 ± 58.54 51.5 [32.5-110]	153.86 ± 135.07 115 [54.5-210.5]	Z 2.87	0.004
Bilirrubina (mg/dL)	0.74 ± 0.5 0.6 [0.5-0.82]	0.95 ± 0.58 0.8 [0.57-1.05]	Z 2.08	0.04
% grasa	2.26 ± 6.01 0.12 [0.02-1.30]	3.22 ± 5.37 0.64 [0.24-4.08]	Z 1.77	0.08 (NS)
% fibrosis	4.85 ± 2.3 4.55 [3.1-5.9]	17.84 ± 14.12 12.96 [7.7-25.37]	Z 5.44	0.00

Tabla 45: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de fibrosis hepática valorada según Knodell y clasificada según la mediana.

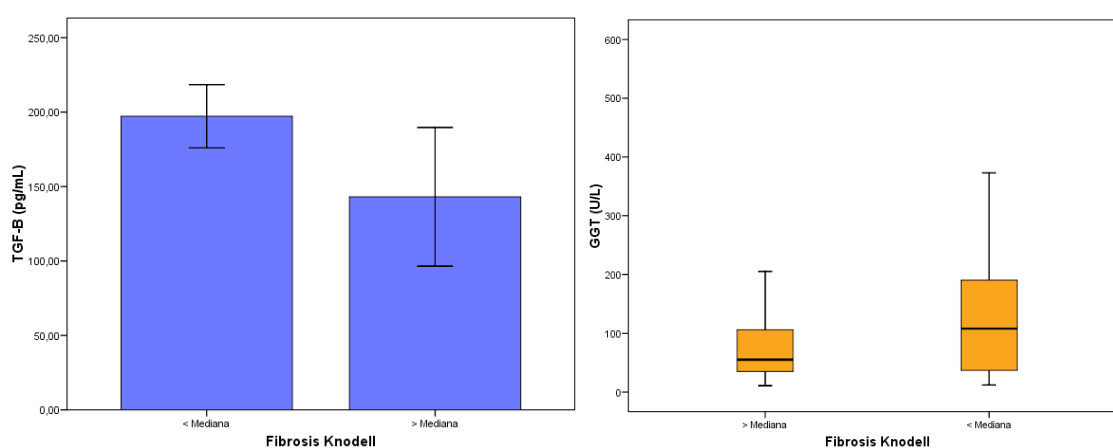


Gráfico 20: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de fibrosis hepática valorada según Knodell y clasificada según la mediana.

En el análisis multivariante, bilirrubina, GOT y protrombina guardaron una relación independiente con la fibrosis hepática valorada según el índice de Knodell y clasificada según la mediana. Destacar que cuando se excluyeron estas variables para realizar otro análisis de regresión con las otras variables que habían mostrado una relación significativa en el análisis univariante con la fibrosis hepática, no se observaron resultados significativos.

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a	Actividad protrombin	-,109	,049	4,992	1	,025	,897
	Constante	9,669	4,738	4,164	1	,041	15812,592
Paso 2 ^a	Bilirrubina	-2,047	1,061	3,720	1	,054	,129
	Actividad protrombin	-,233	,095	6,054	1	,014	,792
	Constante	23,144	9,830	5,544	1	,019	1E+010
Paso 3 ^a	Bilirrubina	-2,349	1,157	4,121	1	,042	,095
	GOT	,016	,008	3,410	1	,065	1,016
	Actividad protrombin	-,252	,104	5,939	1	,015	,777
	Constante	24,329	10,695	5,175	1	,023	4E+010

Tabla 46: análisis multivariante de la fibrosis hepática valorada según Knodell y clasificada según la mediana.

4. GENOTIPOS VIRALES

Se expone a continuación la distribución de los genotipos. Como se puede observar la mayor parte está formada por el genotipo 1.

- Genotipo 1: 65 pacientes.
- Genotipo 3: 8 pacientes.
- Genotipo 4: 12 pacientes.
- Genotipo 2,4,5a: 1 paciente.
- Total: 86 pacientes.

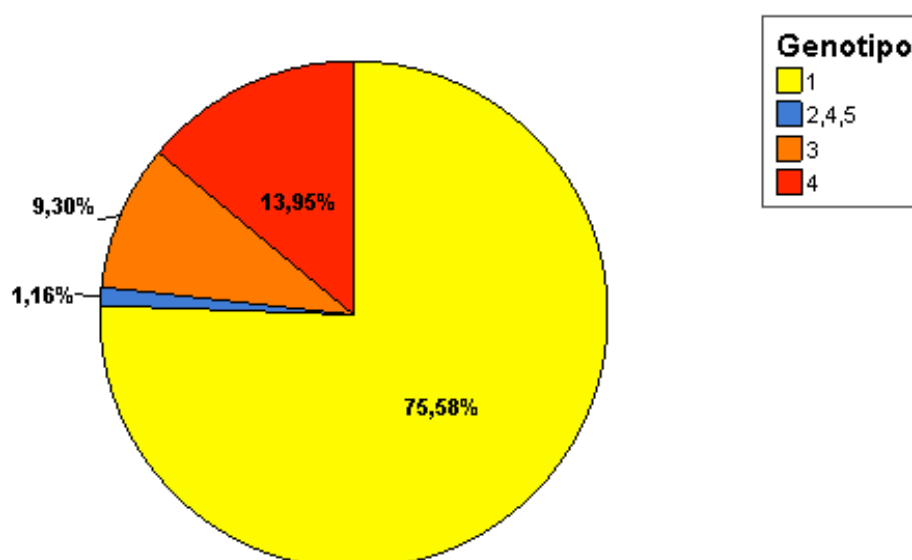


Gráfico 21: distribución de los genotipos virales.

4.1. Genotipo 1

En la población con genotipo 1, la esteatosis hepática se relacionó de forma significativa con la IGF-1, la grasa en los brazos, varios parámetros bioquímicos hepático y el porcentaje de fibrosis hepática. La fibrosis hepática se relacionó de forma significativa con IGF-1, TIMP-1, la grasa en brazos y varios parámetros bioquímicos hepáticos. Se muestran a continuación en la tabla otras relaciones significativas en este grupo de pacientes:

CORRELACIONES GRASA	CORRELACIONES FIBROSIS	OTRAS CORRELACIONES
		TNF- α con IGF-1 (ρ -0.30, p 0.02) TNF- α con GOT (ρ 0.31, p 0.01)
	TIMP-1 (ρ 0.32, p 0.03)	Leptina con IMC (ρ 0.36, p 0.02) Leptina con grasa tronco (ρ 0.51, p 0.001) Leptina con grasa brazos (ρ 0.40, p 0.01) Leptina con grasa total (ρ 0.54, p 0.00)
IGF-1 (ρ -0.29, p 0.03)	IGF-1 (ρ -0.46, p 0.00)	IGF-1 con IMC (ρ -0.26, p 0.05) IGF-1 con grasa tronco (ρ -0.32, p 0.02) IGF-1 con TIMP-1 (ρ -0.38, p 0.01)
Grasa brazos (ρ 0.27, p 0.05]	Grasa brazos (ρ 0.30, p 0.03)	IMC con HOMA (ρ 0.30, p 0.04) Grasa tronco con HOMA (ρ 0.36, p 0.002) Grasa tronco con insulina (ρ 0.30, p 0.05) Grasa brazos con insulina (ρ 0.38, p 0.02) Grasa total con insulina (ρ 0.41, p 0.01)
GOT (ρ 0.29, p 0.02) GGT (ρ 0.44, p 0.00)	GOT (ρ 0.40, p 0.003) GGT (ρ 0.27, p 0.03) FA (ρ 0.30, p 0.02)	
% fibrosis hepática (ρ 0.28, p 0.003)	% grasa hepática (ρ 0.28, p 0.003)	

Tabla 47: relaciones significativas observadas en el grupo con genotipo 1.

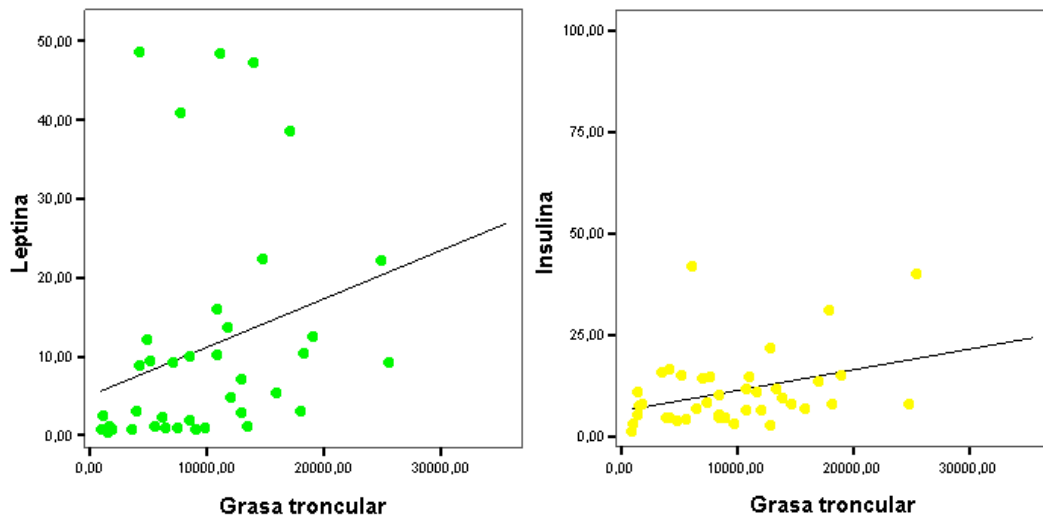


Gráfico 22: la leptina mantuvo una relación más estrecha que la insulina con la grasa troncular en pacientes con genotipo 1.

A continuación se muestra en una tabla las diferencias significativas encontradas al comparar genotipo 1 frente genotipo no 1 con todas las variables analizadas:

	Genotipo 1	Genotipo no 1	Z, T	P
IL-6 (pg/mL)	3.08 ± 2.75 2 [2-2.46]	7.17 ± 7.18 2 [2-13.5]	Z 2.11	0.03
MDA (µM)	4.11 ± 3.07	1.89 ± 1.69	T 2.55	0.01
Grasa tronco (g)	9015.67 ± 5829.80	12147.37 ± 6546.03	T 1.96	0.05
Bilirrubina (mg/dL)	0.85 ± 0.58 0.70 [0.50-1]	0.61 ± 0.25 0.50 [0.45-0.80]	Z 1.88	0.06 (NS)
% grasa hepática	1.19 ± 2.39 0.15 [0.02-0.88]	6.47 ± 10.08 1.25 [0.09-10.34]	Z 2.43	0.008
LogCV	6.06 ± 0.76	5.57 ± 0.55	Z 2.71	0.02

Tabla 48: variables que mostraron diferencias significativas en los grupos de genotipo 1 y no 1.

4.2. Genotipo 3

En este grupo de pacientes, el porcentaje de grasa hepática guardó una relación significativa con el TNF- α ($\rho = 0.81$, $p = 0.02$), el IMC ($\rho = 0.74$, $p = 0.04$) y una relación inversa con la albúmina ($\rho = -0.71$, $p = 0.05$). El porcentaje de fibrosis no guardó relación con ninguna de las variables analizadas.

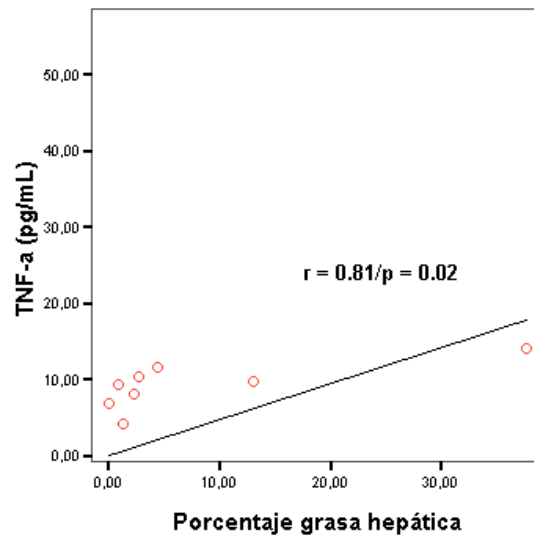


Gráfico 23: relación entre TNF- α y esteatosis hepática en grupo con genotipo 3.

Cuando se comparó el genotipo 3 ($n = 8$) frente al genotipo no 3 ($n = 78$) se encontraron las siguientes diferencias significativas que exponemos en la tabla:

	Genotipo 3	Genotipo no 3	Z, T	P
IL-6 (pg/mL)	10.54 \pm 7.51 9.66 [2.93-16.92]	3.44 \pm 3.68 2 [2-2.41]	3.43	0.001
25(OH)D	30.75 \pm 21.75	50.69 \pm 17.46	T 2.91	0.004
Triglicéridos (mg/dL)	88.63 \pm 43.26 79.50 [50.25-119.25]	142 \pm 92.97 108 [88.5-160.5]	2.13	0.03
LDH (U/L)	221.88 \pm 78.57	301.14 \pm 104.15	T 2.14	0.03
% grasa hepática	7.79 \pm 12.75 2.51 [1.02-10.85]	1.95 \pm 4.38 0.19 [0.02-1.10]	2.47	0.01
% fibrosis hepática	4.36 \pm 2.54 3.50 [2.77-4.85]	8.66 \pm 9.70 5.6 [3.52-9.17]	1.82	0.07 (NS)

Tabla 49: variables que mostraron diferencias significativas en grupos de genotipo 3 y no 3.

VI. DISCUSIÓN

Como se comentó en la introducción, la infección crónica por el VHC incluye varias alteraciones histológicas que incluyen la esteatosis hepática, la esteatohepatitis y la fibrosis. Es posible que no en todos los casos coexistan todas estas alteraciones. Diversos estudios realizados en otros centros revelan que en cortes transversales de grupos de pacientes infectados por el VHC, la prevalencia de esteatosis oscila entre un 54% (Ahmed et al, 2011), 56% (Oukaa-Kchaou A et al, 2011), 47% (Guaraldi et al, 2011), 53,3% (Adinolfi et al, 2012), por citar sólo algunos. En nuestro estudio encontramos que existía algún grado de esteatosis hepática en un 82%, pero es necesario matizar que el criterio seguido es diferente: en la mayoría de los trabajos referidos previamente la esteatosis hepática significativa se consideraba si había > 5% de hepatocitos con grasa. Si consideramos la esteatosis hepática como una cantidad de grasa total presente en la biopsia > 5%, en nuestro estudio había solamente un 16% de pacientes con esteatosis significativa.

Es llamativo que la prevalencia de esteatosis era mucho más frecuente en los pacientes alcohólicos, siendo esta asociación estadísticamente significativa. El alcohol induce la síntesis endógena de triglicéridos por parte del hepatocito, ya que por una parte actúa aumentando la expresión génica de enzimas involucrados en la síntesis de triglicéridos, y por otra, el desequilibrio redox que genera su metabolismo favorece la síntesis de ácidos grasos y se opone a la oxidación de los mismos, como se ha comentado en el apartado de introducción. Es de destacar que en nuestro estudio había 15 pacientes que no presentaron esteatosis en absoluto, pero de esos 15 únicamente uno era alcohólico, siendo esta asociación estadísticamente significativa, lo que refuerza el papel patogénico del alcohol en la esteatosis como hemos comentado.

En cambio, no encontramos que hubiera relación entre la coinfección por VIH y la presencia de esteatosis, al contrario de los resultados referidos por Guaraldi G et al (2011), en los que la coinfección por VIH suponía un riesgo extra para el desarrollo de esteatosis.

También se han descrito diferencias en relación al genotipo. La posible explicación a estas diferencias las discutiremos más adelante, pero lo cierto es que el genotipo 3 puede ejercer efectos citopáticos directos que conducen al desarrollo de esteatosis sin necesidad de generar alteraciones metabólicas asociadas. En nuestro estudio es interesante resaltar que la esteatosis era más intensa en los pacientes con genotipo 3 al compararlos con el resto ($p = 0.013$).

1.- Grasa corporal y esteatosis hepática

La esteatosis hepática consiste en la acumulación intrahepatocitaria de triglicéridos y proteínas (Baraona, 1977), que justifican un 50% del incremento de peso y tamaño de estas células; el otro 50% deriva del agua embebida como consecuencia del aumento de presión oncótica. La acumulación de grasa refleja en última instancia la incapacidad del hepatocito para exportar los triglicéridos con los que se carga. Los ácidos grasos de donde derivan estos triglicéridos provienen fundamentalmente del tejido adiposo por acción de la lipasa hormonosensible, que se activa en presencia de hormonas contrainsulares o cuando existe resistencia a la insulina. Continuamente existe un cierto grado de actividad de la lipasa hormono sensible que hace que podamos detectar siempre una concentración determinada de ácidos grasos provenientes de los depósitos tisulares. En condiciones normales, el hígado es capaz de oxidarlos y/o incorporarlos a nuevas partículas lipoproteicas (VLDL) para exportarlos.

Por tanto, al analizar la patogenia de la esteatosis hepática es necesario hacer una primera referencia a la cuantía del depósito graso corporal, ya que es de aquí de donde van a provenir los ácidos grasos que se acumularán en el hígado. En nuestro estudio encontramos correlaciones positivas estadísticamente significativas entre la cantidad de grasa en diversos compartimentos corporales y la grasa hepática. Este resultado concuerda plenamente con los postulados teóricos que acabamos de exponer y también con lo referido por otros autores, como Guaraldi et al (2011), quienes encuentra una relación entre el perímetro de

cintura y la cantidad de esteatosis hepática, y con lo hallado en un trabajo previo de nuestro grupo (González-Reimers et al, 2008), en el que encontramos una relación entre el perímetro de cintura y la cantidad de grasa hepática en un colectivo diferente al aquí estudiado. Parece claro, por tanto, que el tejido graso, y especialmente la grasa troncular, juegan un papel relevante en la génesis de la esteatosis hepática. A pesar de que el índice de cintura no ha sido medido en nuestros pacientes, ni tampoco de forma directa la grasa visceral, la grasa troncular puede asimilarse a estas dos variables, ya que las incluye. La importancia de la grasa troncular en la patogenia de la esteatosis en nuestros pacientes se pone de manifiesto al interpretar los resultados del análisis multivariante incluyendo parámetros antropométricos: fue la grasa troncular la única que guardó relación significativa independiente con la cantidad de grasa hepática en este tipo de análisis.

La relación encontrada entre IMC y grasa hepática, en concordancia con lo referido por otros autores (Adler M, 1979; Moreno-Sánchez, 2005), debe interpretarse como dependiente de la relación entre grasa corporal y esteatosis, ya que no encontramos relación alguna entre el porcentaje de esteatosis hepática y los parámetros de tejido magro. Sin embargo, es destacable que aquellos pacientes que no tenían grasa ninguna en la biopsia hepática tenían menos masa magra troncular de forma significativa (p 0.04). Este hallazgo no es sencillo de explicar, teniendo presente que ninguno de nuestros pacientes estaba malnutrido, por lo que no puede atribuirse a que aquellos pacientes con menor masa magra tampoco tuviera tejido adiposo suficiente para aportar ácidos grasos al hígado. Esto sugiere que además de la importancia de los depósitos grasos en la génesis de la esteatosis hepática, existen otros factores, como comentaremos después, que ya se han apuntado en trabajos previos (González Reimers et al, 2008). Así, Guaraldi et al (2011) encuentran que el sexo femenino y la presencia de coinfección por VIH se relacionaban de forma significativa con la esteatosis hepática asociada al VHC. En nuestro estudio no observamos diferencias entre hombres y mujeres ni entre coinfectados ni no coinfectados, aunque sí debemos mencionar que en los pacientes alcohólicos fue excepcional (sólo 1 caso) la

ausencia de grasa en la biopsia hepática. El que en el alcohólico pueda existir mayor cantidad de grasa hepática es un hecho que en nada puede sorprendernos, ya que el metabolismo del etanol por sí mismo es un factor patogénico de primer orden en la génesis de la esteatosis hepática (Soizo M et al, 2008).

Juegue el etanol un papel más o menos importante, ejerza o no el sexo femenino y la coinfección por VIH un efecto modulador, y haya o no otros factores que posiblemente influyan también, lo cierto es que de esta primera parte de nuestro estudio se puede concluir que la cantidad de grasa que se acumula en el hígado del paciente con infección por VHC guarda relación con la grasa troncular.

2.1. Factores implicados en la movilización de ácidos grasos: hormonas

La movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo al hígado está gobernada fundamentalmente por la insulina y algunas hormonas contrainsulares. Por ejemplo, el cortisol ejerce un efecto redistribuidor de la grasa corporal que justifica las clásicas alteraciones morfológicas del paciente afecto de enfermedad de Cushing, y que genera esteatosis hepática. Por esto no tiene nada de extraño que hayamos encontrado una relación casi significativa entre el cortisol plasmático y una mayor cantidad de grasa hepática (p 0.060), aunque los niveles de cortisol en nuestros pacientes estaban dentro del rango de la normalidad. Este resultado concuerda con lo referido por Targher et al (2006) en esteatohepatitis no alcohólica de pacientes diabéticos. Como se conoce, los glucocorticoides promueven la esteatosis hepática estimulando por una parte la lipogénesis hepatocitaria y promoviendo además la lipólisis desde el tejido graso, fundamentalmente del tejido graso visceral (Ahmed et al, 2012).

Probablemente sea más importante el efecto de la insulina, que juega un papel central en el metabolismo graso, conociéndose que inhibe en condiciones

normales la lipólisis y que la resistencia a la acción de la insulina favorece el aumento de la oferta de ácidos grasos al hígado. Estos postulados teóricos parecen verse corroborados en nuestro estudio, ya que encontramos una relación directa entre insulina y cantidad de grasa hepática, pero sobre todo entre el índice HOMA y la cantidad de grasa hepática.

Una de las formas de estimar la insulín-resistencia es mediante el cálculo del producto insulina por glucosa, es decir, el HOMA. Es lógico que a mayor grado de insulín-resistencia esté más activada la lipólisis y aparezca mayor cantidad de grasa hepática, resultado encontrado en nuestro estudio considerando todos los pacientes. Este resultado se sustenta en bases teóricas, pero hay que considerar que el HOMA es en cierta manera inespecífico, ya que en diabéticos totalmente insulinoprivos la insulina va a estar muy descendida, mientras que en diabéticos tipo 2, especialmente en sus fases iniciales, va a estar aumentada. En cualquier caso, el resultado es congruente con la teoría de la insulín-resistencia como responsable de la esteatosis hepática. La insulín resistencia es una característica de las fases precoces de la diabetes tipo 2 y del síndrome metabólico en el que la obesidad es un fenómeno definitorio. En este sentido nuestros resultados demuestran una estrecha relación entre el índice HOMA por una parte, y tanto el IMC, la grasa total y la grasa troncular por otra. También encontramos relación con grasa en otros compartimentos corporales, como la grasa en piernas y en brazos. Aunque insistiremos más tarde en este aspecto, queremos recordar aquí que clásicamente se ha dicho que el tejido adiposo más relacionado con la insulín-resistencia y el riesgo vascular es el visceral, pero la obesidad, al aumentar el sustrato lipídico, aumenta también de manera absoluta la cantidad de ácidos grasos que llegan al hígado. Por eso, la relación encontrada entre grasa hepática y grasa periférica concuerda plenamente con el estado actual del conocimiento.

Otras hormonas pueden jugar un papel en la esteatosis hepática, aunque los mecanismos son menos conocidos. Recientemente hay algunos estudios en los que se sugiere una relación inversa entre vitamina D (calcidiol) y esteatosis

hepática (Targher et al, 2007). Esto puede interpretarse de diversas maneras. Se sabe actualmente que la vitamina D, al margen de sus efectos sobre el metabolismo óseo, tiene efectos antioxidantes y antiapoptóticos directos sobre el hepatocito, que podrían defenderlo de la excesiva acumulación de grasa. Por otro lado, se ha observado que el tejido adiposo guarda relación inversa con los niveles de calcidiol, ya que esta vitamina, al ser liposoluble tienden a “quedar secuestrada” en el tejido graso. Incluso, hay autores (Pilz S et al, 2011; Temmerman JC, 2011) que han desarrollado la hipótesis de que el aumento de riesgo vascular asociado a la obesidad por una parte y a niveles bajos de vitamina D obedece al descenso de la capacidad antioxidante y antiapoptótica de esta vitamina al estar en su mayor parte secuestrada en el tejido adiposo y no disponible por lo tanto para que en otros tejidos module la transcripción de genes con funciones “protectoras”. Los resultados encontrados aquí son compatibles con esta hipótesis, ya que la vitamina D mostraba una tendencia ($p = 0.12$) a estar más baja en los que tenían más grasa hepática, y guardaba una relación significativa con la grasa troncular, de manera que estaba descendida en aquéllos cuya grasa troncular era superior a la mediana comparada con aquellos pacientes con grasa troncular inferior a la mediana. Esta relación se observa también con el IMC. Lo que no queda claro es si la relación de la vitamina D con la esteatosis hepática es por un efecto directo sobre el hepatocito o por su relación inversa con la grasa.

La IGF-1 ejerce efectos sobre todo anabolizantes, tanto a corto plazo, favoreciendo la síntesis proteica y de ácidos grasos y la captación de glucosa y triglicéridos (Bhasker & Friedmann, 2008), como a largo plazo (induciendo diferenciación y crecimiento celular en múltiples tejidos). En nuestro estudio encontramos niveles más bajos de IGF-1 en pacientes comparados con controles de forma significativa, y además niveles más bajos aún en aquéllos que tenían más esteatosis hepática, más grasa troncular y mayor IMC. Este resultado concuerda con lo descrito por Helaly et al (2011), quien refiere niveles más disminuidos de IGF-1 en pacientes con VHC al compararlos con controles, y con los de Fusco et al (2011), quienes

encuentran también niveles más bajos de IGF-1 en esteatohepatitis relacionada con obesidad. Arturi et al (2011) interpretan este hecho como expresión del efecto de la resistencia insulínica sobre la estimulación que la GH ejerce sobre el hepatocito para producir IGF-1. Por lo tanto, el descenso de la IGF-1 en los pacientes con mayor intensidad de esteatosis sería una consecuencia de la resistencia insulínica, pero no jugaría papel causal alguno sobre la acumulación de grasa en el hepatocito. En nuestra casuística, si bien hubo una tendencia a la asociación inversa entre IGF-1 y HOMA, ésta no llegó a alcanzar la significación estadística.

Merece un comentario la relación inversa encontrada entre tiroxina y esteatosis hepática. Esta concuerda con lo referido por otros autores, como Ittermann et al (2012). Aunque la hormona tiroidea puede movilizar las grasas, es conocido que el hipotiroidismo genera obesidad, factor directamente relacionado en la génesis de la esteatosis. Es posible por lo tanto que de esa forma se explique la relación inversa observada, como también podría explicarse aduciendo que la mayor demanda metabólica relacionada con el hipertiroidismo incrementaría la oxidación de los ácidos grasos disponibles. En cualquier caso, los pacientes incluidos en este estudio no estaban en situación de hipertiroidismo, por lo que es probable que la relación encontrada no refleje un hecho patogénico de la esteatosis del paciente con HCV, sino que sea una mera expresión de un fenómeno fisiológico normal.

2.2. Factores implicados en la movilización de ácidos grasos: citocinas y adipocinas

Resumiendo los hallazgos relacionados con las hormonas estudiadas, parece que la resistencia insulínica y el efecto de una hormona contrainsular como el cortisol contribuyen a que la grasa se movilice hacia el hígado y quede atrapada en el hepatocito. Pero hemos de considerar que la movilización de ácidos grasos desde el tejido graso al hígado está gobernada no sólo por insulina

y hormonas contrainsulares, sino también por citocinas producidas por el propio tejido adiposo. Como ya apuntamos antes, es éste un tejido heterogéneo desde el punto de vista metabólico, y existen datos que sugieren que la repercusión que tiene la excesiva acumulación de grasa depende de dónde se acumule ésta (Liu J, 2010), lugar que a su vez depende de varios factores, algunos parcialmente conocidos, y otros desde luego relacionados con las hormonas sexuales. Así se sabe que es la grasa visceral (aquella que se acumula en la región abdominal) la más relacionada con el riesgo vascular y con la esteatohepatitis (van der Poorter, 2008), y esto se debe en parte a que la grasa visceral es fuente de citoquinas con acción contrainsular, fundamentalmente TNF- α e IL-6, además de varias otras adipoquinas (Grimble RF et al, 2002). Ello no es óbice para que en nuestro estudio la insulín- resistencia (expresada por el índice HOMA), además de con la grasa troncular, también se relacionase con la grasa en piernas (teóricamente protectora) y brazos.

Además de las citocinas señaladas (TNF e IL-6), una de las adipoquinas cuyo estudio es pertinente en este trabajo es la adiponectina. Parece ser que TNF- α y adiponectina juegan un papel contrapuesto, debiendo existir un equilibrio entre ambas para el metabolismo normal. El TNF- α , citocina proinflamatoria por excelencia, induce insulín resistencia y tiene un efecto lipolítico directo (no en vano se denominaba caquectina). En concordancia con todo lo anteriormente expuesto, en nuestro estudio el TNF- α se relacionó de forma significativa con la cantidad de grasa presente en el hígado, al igual que la IL-6. Este resultado concuerda con lo referido en la literatura (Decock S et al, 2007). Además, el TNF- α se relacionaba de forma directa con el HOMA, subrayando el papel patogénico que tiene esta citocina sobre la resistencia insulínica (Hotamisligil et al, 1993). El TNF- α es una citocina clave en el desarrollo de esteatosis hepática en estos pacientes y en nuestro estudio hemos encontrado, además de unos niveles más elevados de TNF- α en pacientes que en controles, una relación estadísticamente significativa entre los niveles de TNF- α y la cantidad de esteatosis hepática, tanto valorada cuantitativamente como clasificada en cuartiles. Como señalamos previamente, TNF- α induce esteatosis interfiriendo

con el metabolismo de SREBP-1 y AMPK. Múltiples autores, como Zografos et al (2008), estudian conjuntamente TNF- α y adiponectina observando resultados contrapuestos en lo que se refiere a la relación con la esteatosis. Por otro lado la elevación de la IL-6 en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica está documentada por otros autores, como Das y Balakrishnan (2011).

En cambio, la adiponectina, clásica adipoquina “protectora”, no presentaba relación alguna ni con la cantidad de grasa hepática ni grasa periférica ni tampoco correlaciones negativas con TNF- α ni IL-6, aunque en general hay una tendencia a mayor actividad y mayor fibrosis y valores más altos del Knodell en pacientes con adiponectinas más bajas. Se ha citado una correlación inversa entre alteraciones histopatológicas y niveles de Adiponectina sólo en hombres (Kukla et al, 2011). Un resultado parecido hemos encontrado en nuestro estudio al haber observado una relación inversa entre niveles de adiponectina e índice de Knodell en pacientes varones. También encontramos una relación inversa entre los niveles de adiponectina e IL-6 pero de nuevo únicamente en varones. Como comentamos anteriormente la adiponectina puede considerarse una citoquina antiinflamatoria opuesta al efecto del TNF-a e incluso al de IL-6. El hecho de que sólo se observen estos resultados en varones puede deberse a la diferente distribución de la grasa en hombres y mujeres.

La adiponectina es una adipoquina producida por el tejido adiposo que tiene unos efectos en cierta manera agonistas a los de la insulina. De hecho, se opone a la insulín-resistencia y contrarresta también los efectos hiperglucemiantes del TNF- α . Hay notable controversia con respecto al comportamiento de la adiponectina en pacientes afectados por infección por VHC, ya que si bien una mayoría de autores encuentran niveles más bajos de esta citoquina en pacientes afectados con VHC, algunos no encontraron diferencias entre pacientes y controles (Baranova et al, 2011). En nuestro estudio hemos observado que los niveles de adiponectina estaban más disminuidos en pacientes que en controles, resultado similar al encontrado por Grigorescu M et al (2008) o Petit JM et al (2005). Este resultado es lógico dada la relación inversa descrita

entre el índice HOMA y la adiponectina y el efecto “protector” de esta adipoquina sobre la esteatosis hepática. De hecho, muchos autores han encontrado una relación inversa entre niveles de adiponectina y cantidad de grasa hepática (Petit JM et al, 2005; Durente-Mangoni et al, 2006), si bien es cierto que otros autores no han encontrado relación alguna (Jonsson et al, 2008). Ashour et al (2010) encuentra también una relación inversa entre adiponectina y esteatosis. Sin embargo, en un estudio previo de nuestro grupo (Reimers et al, 2009) no encontramos relación entre adiponectina y esteatosis hepática en pacientes con VHC. Otros autores (Kara B et al, 2007) no encuentran diferencias entre los niveles de adiponectina entre pacientes y controles, ni relación de la adiponectina con la severidad de la esteatosis.

Nos parece interesante señalar que no hubo diferencias en el comportamiento de la adiponectina entre pacientes alcohólicos y no alcohólicos en nuestro estudio. Por el contrario, en pacientes coinfectados por VIH presentaban niveles de adiponectina mucho más bajos que los mono infectados por VHC, quizás como expresión de lipodistrofia relacionada con el tratamiento antirretroviral.

Por lo tanto, TNF-alfa e interleuquina-6, más elevadas en nuestros pacientes que en los controles estudiados, guardan una clara relación con la acumulación de grasa en el hepatocito, sin que podamos discernir aquí si esta relación es causa o efecto de la esteatosis, ya que la acumulación de grasa en el hepatocito puede inducir al producción de citocinas proinflamatorias por parte de éste (Fallahi P et al, 2012). Además, el proceso inflamatorio derivado de la infección por el VHC da lugar a un incremento del TNF- α . En este sentido analizamos si aparecían diferencias entre los distintos genotipos o relación entre carga viral y esta citoquina, encontrando como ya señalamos, una relación significativa con esta última: a mayor cantidad de virus, mayor elevación del TNF, lo que permite añadir la hipótesis de que es la infección viral, independientemente del tejido graso la que genera el aumento del TNF- α . Sin embargo, la

adiponectina, aunque más baja que en controles, no parece jugar papel relevante alguno.

La leptina es una adipoquina derivada del tejido adiposo que interviene en la regulación energética, aunque también se ha descrito su papel en funciones inmunes (Guzik T, 2006) y su participación en procesos inflamatorios y fibrogénicos en pacientes con VHC (Testa R, 2000), si bien su papel no está del todo claro. En nuestro estudio encontramos la correlación descrita entre leptina y masa grasa (truncular y total) y entre leptina e IMC, pero no hubo relación entre los niveles de leptina y la grasa hepática, ni tampoco entre niveles de leptina y citocinas proinflamatorias, fibrosis hepática o actividad inflamatoria hepática, por lo que no podemos concluir que la leptina juegue un papel en la esteatosis asociada al virus HCV.

La leptina también puede considerarse una hormona anorexígena, regulada por el estado nutricional. En los obesos se ha descrito niveles elevados de leptina (Considine R et al, 1996). Esta situación aparentemente paradójica (un individuo muy obeso lo es porque su aporte calórico ha excedido al gasto) debería tener niveles bajos de leptina, por lo que la situación de hiperleptinemia descrita en obesos ha recibido el nombre de síndrome de resistencia a la leptina (Mantzoros CS et al, 1999). En nuestro estudio no encontramos diferencias entre pacientes y controles, pero sí que observamos que la relación entre compartimentos grasos a todos los niveles y leptina fue estrecha y positiva, en concordancia con el mencionado concepto de resistencia a la leptina, y con los resultados obtenidos por otros autores (Trayhurn P et al, 1999). Es llamativo que de forma paralela a la resistencia a la leptina, leptina y HOMA guardaron una relación estadísticamente significativa, sugiriendo que tal vez que la acumulación excesiva de grasa actúa como factor común a ambos hechos. Sin embargo, no observamos diferencias cuando clasificamos a los pacientes según la mediana del IMC, subrayando en este sentido lo que mencionamos previamente acerca del carácter global del IMC en la estimación del estado nutricional.

En definitiva, la leptina no se asoció al depósito hepático de grasa, aunque sí a la grasa corporal. Los resultados relativos a la leptina en la infección crónica por VHC son dispares; hay autores como Tiftikci et al (2009) que encuentran niveles elevados en comparación con controles; Testa R et al (2000) encuentran niveles inferiores comparados con controles, al igual que Elbadawy et al (2006) en la infección por VHC; recientemente Nkontchoy G et al (2010) no encuentran que los niveles de leptina tengan relación pronóstica alguna en la infección por VHC; Ashour E et al (2010) encuentran niveles elevados de leptina en comparación con controles. Respecto al desarrollo de esteatosis en la infección crónica por VHC, la asociación con la leptina tampoco está bien establecida (Myers RP et al, 2007), pero nuestros resultados son opuestos a los encontrados por Ashour et al (2010), que sí observaron relación entre niveles elevados de leptina y esteatosis, aunque concordantes con los de Elbadawy et al (2006), quienes no encontraron relación alguna entre niveles de leptina e intensidad de la esteatosis en sus pacientes, ni con Giannini et al (2000), quienes tampoco encuentra relación entre niveles de leptina y esteatosis en pacientes con VHC; ni con Ellidokuz E et al (2003), quienes tampoco observaron diferencias entre pacientes con esteatosis y sin esteatosis en VHC.

La resistina es una adipoquina liberada por los adipocitos y las células inflamatorias que infiltran la grasa. Actúa fundamentalmente sobre el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo, donde causa resistencia insulínica. Por eso no es de extrañar que hayamos encontrado relación entre la resistina y la cantidad de grasa hepática: en el análisis multivariante, al introducir todas las adipoquinas, insulina y HOMA es la resistina es el segundo parámetro que muestra una relación independiente con la cantidad de grasa hepática, por detrás del TIMP-1, pero superando al HOMA. Esta relación es además directa, es decir, a mayor resistencia insulínica, más grasa en el hígado. Por lo tanto, los resultados de este estudio refuerzan el importante papel de resistina como factor de resistencia insulínica en la infección por HCV. Los valores de resistina han sido estudiados por varios autores en la hepatitis y en otras formas de esteatohepatitis. Morace C et al (2010) encontraron niveles elevados de resistina en pacientes

afectos de VHC al compararlos con controles, mientras que Baranova A et al (2011) encontraron niveles elevados, pero sólo en individuos con genotipo 3. Sin embargo, otros autores no encuentran diferencias en los niveles de resistina en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica ni tampoco relación con la severidad de la esteatosis (Wong V et al, 2006). Jarrar et al (2008) tampoco encontraron relación de la resistina con alteraciones histopatológicas en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica. Es decir, los resultados son controvertidos, aunque los encontrados en nuestro estudio son compatibles con el mecanismo de acción de la resistina.

3. Influencia del genotipo viral

Como se comentó brevemente en la introducción, parece ser que determinadas proteínas presentes en el genotipo 3 ejercen un efecto directo sobre la insulín-resistencia y la acumulación de grasa en el hígado, lo que explica que en estos pacientes pueda aparecer esteatosis sin necesidad de que existan alteraciones metabólicas subyacentes que la justifiquen. El mecanismo por el cual determinadas proteínas del VHC pueden llegar a provocar esteatosis hepática no es conocido del todo, pero se postula que puede interferir con el metabolismo graso o bien alterando la secreción hepática, aumentando la síntesis de ácidos grasos y/o triglicéridos o alterando la degradación de los lípidos (Negro F et al, 2006). Un mecanismo compartido con el del TNF- α sería el incremento de síntesis de ácidos grasos activando el SREBP-1 (sterol receptor element binding protein-1), lo que podría interpretarse como un efecto sinérgico con la referida citocina. No encontramos en nuestro estudio diferencias en los niveles de TNF- α en los pacientes con genotipo 3 y con genotipo no 3. Sin embargo, sí existía una diferencia marcadamente significativa en la cantidad de grasa acumulada en el hígado en pacientes con genotipo 3 al compararlos con los de genotipo no 3, a pesar, repetimos, de niveles similares de TNF- α , HOMA, cortisol, insulina y resto de moléculas analizadas, a excepción de la IL-6, más elevada en pacientes con genotipo 3. Por lo tanto, si todos los mediadores son similares, pero en el genotipo

3 hay más grasa en el hígado, esos resultados apoyarían el efecto directamente dependiente de la presencia del virus en la acumulación de grasa hepática. Apoya este resultado el hecho de que no hubiesen diferencias significativas en el IMC y la grasa troncular entre el genotipo 3 y el genotipo no 3. A pesar de no encontrar estas diferencias sí se observaron con los niveles de calcidiol y triglicéridos, ambos más disminuidos en los pacientes con genotipo 3.

Aunque en la literatura está descrita la contribución de factores metabólicos a la esteatosis hepática en pacientes con genotipo 1 (lo que se ha denominado esteatosis metabólica), estos presentaron menos grasa hepática y menos grasa troncular (de forma no significativa). Sí presentaron, no obstante, una relación significativa entre el IMC y la grasa troncular con el índice HOMA, pero dicho índice no se relacionó con la esteatosis hepática.

Por tanto, nuestros resultados apoyan que el genotipo 3 ejerce un efecto citopático directo causante de esteatosis. Todo esto se ve corroborado al realizar análisis multivariantes: ninguna de las variables comentadas se asocia de forma significativa a la cantidad de grasa hepática cuando consideramos por separado genotipo 1 frente a no 1, y genotipo 3 frente a no 3; sin embargo, considerando únicamente los pacientes afectados por el genotipo 3 observamos que la relación entre la grasa hepática y el TNF- α es más estrecha ($\rho = 0.81$, $p = 0.015$); en cambio, no existe relación entre la grasa hepática y HOMA o cortisol en este subgrupo de pacientes. Aún cuando el número de casos es relativamente pequeño ($n = 8$), estos resultados “que deben tomarse con cautela” apoyan fuertemente el efecto citopático directo de este genotipo.

Por lo tanto, de nuestro estudio y en relación con la esteatosis simple podemos concluir que la cantidad de grasa hepática depende en primer lugar de la grasa troncular, y que influyen en la acumulación de grasa en el hígado la resistencia a la insulina, valorada tanto por el HOMA como por los niveles de resistina. La elevación de TNF- α e IL-6 guardan también una relación estrecha con la esteatosis. Si en el análisis multivariante se incluyen únicamente HOMA,

resistina, TNF- α e IL-6, es el TNF- α el que guarda una relación independiente con la grasa hepática, por lo que en nuestro estudio contiene la información relacionada con la resistencia insulínica, probablemente porque sea la responsable de la misma. La esteatosis guardó relación con el genotipo 3.

4. Esteatohepatitis y fibrosis

Como se comentó en la introducción el paso de esteatosis hepática simple a esteatohepatitis conlleva la acción deletérea que sobre el hepatocito cargado de grasa ejercen citoquinas, cuya activación depende o del virus propiamente dicho, de la producción excesiva por parte del tejido adiposo, o del incremento de la peroxidación lipídica que se produce como consecuencia del aumento global del catabolismo graso en los hepatocitos. Que influyan o no factores genéticos (como así parece, Hernáez R, 2012) escapa del objetivo de este estudio.

El paso a esteatohepatitis se traduce en una alteración progresiva de las transaminasas y otros enzimas hepáticos y la aparición de infiltrado inflamatorio junto con necrosis hepatocelular en grado variable; ambos aspectos vienen definidos por los índices de Knodell y Metavir. Así, hemos comparado la relación de las variables incluidas en el mismo con estos índices de actividad. Como era de esperar, la IL-4, citoquina derivada de la activación de los Th2, guarda relación con la intensidad de la actividad inflamatoria. La IL-4 es la principal citocina derivada de los linfocitos Th-2. Igual que nosotros, algunos autores (Zhang L et al, 2011) encuentran aumento de la respuesta Th2 en pacientes con VHC antes de recibir tratamiento, especialmente en los no respondedores a la terapia. Es llamativo que en dicho estudio los respondedores mostraron niveles más elevadas de INT- γ (principal citocina derivada de los linfocitos Th-1). Por el contrario, otros autores (Zhang H et al., 2008) encuentran niveles muy bajos de interleuquinas derivadas de la respuesta Th2; y en contra del hallazgo previamente comentado, otros autores (Masaki et al, 2002) encuentran que niveles bajos de INT- γ se asociaron a mejor respuesta viral sostenida; resultado que en cierta manera

concuera con el estudio de Sobue et al (2001), quienes observan un desplazamiento hacia la respuesta Th1 con respecto a los niveles de IL-10 a medida que progresa la hepatopatía por VHC, pero que es opuesto al referido por Delpuech et al (2001), que sugiere que la infección por VHC induce la secreción de IL-10. Todo esto expresa que el estado actual de conocimientos al respecto es incompleto, y también puede ayudar a entender (que no a explicar) que la IL-4, o sea, una citoquina Th2, estuviera más baja en los pacientes que tenían actividad histológica medida por el Metavir frente a los que no, pero que globalmente, dentro de aquéllos que tenían actividad, guardara relación directa con la misma. Al menos este resultado es congruente con el hallazgo de que los pacientes con un Metavir que denota escasa actividad tienen niveles más bajos de INT- γ . Por lo tanto, parece que un bajo cociente Th1/Th2 en la población que hemos estudiado tiende a asociarse a una menor actividad valorada según el Metavir, aún cuando las diferencias no alcanzan la significación estadística.

Sea cual sea el perfil de las citoquinas asociado a mayor actividad, que como hemos mencionado en nuestro caso parece ser la IL-4 derivada de las células Th2, en nuestro estudio también se comprueba que hay una marcada tendencia a que cuando hay mayor acumulación de grasa hepática hay mayor actividad necroinflamatoria. Esto tiene una lógica, porque si es el incremento del metabolismo de los ácidos grasos el causante final de la inflamación, cuanto más grasa exista en el hepatocito más inflamación habrá. Dicho resultado concuerda también con lo observado al respecto de la peroxidación lipídica (medida por MDA), que resultó mayor en pacientes con actividad frente a los que no tenían actividad. El MDA también se observó más elevado en pacientes con genotipo 1 frente a genotipo no 1, a pesar de que la IL-6 estaba más disminuida en este grupo de pacientes.

Por lo tanto, citocinas asociadas a Th-2 y mayor peroxidación lipídica se asocian en nuestro estudio a actividad necroinflamatoria.

El resultado final de la actividad necroinflamatoria es el progresivo desarrollo de fibrosis hepática. En nuestros pacientes la mediana de fibrosis no fue muy elevada (5.4%), aunque algunos sí presentaban fibrosis avanzada. Hay un cierto paralelismo entre la fibrosis hepática que se observa en la hepatitis alcohólica con el observado en la fibrosis en el VHC. En ambas las células estrelladas juegan un papel relevante, ya que al ser activadas por citoquinas proinflamatorias (entre otros estímulos), producen colágena una vez que se transforman en miofibroblastos, enriqueciéndose en mitocondrias y aumentando la síntesis de proteínas. Dos factores clásicos derivados de estas células y que actúan como asas de retroalimentación positiva en el proceso de la fibrogénesis son el TGF- β y el TIMP-1, inhibidor de la colagenasa. Como era de esperar, ambos estaban elevados en los pacientes en comparación con los controles, en concordancia con los resultados obtenidos por diversos autores (Flisiak R et al, 2002; Badra G et al, 2000; Leroy V et al, 2004). Sin embargo guardaron relación no con la fibrosis, como era lógico pensar, dado su origen principal en las células estrelladas, sino con la grasa. La relación entre TIMP-1 y grasa troncular ya fue puesta de manifiesto por nuestro grupo en un trabajo previo (González-Reimers et al, 2009); y de forma parecida a como observamos en el citado estudio, se observa una correlación significativa entre TIMP-1 y diversos compartimentos grasos, sugiriendo un origen no hepático del mismo. En cualquier caso, teniendo presente que la esteatosis supone un paso intermedio casi obligado para la activación final de la fibrogénesis, es lógico que ya los niveles de TIMP-1 estén elevados en las fases previas de la enfermedad, y este mismo razonamiento es válido para el TGF- β , que también guarda relación con la grasa, siendo un potente estimulante de las células estrelladas. Sin embargo, cuando la fibrosis es valorada según el Metavir, la relación con el TIMP-1 es estrecha. También es destacable la relación con la IL-4. Recientemente se ha sugerido que es posible la activación alternativa de las células de Kupffer por esta citocina, lo que conduce en última instancia a fibrosis hepática (López-Navarrete et al., 2011), por lo que nuestros resultados son congruentes con dicha observación.

Llama la atención la relación inversa observada entre IGF-1 y fibrosis hepática. Una IGF-1 disminuida implicaría descenso de la síntesis proteica a nivel general, y es lógico que se observara así en pacientes con enfermedad hepática avanzada, puesto que además esta hormona es de síntesis y, por tanto, de función hepática. En nuestros pacientes no había una gran insuficiencia hepática dado que los niveles de protrombina y albúmina estaban dentro del rango de la normalidad, pero sí observamos que la cuantía de fibrosis guardaba relación inversa y significativa con estos parámetros clásicos de función hepática (protrombina y albúmina) y, por lo tanto, en ese contexto debe interpretarse también la relación inversa y significativa encontrada con la IGF-1. Igualmente es lógico el haber encontrado una relación directa con los niveles de transaminasas, GGT y FA, como expresión de mayor grado de lesión hepática en pacientes con fibrosis más avanzada.

VII. CONCLUSIONES

1.- La esteatosis hepática fue un fenómeno habitual en los pacientes incluidos en este estudio, aunque un 18% no presentaba esteatosis alguna en la biopsia. Esta proporción era significativamente inferior en los pacientes que además eran alcohólicos.

2.- La grasa hepática guarda relación con la grasa troncular, resistencia insulínica, valorada por el índice HOMA y niveles de TIMP-1, resistina, y con los niveles de cortisol. Además, se relaciona con los niveles de TNF- α e IL-6. Todo esto puede interpretarse de la siguiente manera: la grasa troncular al ser productora de citocinas proinflamatorias promueve la liberación de ácidos grasos libres que generan insulín-resistencia y provocan esteatosis hepática. Este modelo se aproxima a la denominada teoría metabólica de la génesis de la esteatosis hepática.

3.- Los pacientes infectados por el genotipo 3 del VHC presentaban mayor cantidad de grasa hepática. Este aumento no se acompañó de un aumento de IMC o grasa troncular, lo que apoya el efecto citopático del virus.

4.- La IL-4, citocina asociadas a los linfocitos Th-2, y una mayor peroxidación lipídica, valorada por los niveles de malondialdehído, se asociaron en nuestro estudio a mayor actividad necroinflamatoria.

5.- La fibrosis hepática se relacionó con niveles elevados de TIMP-1 y de IL-4.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first and second-generation assays. *N Engl J Med* 1991; 325:1325-1329.

Abul K. Abbas. *Inmunología celular y molecular*. 6ª edición, 2008. Ed Elsevier.

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; 33:1358-1364.

Adinolfi LE, Ingrosso D, Cesaro G, Cimmino A, D'Anto M, Capasso R et al. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T polymorphism promote steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology* 2005; 41:995-1003.

Adler M, Schaffner F. Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. *Am J Med*. 1979; 67:811-816.

Ahima RS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity* 2006; 14:242-249.

Ahmed AM, Hassan MS, Abd-Elsayed A, Hassan H, Hasanain AF, Helmy A. Insulin resistance, steatosis, and fibrosis in Egyptian patients with chronic Hepatitis C virus infection. *Saudi J Gastroenterol*. 2011 17:245-251.

Ahmed A, Rabbitt E, Brady T, Brown C, Guest P, Bujalska IJ et al. A switch in hepatic cortisol metabolism across the spectrum of non alcoholic fatty liver disease. *PLoS One*. 2012; 7:29531. Epub 2012.

Aizawa Y, Shibamoto Y, Takagi I, Zeniya M, Toda G. Analysis of factors affecting the appearance of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. A long term follow-up study after histologic diagnosis. *Cancer* 2000; 89:53-59.

Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Eng J Med* 2002; 346:1221-1231.

Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, Alexander GJ. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994; 21:1135-1139.

Alter MJ, Druszon-Moran D, Neinan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Eng J Med* 1999; 341: 556-562.

Arturi F, Succurro E, Procopio C, Pedace E, Mannino GC, Lugarà et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with low circulating levels of insulin-like growth factor-I. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96:1640-1644.

Ashour E, Samy N, Sayed M, Imam A. The relationship between serum adiponectin and steatosis in patients with chronic hepatitis C genotype-4. *Clin Lab.* 2010; 56:103-110.

Asselah T, Vidaud D, Doloy A, Boyer N, Martinot M, Vidaud M, et al. Second infection with a different hepatitis C virus genotype in a intravenous drug user during interferón therapy. *Gut.* 2003; 52: 900-902.

Asselah T, Boyer N, Guimont MC, Cazals-Hatem D, Tubach F, Nahon K et al. Liver fibrosis is not associated with steatosis but with necroinflammation in French patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2003; 52:1638-1643.

Asselah T, Rubbia-brandt L, Marcellin P, Negro F. Steatosis in chronic hepatitis C: Why does it really matter? *Gut* 2006; 55:123-130.

Badra G, Lotfy M, ElRefaie A, Obada M, Abdelmonem E, Kandeel S, Fathy A. Significance of serum matrix metalloproteinase-9 and TIMP-1 in chronic hepatitis C patients. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2010; 57:29-42.

Baraona E, Leo MA, Borowsky SA, Lieber CS. Pathogenesis of alcohol-induced accumulation of protein in the liver. *J Clin Invest.* 1977; 60:546-554.

Baranova A, Jarrar MH, Stepanova M, Johnson A, Rafiq N, Gramlich T et al. Association of serum adipocytokines with hepatic steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Digestion.* 2011; 83:32-40.

Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am J Surg Pathol* 1995; 19:140-1417.

Bedossa P, Poynard T and the French METAVIR Cooperative Study Group. An algorithm for grading activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;24:289-293.

Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology* 2001; 34:859-867.

Boeker KH, Haberkorn CI, Michels D, Flemming P, Manns MP, Lichtinghagen R. Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as

markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chim Acta* 2002; 316:71-81.

Bozaoglu K, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology* 2007; 148:4687-4694.

Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114:147-152.

Bruguera M, Forns X. Hepatitis C en España. *Med Clin*. 2006; 127:113.

Bhattacharya R, Shuhart M. Hepatitis C and alcohol. *J clin Gastroenterol* 2003; 36:242-252.

Burra P. Hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 53-65.

Cacciarelli TV, Martínez OM, Gish RG, Villanueva JC, Krams SM. Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: pred and posttreatment with interferón alfa. *Hepatology* 1996; 24:6-9.

Cecere A, Maraotta F, Vangieri B, Tracredi L, Gattoni A. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection is related to altered celular immune response and to different citokine profile. *Panminerva Med* 2004; 46:171-187.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood- borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359–62.

Chung GE, Kim D, Kim W, Yim JY, Park MJ, Kim YJ, Yoon JH, Lee HS. Non-alcoholic fatty liver disease across the spectrum of hypothyroidism. *J Hepatol.* 2012; Mar 14.

Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122:1649-1657.

Clement S, Pascarella S, Conzelmann S, Gonelle-Gispert C, Guilloux K, et al. (2010). The hepatitis C virus core protein indirectly induces alpha-smooth muscle actin expression in hepatic stellate cells via interleukin-8. *J Hepatol* 52: 635–643.

Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-295.

Crespo J, Cayón A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M, Mayorga M, Domínguez-Díez A, Fernández-Escalante JC, Pons-Romero F. Gene expression of TNF- α and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001; 34:1158-1163.

Crespo J, Rivero M, Fábrega E, Cayón A, Amado JA, García-Unzeta MT, Pons-Romero F. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci* 2002; 47:1604-1610.

Cua IH, et al. Insulin resistance and liver injury in hepatitis C is not associated with virus-specific changes in adipocytokines. *Hepatology*; 46:66-73.

Danta M, Brown D, Bhagani S, Pybus OG, Sabin CA, Nelson M, et al. Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours. *AIDS*. 2007; 21:983-991.

Das SK, Balakrishnan V. Role of cytokines in the pathogenesis of non-alcoholic Fatty liver disease. *Indian J Clin Biochem*. 2011 26:202-209.

Day CP, James OFW. Steatohepatitis: a tale of two hits? *Gastroenterology* 1998; 114:842-845.

De Groote J, Desmet VJ, Gedigk P, Korb G, Popper H, Poulsen H, Scheuer PJ, et al. A classification of chronic hepatitis. *Lancet* 1968; 2:626-628.

De Gottardi A, Paziienza V, Pugnale P, Bruttin F, Rubbia-Brandt L, Juge-Aubrey CE, Meier CA, Hadengue A, Negro F. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma mRNA levels are reduced in chronic hepatitis C with steatosis and genotype 3 infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23:107-114.

Decock S, Verslype C, Fevery J. Hepatitis C and insulin resistance: mutual interactions. A review. *Acta Clin Belg*. 2007; 62:111-119.

Delpuech O, Buffello-Le Guillou DB, Rubinstein E, Féray C, Petit MA. The hepatitis C virus (HCV) induces a long-term increase in interleukin-10 production by human CD4+ T cells (H9). *Eur Cytokine Netw*. 2001;12:69-77.

DiBisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 1995;15:64-69.

Diehl AM, Clark JM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122:1649-1657.

DiMartino V, Rufat P, Boyer N, et al. The influence of human immunodeficiency virus coinfection on chronic hepatitis C in injection drug users: a long-term retrospective cohort study. *Hepatology* 2001; 34:1193–1199.

Dong Y, Zhang HF, Chen H, Li J, Yang XJ, Zhu SS, Cheng Y. Peripheral blood T cell subsets and TH1/TH2 cytokines secretion in children with chronic hepatitis C virus infection. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*. 2007;21:26-28.

Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115:1343-1351.

Douglas HE. TGF- β in wound healing: a review. *J Wound Care* 2010; 19:403-406.

Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A, Tripodi MF, Rinaldi L, Restivo L et al. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 1;24:1349-1357.

El-Assal O, Hong F, Kim WH, Radaeva S, Gao B. IL-6 deficient mice are susceptible to ethanol-induced hepatic steatosis: IL-6 protects against ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial permeability transition in the liver. *Cell Mol Immunol* 2004; 1:205-211.

Elbadawy RA, Eleter EA, Helmy A, Al Ghamdi AS, Al-Mofleh I, Al Faleh FZ et al. The role of leptin in non-alcoholic fatty liver disease. *Saudi J Gastroenterol.* 2006;12:68-72.

Ellidokuz E, Cömlekçi A, Ellidokuz H, Akpınar H, Gökçe C, Tankurt E et al. The role of serum leptin levels in chronic hepatitis C with steatosis. *Hepatogastroenterology.* 2003;50 Suppl 2.

Fallahi P, Ferri C, Ferrari SM, Corrado A, Sansonno D, Antonelli A. Cytokines and HCV-Related Disorders. *Clin Dev Immunol.* 2012.

Fartoyx L, Poujol-Robert A, Guechot J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 2005; 54:1003-1008.

Feingold Kr, Soued M, Grunfeld C. Tumor necrosis factor stimulates DNA synthesis in the liver of intact rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 153: 576-582.

Feld JJ, Liang TJ. Hepatitis C: identifying patients with progressive liver injury. *Hepatology.* 2006;43:194-206.

Feldmann G, Nischalke HD, Nattermann J, Banas B, Berg T, Teschendorf C, et al. Induction of interleukin-6 by hepatitis C virus core protein in hepatitis C-associated mixed cryoglobulinemia and B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2006 Aug 1;12(15):4491-8.

Flisiak R, Maxwell P, Prokopowicz D, Timms PM, Panasiuk A. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and TGF- β 1 possible non-invasive

biomarkers of hepatic fibrosis in patients with chronic B and C hepatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; 47:1369-1372.

Fukuhara A, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*; 307:426-430.

Fusco A, Miele L, D'Uonno A, Forgione A, Riccardi L, Cefalo C et al. Non Alcoholic Fatty Liver Disease is Associated with Increased GHBP and Reduced GH/IGF-I Levels. *Clin Endocrinol* 2011 Nov 11.

García-Compean D, Jaquez-Quintana JO, Maldonado-Garza H. Hepatogenous diabetes. Current views on ancient problema. *Ann Hepatol* 2009; 8:13-20.

Garfein RS, Doherty MC, Moterroso ER, Thomas DL, Nelson KE. Prevalence and incidence of hepatitis C virus among young adult injection users. *J Acq Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998; 18 Suppl 1:11-19.

Gerlach JT, Diepolder HM, Zachoval R, Gruener NH, Jung MC, Ulsenheimer A, et al. Acute hepatitis C: high rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance. *Gastroenterology*. 2003; 125:80-88.

George J, Negro F. Relationship between steatosis, inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology* 2006; 130:1636-1642.

González Reimers E, Castellano-Higuera A, Alemán Valls R, Álvarez Argüelles H, de la Vega Prieto MJ et al. Relation between body fat and liver fat accumulation and cytokine pattern in non-alcoholic patients with chronic HCV infection. *Annals of Nutrition & Metabolism* 2009; 55:351-357.

González-Peralta RP, Qian K, She YS, et al. Clinical implications of viral quasispecies in chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1996;49:22-247.

Goldin RD, Goldin JG, Burt AD, Dhillon PA, Hubscher S, Wyatt J, Patel N. Intra-observer and inter-observer variation in the histopathological assessment of chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 1996;25:649-654.

Grigorescu M, Radu C, Crişan D, Grigorescu MD, Serban A, Neculoiu D, Rusu M, Acalovschi M. Metabolic syndrome, insulin resistance and adiponectin level in patients with chronic hepatitis C. *J Gastrointest Liver Dis.* 2008; 17:147-154.

Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5:551-559.

Guaraldi G, Lonardo A, Ballestri S, Zona S, Stentarelli C, Orlando G et al. Human immunodeficiency virus is the major determinant of steatosis and hepatitis C virus of insulin resistance in virus-associated fatty liver disease. *Arch Med Res.* 2011, 42(8):690-977.

Gutiérrez Grobe Y, Ponciano-Rodríguez G, Méndez-Sánchez N. Viral hepatitis infection and insulin resistance: a review of the pathophysiological mechanisms. *Salud pública de México*, 2011; 53: 46-51.

Gutiérrez Martín M, Otero M. Farreras & Rozman, *Medicina Interna*. 16^a edición, páginas 2754-2757.

Guzik T, Mangalat D, Korbut R. Adipocytokines: novel link between inflammation and vascular function? *Journal of physiology and*

pharmacology 2006; 57:505-528

Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma TGF- β 1 level and efficacy of alpha-tocopheron in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15:1667-1672.

Helaly GF, Hussein NG, Refai W, Ibrahim M. Relation of serum insulinlike growth factor-1 levels with hepatitis C virus infection and insulin resistance. *Trans Res* 2011; 158:155-162.

Helaly GH, El-Afandy NM. Influence of HCV infection on insulin-like growth factor 1 and proinflammatory cytokines: association with risk for growth hormone resistance development. *Egypt J Immunol* 2009; 16:115-124.

Hernández, R. Factores genéticos asociados con la presencia y progresión de la enfermedad hepática no alcohólica: Una revisión narrativa. *Gastroenterol Hepatol*. 2012; 35:32-41.

Hofer H, Watkins-Riedel T, Janata O, Penner E, Holzmann H, Steindl-Munda P, et al. Spontaneous viral clearance in patients with acute hepatitis C can be predicted by repeated measurements of serum viral load. *Hepatology*. 2003; 37:60-64.

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.

Hourigan LF, Macdonald GA, Urdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A, Powell EE. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29:1215-1219.

Ioannou GN, Dominitz JA, Weiss NS, Heagerty PJ, Kowdley KV. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia. *Gastroenterology* 2004; 126:1293-1301.

Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22:696-699).

Ittermann T, Haring R, Wallaschofski H, Baumeister SE, Nauck M, Dörr M et al. Inverse Association Between Serum Free Thyroxine Levels and Hepatic Steatosis: Results from the Study of Health in Pomerania. *Thyroid*. 2012 May 10.

Janczewska-Kazek E, Marek B, Kajdaniuk D, Borgiel-Marek H. Effect of interferon alpha and ribavirin treatment on serum levels of transforming growth factor-beta1, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2006, 12:961-965.

Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27:412-421.

Jonsson JR, Moschen AR, Hickman IJ, Richardson MM, Kaser S, Clouston AD et al. Adiponectin and its receptors in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2005; 43:929-36.

Kamran Qureshi, Gary A Abrams. Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2007; 14:3540-3553.

Kara B, Gunesacar R, Doran F, Kara IO, Akkiz H. Correlation of serum adiponectin levels and hepatic steatosis in hepatitis C virus genotype 1 infection. *Adv Ther.* 2007;24:972-82.

Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, et al. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004; 305:872– 874.

Kinnman N, Andersson U. In situ expression of transforming growth factor beta 1-3, latent transforming growth factor-beta binding protein and tumor necrosis factor-alpha in liver tissue from patients with chronic hepatitis C. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 1294-1300.

Kitson MT, Roberts SK. D-Livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol* 2012; 22.

Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1:431-435.

Klötting N, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006. 339:430-436.

Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Hosoki Y, Saito H, Kato J. Iron accumulation in alcoholic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29:189-193.

Ku A, et al. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*; 112:91-100.

Kubitschke A, Bader C, Tillmann HL, Manns MP, Kuhn S, Wedemeyer H. Injuries from needles contaminated with hepatitis C virus: how high is the risk of seroconversion for medical personnel really? *Internist (Berl)*. 2007; 48:1165-1172.

Kukla M, et al. Serum visfatin in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2010; 17:254-260.

Kukla M, et al. Chemerin, visfatin and insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2010. 17:661-667.

Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: Reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology* 2002; 36:1266-1272.

Lan I, Gorke S, Rau SJ, et al. Hepatitis C virus infection sensitizes human hepatocytes to TRAIL-Induced apoptosis in a caspase 9-dependent manner. *J Immunol* 2008; 181:4926–4935.

Lau JYN, Davis GL, Brunson ME, et al. Hepatitis C in renal transplant recipients. *Hepatology* 1993; 18:1027-1031.

Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo et al. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology*. 2006; 130:1636-1642.

Leroy V, Monier F, Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN, Morel F, Zarski JP. Circulating matrix metalloproteinases 1,2,9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol* 2004; 99:271-279.

Lewden C, Salmon D, Morlat P, Bevilacqua S, Jouglu E, Bonnet F, et al. Causes of death among human immunodeficiency virus (HIV)- infected adults in the era of potent antiretroviral therapy: emerging role of hepatitis and cancers, persistent role of AIDS. *Int J Epidemiol* 2005; 34:121-130.

Liu J, Fox CS, Hickson DA, May WD, Hairston KG, Carr JJ, Taylor HA. Impact of abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue on cardiometabolic risk factors: the Jackson Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95:5419-5426.

López-Navarrete G, Ramos-Martínez E, Suárez-Álvarez K, Aguirre-García J, Ledezma-Soto Y, León-Cabrera S et al. Th2-associated alternative Kupffer cell activation promotes liver fibrosis without inducing local inflammation. *Int J Biol Sci.* 2011; 7:1273-1286.

Lucero D, Zago V, López GI, Graffigna M, Fainboim H, Miksztowicz V et al. Proinflammatory and atherogenic circulating factors in non-alcoholic fatty liver disease associated to metabolic síndrome. *Clin Chim Acta* 2011; 412:143-147.

Makris M, Preston FE, Triger DR, et al. Hepatitis C antibody and chronic liver disease in haemophilia. *Lancet* 1990; 335:1117-1119.

Malaguarnera M, Di Fazio I, Laurino A, Pistone G, Restuccia S, Trovato BA. Decrease of interferon gamma serum levels in patients with chronic hepatitis C. *Biomed Pharmacother* 1997; 51:391-396.

Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med* 1999; 130:671–80.

Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107:450-455.

Marroquin CE, Marino G, Ku PC, et al. Transplantation of hepatitis C-positive livers in hepatitis C-positive patients is equivalent to transplanting hepatitis C-negative livers. *Liver Transpl* 2001; 7:762-768.

Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Leray P, Benhamou Y, Poinard T. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44:19-24.

Mele A, Spada E, Saggiocca L, Ragni P, Tosti ME, Gallo G, et al. Risk of parenterally transmitted hepatitis following exposure to surgery or other invasive procedures: results from the hepatitis surveillance system in Italy. *J Hepatol*. 2001; 35:284-289.

Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *Journal Viral Hepatitis*. 2006; 13:34-41.

Mohan N, González-Peralta RP, Fujisawa T, Chang MH, Heller S, Jara P, et al. Chronic hepatitis C virus infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010; 50:123-13.

Morace C, Spadaro A, Cucunato M, Tortorella V, Consolo P, Luigiano C et al. High serum resistin in chronic viral hepatitis is not a marker of metabolic disorder. *Hepatogastroenterology.* 2010; 57:1215-1219.

Moreno Sánchez D. Patogenia de la hepatopatía grasa no alcohólica primaria. *Med Clin* 2005; 124:668-677.

Mundt B, T Wirth, L Zender, M Waltemathe, C Trautwein, M P Manns, F Kühnel, S Kubicka. TRAIL induces hepatic steatosis in viral hepatitis and after alcohol intake. *Gut,* 2005; 54:1590-1596.

Muzzi A, Leandro G, Rubbia-Brandt L, James R, Keiser O, Malinverni R et al. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2005; 42:41-46.

Myers MG, Cowley MA, Munzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Ann Rev Physiol* 2008; 70: 537-556.

National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002-June 10-12, 2002. *Hepatology* 2002; 36:3-20.

Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferón alfa therapy. *Science* 1998;282:103-107.

Neuman MG, Benhamou JP, Bourliere M, Ibrahim A, Malkiewicz I, Asselah T et al. Serum tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta levels in chronic hepatitis C patients are immunomodulated by therapy. *Cytokine* 2002;17:108-117.

Neuman MG, Benhamou JP, Marcellin P, Valla D, Malkiewicz IM, Katz GG y cols. Cytokine-chemokine and apoptotic signatures in patients with hepatitis C. *Translational Research* 2007;149:126-136.

Neuschwander-Tetri BA, aldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37:1202-1219.

Niederau C, Fischer R, Sonnenberg A, Stremmel W, Trampsich HJ, Strohmeyer G. Survival and causes of death in cirrhotic and in noncirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Eng J Med* 1985; 313:1256-1262.

Niederau C, Lange S, Heintges T, ErhardtA, Buschkamp M, Hurter D, et al. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large prospective cohort study. *Hepatology*. 1998;28:1687-95.

Nkontchou G, Bastard JP, Ziol M, Aout M, Cosson E, Ganne-Carrie N et al. Insulin resistance, serum leptin, and adiponectin levels and outcomes of viral hepatitis C cirrhosis. *J Hepatol*. 2010; 53:827-33.

Okamoto H, Kojima M, Okada S, et al. Genetic drift of hepatitis C virus during an 8.2 year infection in a chimpanzee: variability and stability. *J Virol* 1992;190:894-899.

Ouakaa-Kchaou A, Gargouri D, Kochlef A, Debbiche A, Elloumi H, Ghouma M et al. Steatosis in chronic hepatitis C: prevalence and predictive factors.

Tunish Med. 2011, 89:830-836.

Pagadala MR, Zein CO, Dasarathy S, Yerian LM, Lopez R, McCullough AJ. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2012; 57:528-34.

Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N, et al. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance and metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37:917-923.

Park J, Kang W, Ryu SW, Kim WI, Chang DY, Lee DH et al. Hepatitis C virus infection enhances tumor necrosis factor-alpha-induced cell death via suppression of nuclear factor-kappaB. *Hepatology*, 2012.

Pascual Pareja J, Camino A, Larrauri J, López-Diéguez M, Montesa M et al. Factores asociados con esteatosis hepática en pacientes coinfectados por los virus de la inmunodeficiencia humana y de la hepatitis C. *Medicina clínica* 2009; 132:208-213.

Patton HM, Patel K, Behling C, Bylund D, Blatt LM, Vallee M et al. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004; 40:484-490.

Pereira BJG, Milford EL, Kirkland RL, et al. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in recipients of their organs. *N Engl J Med* 1992; 327:910-915.

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; 16:185-194.

Pessione F, Degos F, Marcellin P, Duchatelle V, Njapoum C, Martinot-Peignoux M et al. Effect of alcohol consumption on serum hepatitis C virus RNA and histological lesions in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998; 27:1717-1722.

Petit JM, Minello A, Jooste V, Bour JB, Galland F, Duvillard L et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to steatosis in hepatitis C virus-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 ;90:2240-2243.

Pilz S, Tomaschitz A, März W, Drechsler C, Ritz E, Zittermann A et al. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011; 75:575-584.

Polish LB, Tong MJ, Co RL, et al. Risk factors for hepatitis C virus infection among health care personnel in a community hospital. *Am J Infect Control* 1993; 21:196-200.

Polyak SJ, Khabar KS, Rezeiq M, Gretch DR (2001) Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. *J Virol* 75: 6209–6211.

Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the Obsvir, Metavir, Clinvir and Dosvir Groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet*, 1997; 349:825-32.

Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet* 1997; 349:825-832.

Prevention of hepatitis C in Italy: lessons from surveillance of type-specific acute viral hepatitis. SEIEVA collaborating Group. *J Viral Hepat.* 2000; 7:30-35.

Reiser M, Marousis CG, Nelson DR, et al. Th2 cytokine profile in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1995; 108:A1154

Ristig M, Drechsler H, Powderly WG. Hepatic steatosis and HIV infection. *AIDS Patient Care STDS* 2005;19:356-365.

Roitt I. *Inmunología. Fundamentos*. 10ª edición, 2003. Ed Panamericana.

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; 33:106-115.

Sarih M, Bouchrit N, Benslimane A. Different cytokine profiles of peripheral blood mononuclear cells from patients with persistent and self-limited hepatitis C virus infection. *Immunol Lett* 2000; 74:117-120.

Saito K, Meyer K, Warner R, Basu A, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus core protein inhibits tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis by a protective effect involving cellular FLICE inhibitory protein. *J Virol.* 2006 May;80(9):4372-9.

Sajadi MM, Shakeri N, Talwani R, et al. Hepatitis C infection in HIV-1 natural viral suppressors. *AIDS* 2010;24:1689 – 1695.

Scheuer PJ, Standish RA, Dhillon AP. Scoring of chronic hepatitis. *Clin Liver Dis* 2002;6:335-347).

Seitz HK, Becker P. Alcohol-induced hepatitis: pathophysiology and treatment. IN: Diehl AM, Hayashy N, Manns MP, Sauerbruch T, editors. *Chronic hepatitis: metabolic, cholestatic, viral und autoimmun*. Dordrecht-Boston-London: Cluver Academic Publisher, 2007: 16-31.

Sherman K, Rouster S, Chung R, Rajcic N. Hepatitis C virus prevalence among patients infected with human immunodeficiency virus: a cross-sectional analysis of the US adult AIDS clinical trials groups. *Clin Infect Dis* 2002; 34:831–837.

Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S et al. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 2004; 126:840-848.

Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995; 21:570-583.

Singal AK, Anand BS. Management of hepatitis C virus infection in HIV/HCV co-infected patients: clinical review. *World J Gastroenterol*. 2009 Aug 14;15:3713-3724.

Sobue S, Nomura T, Ishikawa T, Ito S, Saso K, Ohara H et al. Th1/Th2 cytokine profiles and their relationship to clinical features in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol*. 2001; 36:544-551.

Soliman GM, Mohammed KA, Taha A, Barrak AA. The role of plasma transforming growth factor beta-1 in the development of fibrosis in patient with HCV related steatohepatitis. *J Egypt Soc Parasitol.* 2010; 40:759-772.

Sozio M, Crabb D. Alcohol and lipid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295:10-16.

Sreekumar R, Rosado B, Rasmussen D, Charlton M. Hepatic gene expression in histologically progressive nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003; 38:244-251.

Stefan N, Kantartzis K, Haring HU. Causes and metabolic consequences of fatty liver. *Endocr Rev* 2008; 29:939-960.

Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409:307-312.

Su AI, Pezacki JP, Wodicka L, Brideau AD, Supekova L, Thimme R et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:15669-15674.

Su WW, Lee KT, Yeh YT, Soon MS, Wang CL, Yu ML, Wang SN. Association of circulating insulin-like growth factor-1 with hepatocellular carcinoma: one cross-sectional correlation study. *J Clin Lab Anal* 2010; 24:195-200.

Takaki A, Wiese M, Maertens G, et al. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. 2000, *Nat Med* 6:578.

Targher G, Bertolini L, Zoppini G, Zenari L, Falezza G. Relationship of non-alcoholic hepatic steatosis to cortisol secretion in diet-controlled type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2005; 22:1146-1150.

Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Zenari L, Falezza G. Associations between liver histology and cortisol secretion in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol* 2006; 64:337-341.

Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, Arcaro G. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17:517-524.

Tedder RS, Gilson RJ, Briggs M, et al. Hepatitis C virus evidence for sexual transmission. *Br Med J* 1991; 302:1299-1302.

Temmerman JC. Vitamin D and cardiovascular disease. *J Am Coll Nutr*. 2011; 30:167-170.

Testa R, Franceschini R, Giannini E, Cataldi A, Botta F, Fasoli A et al. Serum leptin levels in patients with viral chronic hepatitis or liver cirrhosis. *J Hepatol*. 2000; 33:33-37.

Thomas EL, Hamilton G, Patel N, O'Dwyer R, Dore CJ, Goldin RD, Bell JD, Taylor-Robinson SD. Hepatic triglyceride content and its relation to body adiposity: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study. *Gut* 200; 54:122-127.

Tiftikci A, Atug O, Yilmaz Y, Eren F, Ozdemir FT, Yapali S et al. Serum levels of adipokines in patients with chronic HCV infection: relationship with

steatosis and fibrosis. Arch Med Res. 2009; 40:294-298.

Tilg H, Wilmer A, Vogel W, et al. Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. Gastroenterology 1992;103:264.

Tomer Y. Hepatitis C and interferon induced thyroiditis. J Autoimmun. 2010 May; 34:322-326.

Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of White adipose tissue. Br J Nutr 2004; 113:1582-1588.

Trayhurn P, Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV. Leptin: fundamental aspects. Int J Obesity 1999; 23: 22-28.

Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T, Suzuki R, Moriya K, Shintani Y et al. Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor alpha modulates its transcriptional activity. Hepatology 2002; 35:937-946.

Tuyama AC, Hong F, Saiman Y, et al. Human immunodeficiency virus (HIV-1) infects human hepatic stellate cells and promotes collagen I and monocyte chemoattractant protein-1 expression: implications for the pathogenesis of HIV/HCV virus induced liver fibrosis. Hepatology 2010; 52:612–622.

van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. Hepatology. 2008 Aug; 48:449-457.

Verdelho Machado M, Gouveia Oliveira A, Cortez-Pinto H. Hepatic Steatosis in Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus/Hepatitis C

Virus: A Meta-Analysis of the Risk Factors. *Hepatology* 2010; 52:71-78.

Westin J, Lagging LM, Wejstal R, Norkrans G, Dhillon AP. Interobserver study of liver histopathology using the Ishak score in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Liver* 1999; 1:183-187.

Westin J, Lagging LM, Spak F, Aires N, Svensson E, Lindh M et al. Moderate alcohol intake increases fibrosis progression in untreated patients with hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2002; 9:235-241.

Wiese M, Grungreiff K, Guthoff W, Lafrenz M, Oesen U, Porst H; East German Hepatitis C Study Group. Outcome in a hepatitis C (genotype 1b) single source outbreak in a Germany –a 25 year multicenter study. *J Hepatol*. 2005; 43:590-598.

Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, McCarthy M, Layden TJ. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C infection. *Hepatology* 1998; 28:805-809.

Wong VW, Hui AY, Tsang SW, Chan JL, Tse AM, Chan KF et al. Metabolic and adipokine profile of Chinese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4:1154-1161.

Yamguchi A, Tazuma S, Nishioka T, Ohishi W, Hyogo H, Nomura S, Chayama K. Hepatitis C virus core protein modulates fatty acid metabolism and thereby causes lipid accumulation in the liver. *Dig Dis Sci* 2005; 50:1361-1371.

Yeung LTF, King SM, Roberts EA. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* 2001; 34:223-229.

Yi Q, Wang PP, Krahn M. Improving the accuracy of long term prognostic estimates in hepatitis C infection. *Journal Viral Hepatitis*. 2004;11:166-74.

Yoshioka K, Kakumu S, Arao M, Tsutsumi Y, Inoue M. Tumor necrosis factor alpha production by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic liver disease. *Hepatology* 1989; 10:769-773.

Zimmermann HW, Seidler S, Gassler N, Nattermann J, Luedde T, Trautwein C, Tacke F. Interleukin-8 is activated in patients with chronic liver diseases and associated with hepatic macrophage accumulation in human liver fibrosis. *PLoS One*. 2011:e21381. Epub 2011 Jun 22.

Zein NN, Abdulkarim AS, Wiesner RH, Egan KS, Persing DH. Prevalence of diabetes mellitus in patients with end-stage liver cirrhosis due to hepatitis C, alcohol or cholestatic disease. *J Hepatol* 2000; 32:209-217.

Zhang L, Miao L, Han F, Dou XG. Cytokine levels in serum of patients with chronic hepatitis C and its significance. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2011; 27:301-303.

Zografos TA, Liaskos C, Rigopoulou EI, Togousidis E, Makaritsis K, Germanis A, Dalekos GN. Adiponectin: a new independent predictor of liver steatosis and response to IFN-alpha treatment in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:605-164.