

NIVELUL SERIC AL PROHEPCIDINEI LA PACIENȚII CU HEPATITĂ CRONICĂ VIRALĂ B ȘI C

OLGA ORĂȘAN¹, NICOLAE REDNIC¹, ANGELA COZMA¹,
DOREL SÂMPELEAN¹, LJUBOMIR PETROV²

¹Clinica Medicală IV

²Clinica Hematologică

Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Rezumat

Obiective. Pacienții cu hepatită cronică virală C (HVC) au depozite intrahepatice crescute de fier, condiție care se asociază cu progresia rapidă a fibrozei și răspuns viral redus la terapia antivirală. Scopul studiului este de a descrie comportamentul prohepcidinei serice, peptid care intervine hotărâtor în homeostazia fierului, în funcție de răspunsul viral, dar și relația acesteia cu fibroza, sideremia și feritina la pacienții cu HVC. De asemenea, ne propunem studierea relației prohepcidină-fibroză în hepatita cronică virală B (HVB).

Subiecți și metodă. Studiul prospectiv, longitudinal, observațional, include 82 pacienți cu HVC tratați cu pegilatinterferon alfa-2a sau alfa-2b și ribavirină, în dozele recomandate în funcție de greutate și 36 pacienți cu HVB tratați cu pegilatinterferon alfa-2a timp de 48 săptămâni. Un alt grup a fost format din 33 voluntari sănătoși.

Rezultate. Nivelul seric al prohepcidinei este semnificativ statistic mai redus la pacienții cu HVC, față de cei cu HVB sau voluntarii sănătoși ($p \leq 0.001$). La pacienții cu HVC cu răspuns viral precoce (RVP), respectiv susținut (RVS), evoluția în dinamică (0-72 săptămâni) a prohepcidinei serice are tren liniar ascendent, în timp ce valorile sideremiei și feritinei se reduc, spre deosebire de pacienții fără RVS la care prohepcidina serică, sideremia și feritina nu variază semnificativ. Sinteza prohepcidinei este cea mai redusă în stadiile F1 și F2 ale fibrozei în HVC și în stadiul F3 al fibrozei în HVB.

Concluzii. Sinteza prohepcidinei serice este suprimată în HVC, mai ales în stadiile inițiale ale bolii și se ameliorează la pacienții care obțin RVP sau RVS. Prohepcidina serică este redusă în stadiile avansate ale HVB.

Cuvinte cheie: prohepcidina serică, HCV, HVB, răspuns viral susținut, fibroză, feritină, sideremie.

SERUM PROHEPCIDIN LEVELS IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS B AND C

Abstract

Objectives. Patients with chronic viral hepatitis C (VHC) have increased intrahepatic iron deposits, a condition that is associated with rapid progression of fibrosis and reduced viral response to antiviral therapy. The purpose of this study is to describe the behavior of serum prohepcidin, a peptide that acts decisively in iron homeostasis, depending on the viral response, but also its relationship with fibrosis, serum iron and ferritin in patients with VHC. We also aim to study the relationship prohepcidin - fibrosis in chronic viral hepatitis B (VHB).

Material and method. The prospective, longitudinal, observational study includes 82 patients with VHC treated with pegylatinterferon alfa-2a or alfa-2b and ribavirin, in dosages according to weight, as well as 36 patients with VHB treated with pegylatinterferon alfa-2a for 48 weeks. Another group consisted of 33 healthy volunteers.

Results. The prohepcidin serum level is statistically significantly lower in patients with VHC than in those with VHB or the healthy volunteers ($p \leq 0.001$). In patients with VHC with early viral response (EVR), and sustained viral response (SVR) respectively, the dynamic evolution (0-72 weeks) of serum prohepcidin has a linear rising trend while the serum iron and ferritin median levels are decreasing, as opposed to patients with SVR, where the serum prohepcidin, serum iron and ferritin have no significant variations. Serum prohepcidin is suppressed in the early stages of fibrosis in VHC, as well as in stage 3 fibrosis in VHB.

Conclusions. The serum prohepcidin synthesis is suppressed in VHC, especially in the early stages of the hepatic disease and it improves in patients who obtain EVR or SVR. The serum prohepcidin is low in the late stages of VHB.

Keywords: serum prohepcidin, VHC, VHB, sustained viral response, fibrosis, ferritin, serum iron.

Introducere

Infecția cronică cu virusul C este larg răspândită în întreaga lume (170 milioane de oameni), cu posibilă evoluție spre ciroză hepatică (20% după 20 de ani) și hepatocarcinom (HCC) (risc anual estimat la 3-7%) [1,2,3,4,5,6].

Studiile din ultimii ani au sugerat că depozitele crescute de fier și creșterea fierului intrahepatic ar fi importante în progresia fibrozei hepatice. Factorii majori asociați cu progresia fibrozei în bolile hepatice, cunoscuți până în prezent, sunt: vârsta înaintată în momentul contactării infecției, sexul masculin și consumul excesiv de alcool [3,7].

Pacienții cu hepatită cronică virală C (HVC) au frecvent un nivel ușor sau moderat crescut al fierului intrahepatic [6,8]. Numeroase studii clinice și experimentale [9,10,11,12], deși nu toate [13,14], sugerează că fierul excesiv la pacienții cu HVC este un cofactor în producerea leziunilor hepatice progresive producând fibroză, crescând riscul de ciroză hepatică și HCC. Concentrația de fier intrahepatic se corelează negativ cu răspunsul la terapia antivirală [6,15,16]. Eliminarea fierului excesiv prin flebotomii îmbunătățește funcția hepatică [17,18], histologia [19], crește probabilitatea obținerii eradicării susținute a virusului hepatitic C cu ajutorul terapiei antivirale [20,21,22] și scade probabilitatea dezvoltării HCC [6,23].

Cu toate acestea, mecanismele patogenetice asociate cu creșterea fierului intrahepatic în HVC rămân încă neclare. Cunoașterea mecanismelor prin care se acumulează și acționează fierul la nivelul ficatului ne-ar oferi noi perspective în managementul HVC sau în prevenirea complicațiilor ei. Au fost enunțate mai multe ipoteze care să explice acumularea fierului intrahepatic, inclusiv eliberarea fierului din hepatocitele necrozate, prezența mutației hemocromatozei, perturbări în homeostazia fierului hepatic determinate de virusul hepatitic C sau implicarea mecanismelor imunologice [6,24,25]. De asemenea, fierul este un component esențial al proteinelor trans-

portatoare de oxigen și al enzimelor redox implicate în metabolismul celular, astfel depozitele hepatice de fier pot induce producerea de citokine inflamatorii, specii reactive de oxigen și fibroză și afectează negativ progresia bolii [26,27,28].

Hepcidina este un peptid îmbogățit cu 25-aa cisteină, recent descoperit, care este prezent în serul și urina umană. Este sintetizată predominant de către hepatocite și este eliberată în circulație sub forma unui precursor, o peptidă formată din 84 de aa [28,29]. Hepcidina are rol cheie în reglarea homeostaziei fierului [6,28,30,31,32], având un control negativ asupra absorbției duodenale și eliberării de la nivelul macrofagelor, reciclând fierul prin eritrofagocitoză [6,33]. La nivel molecular, hepcidina se leagă de ferroportină, transportatorul membranal al fierului, înalt exprimat la nivelul enterocitelor și macrofagelor [6,34]. Ferroportina astfel legată de hepcidină, se internalizează, se degradează și astfel scade eliberarea fierului în compartimentul plasmatic [6,34,35]. Expresia hepcidinei este modulată de depozitele de fier: scade în deficitul de fier, facilitând absorbția fierului intestinal și eliberarea acestuia din macrofage și crește în excesul de fier, pentru a preveni creșterea patologică a fierului plasmatic și tisular [6]. Expresia hepcidinei este de asemenea indusă de inflamație și suprimată în caz de anemie și hipoxie [6,28,35,36,37,38]. Deficiența hepcidinei determinată genetic este demonstrată ca fiind o cauză patogenetică cheie a acumulării în exces a fierului în majoritatea tipurilor de hemocromatoză [6,39]. Prin analogie, tulburări în sinteza hepcidinei au fost sugerate ca posibile mecanisme ale creșterii fierului plasmatic și tisular și în alte afecțiuni: boala alcoolică a ficatului [40,41] și hepatita cronică virală C [6,42]. Studii recente pe animale și modele celulare au sugerat că infecția cu virusul hepatitic C poate modula direct expresia hepcidinei. La șobolanii infectați cu virusul hepatitic C, transcripția hepcidinei a fost specific inhibată de specii reactive de oxigen induse de virusul hepatitic C [6,42].

Până în prezent, din cunoștințele noastre, există puține studii care au cercetat hepcidina serică determinată cantitativ în hepatita cronică virală C [6,28], datorită lipsei

posibilității determinării peptidului format din 25 aa - hepcidina - din serul uman. Înainte de studiul menționat, există un studiu care a utilizat o metodă semicantitativă pentru a caracteriza efectele hepcidinei, pe un număr redus de pacienți cu hepatită cronică virală C [43].

Prohepcidina, sintetizată la nivelul ficatului, eliberată în plasmă și excretată urinar, este un prohormon al hepcidinei cu aceleași proprietăți ca și hepcidina: reglează absorbția fierului intestinal, eliberarea fierului din macrofage și mobilizarea acestuia din depozitele hepatice [44,45].

Ne propunem caracterizarea nivelului seric al prohepcidinei la pacienții cu HVC, HVB și voluntarii sănătoși și studierea relației dintre prohepcidina serică și feritină, sideremie, fibroză și viremie la pacienții cu HVC, respectiv HVB. Având în vedere că există puține studii care să caracterizeze efectele prohepcidinei serice la pacienții cu HVC și HVB, credem că studiul acesta aduce o contribuție importantă, fiind un studiu prospectiv, longitudinal, observațional pe un număr relativ mare de pacienți cu HVC (86) și 36 de pacienți cu HVB.

Subiecți și metodă

Pacienți

Studiul s-a desfășurat pe un număr de 82 de pacienți cu HVC naivi și 36 pacienți cu HVB naivi. Subiecții au fost urmăriți în Clinica Medicală IV Cluj-Napoca, între 2006-2009. Toți pacienții cu hepatită cronică virală au avut diagnosticul confirmat înainte de includerea în studiu, pe baza: determinărilor de antigen și anticorp (Ag HVC +, Ag HBs +, Ac anti HVD -), viremiilor pozitive (ARN VHC, respectiv AND VHB determinați prin metoda PCR). Viremiile s-au efectuat înainte de administrarea tratamentului antiviral și la 12 săptămâni de la debutul ei pentru evaluarea răspunsului viral precoce (RVP), la 24 de săptămâni la cei cu răspuns viral lent și la 72 de săptămâni (pentru evaluarea răspunsului viral susținut - RVS). Puncția biopsia hepatică s-a efectuat la toți pacienții cu hepatită cronică înainte de începerea tratamentului (între 2 și 16 luni), pentru determinarea gradului de activitate și stadiului bolii. S-au utilizat scorul METAVIR pentru pacienții cu hepatită cronică virală C și scorul Knodell pentru cei cu hepatită cronică virală B.

Pacienții au urmat tratament antiviral conform recomandărilor actuale, cei cu HCV cu pegilatinterferon alfa-2a sau alfa-2b și ribavirină și bolnavii cu HVB cu pegilatinterferon alfa-2a. Tratamentul administrat a fost cel recomandat genotipului 1 viral. Nici un pacient nu a necesitat reducerea dozelor sau întreruperea temporară a tratamentului. Durata tratamentului antiviral a fost de 48 de săptămâni la majoritatea pacienților (72 – 85,71%). Opt pacienți (9,52%) au întrerupt tratamentul datorită lipsei de RVP (scăderea $\leq 2 \log_{10}$ a ARN VHC după 12 săptămâni de terapie). Pacienții (4 - 4,76%) care nu au avut răspuns viral precoce parțial (viremie detectabilă, dar scădere

$\geq 2 \log_{10}$ a ARN VHC după 12 săptămâni de terapie) au efectuat viremia și la 24 de săptămâni. Dacă viremia la 24 de săptămâni a fost detectabilă, tratamentul s-a întrerupt. Dacă viremia a fost nedetectabilă, pacienții au continuat terapia până la 48 de săptămâni. S-a determinat viremia la 72 de săptămâni, cei cu viremie nedetectabilă având RVS (Tabel I).

Nu au fost incluși în studiu pacienții care nu au urmat tratament timp de 12 săptămâni și nu au avut rezultatul viremiei la 12 săptămâni de tratament și pacienții care au urmat alte tratamente pentru comorbidități.

S-au efectuat: prohepcidina serică (prin metoda ELISA cantitativă), sideremia, feritina și viremia la toți pacienții cu hepatită cronică (în momentele: 0 săptămâni, 12 săptămâni, 24 săptămâni, 72 săptămâni lotul cu VHC, respectiv la 0 săptămâni și 72 săptămâni pentru lotul cu VHB).

Voluntari sănătoși

Treizeci și trei de voluntari sănătoși au fost înrolați în studiu. Acești subiecți fac parte din personalul Clinicii Medicală IV, asistente și medici, fiind în proporție de 100% de sex feminin. Afirmativ nu au avut antecedente personale patologice. Acestora li s-au determinat: prohepcidina serică (prin metoda ELISA cantitativă), sideremia și feritina.

Consimțământul participării la studiu a fost obținut de la toți participanții: pacienți și voluntari sănătoși. Au fost respectate prevederile privind buna conduită în cercetarea științifică.

Analiza statistică

A fost efectuată utilizând programele SPSS 16.0 pentru Windows, Medcalc 10.3.0.0, Minitab 14.0 (Demo Versions). S-a verificat normalitatea distribuției variabilelor numerice continue utilizând testul Kolmogorov-Smirnov. Diferențele între mediile variabilelor cantitative continue s-au evaluat cu ajutorul testului Student, iar pentru variabilele cu distribuție care nu respectă condiția de normalitate au fost utilizate teste neparametrice (Mann-Whitney U), respectiv ANOVA (în cazul prezenței mai multor categorii). Pentru a analiza corelații între variabile cu distribuție normală, respectiv nonnormală am utilizat testul Pearson, respectiv testul Spearman. O valoare a lui $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă din punct de vedere statistic.

Rezultate

Caracteristicile principale clinice, biochimice și histologice ale subiecților incluși în studiu sunt reprezentate în tabelul nr. I (Tabel I).

Caracterizarea nivelului seric al prohepcidinei la pacienții cu hepatită cronică virală C, respectiv B în funcție de răspunsul viral

Prohepcidina serică este semnificativ statistic mai scăzută la pacienții cu HVC, față de cei cu HVB sau sănătoși (mediane: 90.500 ng/ml la HVC, față de 117.250

Tabel I. Caracteristicile clinice, biochimice și histologice ale populației studiate.

	HVC	HVB	Sănătoși	p
Vârsta				
Mediana(Min-Max)	53(24-64)	39,5(22-54)	40(19-55)	≤0.001
Sex: F/B	62/20	12/24	33/0	
AST (UI/l)	78	51	25	≤0.001
ALT (UI/l)	90	58	26	≤0.001
Feritina (μg/l)	71	57.5	53	0.307
Sideremie (μg/dl)	105.69	112.72	84.52	0.006
ARN VHC (UI/ml)				
Mediana(Min-Max)	14.4x10 ⁵ (0.672x10 ⁵ - 230 x10 ⁵)			
AND VHB (copii/ml)				
Mediana(Min-Max)	4.625x10 ⁵ (0.465x10 ⁵ - 75.2 x10 ⁵)			
Prohepcidină (ng/ml)	90.5	117.25	118	≤0.001
Fibroza:				
Mediană	3	1		≤0.001
Stagii: nr. pacienți (%)				
0		3(8.33%)		
1	4(4.87%)	18(50%)		
2	28(34.14%)	15(41.66%)		
3	50(60.97%)			
Activitatea (mediana)				
Mediană	2	7		≤0.001
Grade: nr. pacienți (%)				
1	20(24.39%)			
2	34(41.46%)			
3	28(34.14%)			
5		3 (8.33%)		
6		3 (8.33%)		
7		15(41.66%)		
8		3 (8.33%)		
9		6(16.66%)		
10		6(16.66%)		
Pegilatinterferon Nr. (%)				
Alfa2-a	56 (68,29%)	36 (100%)		
Alfa-2b	26 (31,70%)			
Ribavirină (g)				
0,8: nr. (%)	2 (2,43)			
1: nr. (%)	40 (48,78)			
1,2: nr. (%)	40 (48,78)			

ng/ml la HVB, $p \leq 0.001$; 90.500 ng/ml la HVC, față de 118.000 ng/ml la voluntarii sănătoși, $p \leq 0.001$), dar nu există diferențe semnificative statistic între valorile prohepcidinei în HVB, față de cele ale voluntarilor sănătoși, deși mediana prohepcidinei este mai mică la cei cu HVB (mediane: 117.250 ng/ml la HVB, față de 118.000 ng/ml la voluntarii sănătoși, $p = 0.723$) (Fig. 1).

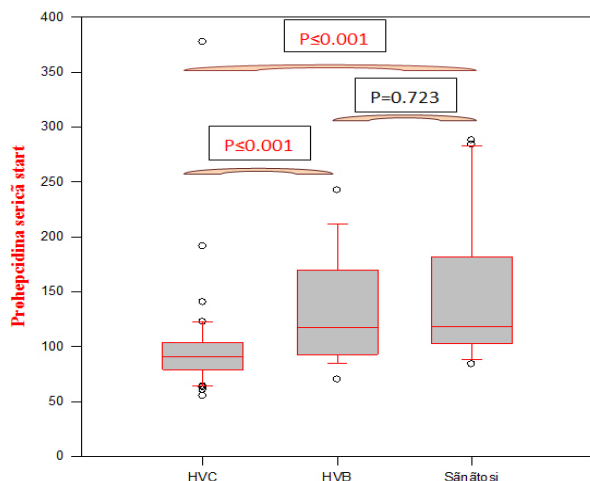


Fig. 1. Compararea nivelului prohepcidinei serice la pacienții cu HVC, HVB și voluntarii sănătoși.

HVC- hepatită cronică virală C; HVB – hepatită cronică virală B

Pentru a urmări în dinamică evoluția prohepcidinei serice la pacienții cu HVC, am efectuat mai multe determinări pe parcursul tratamentului antiviral cu pegilatinterferon alfa-2a, respectiv alfa-2b și ribavirină la momentele 0, 12, 24 săptămâni și la 72 săptămâni, în momentul evaluării RVS. Prohepcidina serică crește la pacienții cu RVS, pe tot parcursul tratamentului antiviral și timp de 6 luni după terminarea acestuia ($p \leq 0.001$). Spre deosebire de aceștia, pacienții cu HVC, care au obținut răspuns viral precoce (RVP), dar nu au avut RVS, au o creștere a prohepcidinei serice doar în primele 12 săptămâni de terapie, iar cei fără RVS cu răspuns viral lent (RVL = negativarea viremiei la 24 de săptămâni), care au urmat tratament până la 48 de săptămâni, au o scădere constantă a prohepcidinei serice de la 0 la 24 de săptămâni, care se menține până la 72 de săptămâni (Fig. 2, Tabel II).

Prohepcidina serică de start nu diferă semnificativ între pacienții care au obținut RVP și cei fără RVP, în schimb valorile mediane la 3 luni sunt semnificativ statistic mai mari la cei cu RVP ($p = 0.007$). Pacienții cu HVC care au RVS au o valoare mai mare a prohepcidinei serice, pe tot parcursul tratamentului antiviral și la 24 de săptămâni după terminarea lui, cu o diferență semnificativă statistic doar la 72 de săptămâni ($p \leq 0.001$). Creșterea prohepcidinei între 0-12 săptămâni nu diferă semnificativ între cei cu RVP și

cei fără RVP ($p=0.897$) și între pacienții care au obținut RVS și cei fără RVS ($p=0.724$). Nici variația prohepcidinei între 12-72 de săptămâni la subiecții cu RVS nu a fost semnificativ diferită față de cei fără RVS ($p=0.598$).

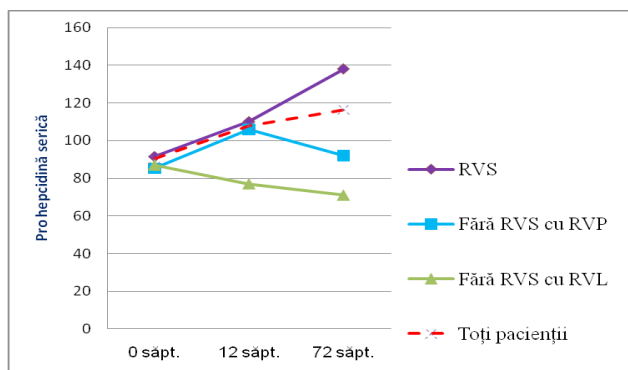


Fig. 2. Evoluția în dinamică a prohepcidinei serice la pacienții cu HVC tratați antiviral cu pegilatinterferon alfa-2a, respectiv alfa-2b și ribavirină în funcție de răspunsul viral.

HVC - hepatită cronică virală C; RVP - răspuns viral precoce; RVL - răspuns viral lent; RVS - răspuns viral susținut.

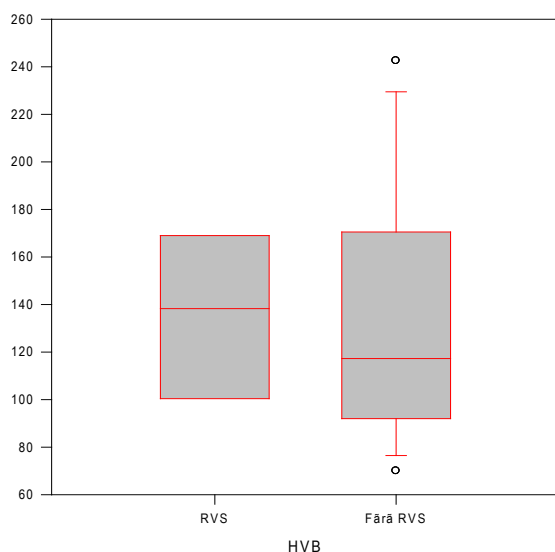


Fig. 3. Valorile mediane ale prohepcidinei inițiale la pacienții cu HVB în funcție de răspunsul viral susținut.

Pacienții cu HVB care au obținut RVS au avut valorile mediane ale prohepcidinei serice mai mari, față de cei care nu au obținut RVS ($p=0.668$), dar rezultatele trebuie interpretate cu prudență datorită numărului redus de pacienți studiați (Fig. 3).

Relația prohepcidină serică - feritină - sideremie la pacienții cu HVC

Evoluția în dinamică a prohepcidinei serice la pacienții care au obținut viremie nedetectabilă după 72 săptămâni de terapie, adică RVS, în urma tratamentului cu pegilatinterferon și ribavirină, are un tren liniar ascendent cu o valoare mediană a prohepcidinei la 72 săptămâni semnificativ mai mare decât cea inițială ($p \leq 0.001$). Feritina scade între 0-72 săptămâni, mai pronunțat după 12 săptămâni. Sideremia crește în primele 3 luni de tratament, după care prezintă o scădere importantă, care se menține până la 72 de săptămâni, la valori mai mici decât cele inițiale.

Prohepcidina serică, feritina și sideremia au o evoluție diferită la lotul de pacienți cu HVC care au avut răspuns viral susținut, față de cei la care nu s-a obținut RVS. Astfel, la cei fără RVS valorile prohepcidinei serice, feritinei și sideremiei rămân aproape constante pe parcursul celor 72 de săptămâni (0-12-72 săptăm.: prohepcidină= 87-97-88 ng/ml, feritină= 83-94-89 μ g/L, sideremie= 105.7-108.9-106.5 μ g/dl) (Fig. 4).

Relația prohepcidină - fibroză la pacienții cu HVC și HVB

Prohepcidina serică inițială (la 0 săptămâni) se corelează pozitiv cu fibroza ($p = 0.358$, $p = 0.00145$) la pacienții cu HVC, astfel prohepcidina e mai suprasată la pacienții care au fibroză incipient F1, decât la pacienții cu F3 (66.250 ng/ml - F1, 83.750 ng/ml - F2, 92.500 ng/ml - F3, $p=0.002$). Nu există corelație statistic semnificativă între variația prohepcidinei serice între 0 și 12 săptămâni și fibroză ($p = -0.0434$, $p=0.698 > 0.05$ - nesemnificativ statistic). Spre deosebire de prohepcidina serică, nu există corelație statistic semnificativă între feritina inițială și fibroză ($p = -0.113$, $p=0.313 > 0.05$ - nesemnificativ statistic) la pacienții cu HVC, deși valorile mediane ale feritinei sunt

Tabel II. Valorile prohepcidinei serice la pacienții cu HVC tratați antiviral cu pegilatinterferon alfa-2a, respectiv alfa-2b și ribavirină în funcție de răspunsul viral.

Variația prohepcidinei serice la pacienții cu HVC		Mediana	Percentila 25	Percentila 75	p
RVS	12 săptămâni	91.500	79.000	104.000	≤ 0.001
	24 săptămâni	106.500	89.750	152.250	
	72 săptămâni	138.000	101.000	169.000	
Fără RVS dar cu RVP	12 săptămâni	85.250	78.000	104.750	0.143
	24 săptămâni	106.000	91.750	135.750	
	72 săptămâni	92.000	84.500	141.250	
Fără RVS și cu RVL	12 săptămâni	87.000	63.000	140.500	0.434
	24 săptămâni	77.000	71.500	118.000	
	72 săptămâni	71.000	70.500	112.000	
Toți pacienții	12 săptămâni	90.500	79.000	103.500	≤ 0.001
	24 săptămâni	104.500	87.000	130.000	
	72 săptămâni	116.500	92.000	155.000	

HVC - hepatită cronică virală C; RVP - răspuns viral precoce; RVL - răspuns viral lent; RVS - răspuns viral susținut.

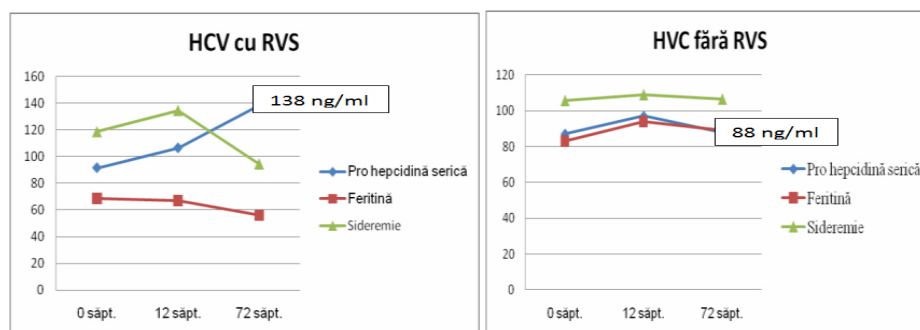


Fig. 4. Evoluția în dinamică a prohepcidinei serice, feritinei și sideremiei la pacienții cu HVC, în funcție de răspunsul viral.

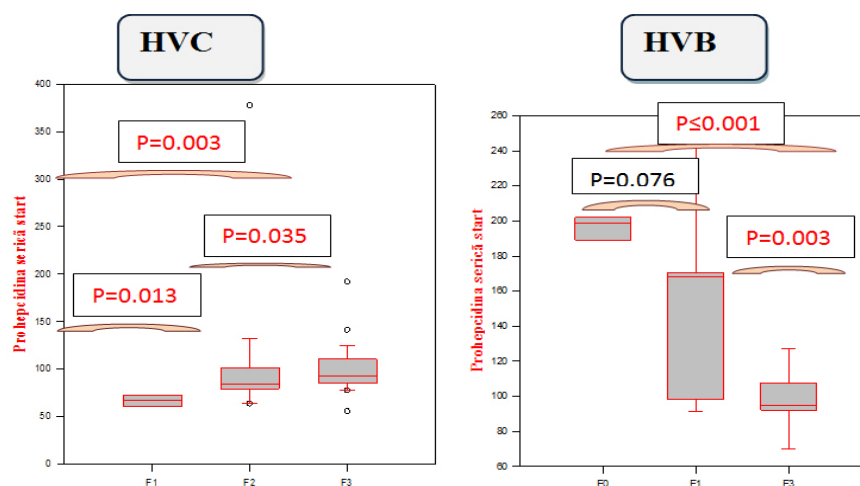


Fig. 5. Prohepcidina serică în funcție de stadiile fibrozei la pacienții cu HCV și HVB.

mai reduse la cei cu fibroză incipientă, la fel ca și cele ale prohepcidinei. (Fig. 6). La cei cu fibroză stadiul 3 feritina se corelează pozitiv cu prohepcidina serică ($\rho = -0.297$, $p = 0.0406 < 0.05$ - semnificativ statistic).

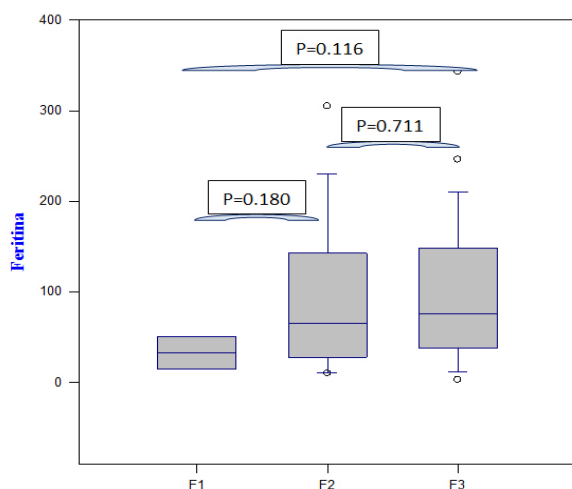


Fig. 6. Feritina în funcție de stadiile fibrozei la pacienții cu HVC.

Există o bună corelație negativă, statistic sem-

nificativă, la subiecții cu HVB între prohepcidina serică inițială și fibroză ($\rho = -0.615$, $p \leq 0.001$), diminuându-se valoarea mediană a prohepcidinei serice pe măsură ce boala hepatică e mai avansată și fibroza este de grad mai mare (mediana: 199.000 ng/ml - F0, 168.250 ng/ml - F1, 95.000 ng/ml - F3, $p = 0.001$) (Fig. 5).

Discuții

Nivelul prohepcidinei serice, peptid cu rol important în reglarea homeostaziei fierului, este scăzut în HVC. Aoki și colab. au raportat o corelație semnificativă între mARN-hepcidina hepatică și depozitele de fier la pacienții cu HVC [46]. Fujita și colab. demonstrează supresia hepcidinei în hepatita cronică virală C, strâns corelată cu depozitele de fier intrahepatice crescute [47]. Jaroszewicz și colab. subliniază asociația dintre prohepcidina serică și gradul disfuncției hepatice, la pacienții cu ciroză hepatică de etiologie virală C [48]. Girelli și colab. observă că nivelul hepcidinei serice este mai redus la pacienții cu HVC și există o asociere între nivelul hepcidinei serice și severitatea leziunilor histologice hepatice la acești pacienți [6].

Din cunoștințele noastre, există doar două studii până în prezent care au raportat sinteza alterată a prohepcidinei serice la pacienții cu hepatită cronică virală

B (HVB). Olmez și colab., respectiv Yonal și colab., susțin că hepcidina este supresată în stadiile avansate ale fibrozei la pacienții cu HVB, mai ales în ciroza hepatică de etiologie B [45,49].

În studiul nostru am urmărit nivelul seric al prohepcidinei serice și evoluția în dinamică a acesteia pe parcursul a 72 de săptămâni, la pacienții cu hepatită cronică virală C și B tratați antiviral timp de 48 săptămâni și am analizat corelațiile dintre nivelul prohepcidinei serice și parametrii biochimici: feritina și sideremia sau histologici - fibroza.

Nivelul seric al prohepcidinei este semnificativ mai redus la pacienții cu HVC, față de cei cu HVB și voluntarii sănătoși. În HVC prohepcidina serică se produce deficitar mai ales în stadiile inițiale ale bolii (F1 și F2), prin acțiunea directă a virusului hepatitic C și pe măsură ce boala progresează, se acumulează fier în ficat, care stimulează sinteza de prohepcidină [6]. Aceasta ipoteză este susținută de trei constatări ale studiului: 1) în stadiile inițiale ale bolii feritina este scăzută, adică depozitele de fier în ficat sunt reduse, deci sinteza prohepcidinei nu este secundară încărcării cu fier a ficatului; 2) doar în fibroza avansată, stadiul 3, există o corelație pozitivă, semnificativă statistic între prohepcidina serică și feritină, deci indirect o legătură între prohepcidină și depozitele de fier și 3) sinteza prohepcidinei se ameliorează, pe parcursul terapiei și timp de 6 luni după terminarea ei, la pacienții cu răspuns viral.

La pacienții cu HVB sinteza prohepcidinei devine alterată atunci când fibroza este avansată (F3). În stadiile avansate de boală prohepcidina scade, în încercarea de a frâna acumularea progresivă a fierului la nivel hepatic [45], indicată de creșterea progresivă a feritinei pe măsură ce fibroza se agravează. La pacienții cu hepatită cronică incipientă prohepcidina serică are valori comparabile cu voluntarii sănătoși. Această constatare sugerează că virusul hepatitic B nu are efecte negative asupra sintezei prohepcidinei, dar e nevoie de alte studii care să urmărească modificările survenite în sinteza prohepcidinei pe parcursul tratamentului antiviral.

Cercetările privitoare la relația dintre feritină și progresia fibrozei în HVC sunt contradictorii: unele susțin că feritina se corelează cu progresia bolii (Mohamed și colab.: depozitele crescute de fier hepatic se asociază cu fibroza mai severă în HCV; feritina este factor independent pentru fibroza severă în HCV, prezice depozitele crescute de fier și severitatea fibrozei [27]), altele susțin că feritina nu prezice gradul fibrozei [3,50].

În studiul nostru, între prohepcidina serică și fibroză există corelație pozitivă la pacienții cu HVC (în timp ce între feritină și fibroză nu există) și corelație negativă la pacienții cu HVB, ceea ce sugerează că dozarea prohepcidinei serice ar putea folosi la caracterizarea stadiului bolii hepatice în HVC, respectiv HVB.

Există o evoluție în dinamică diferită a prohepcidinei serice, sideremiei și feritinei, în funcție de tipurile de răspuns viral obținute. La cei cu răspuns viral susținut

prohepcidina crește, în timp ce feritina scade, mai lent în primele 12 săptămâni și mai accelerat între 12-72 săptămâni, ceea ce sugerează că este nevoie de timp pentru ca sub terapia antivirală să se reducă semnificativ depozitele de fier intrahepatice. Creșterea sideremiei în primele 12 săptămâni s-ar putea datora hepatocitolizei determinate de terapia antivirală, mai accentuată la debutul terapiei. După 12 săptămâni sideremia scade constant, la 72 de săptămâni atingând valori mai mici decât cele inițiale. Scăderea depozitelor de fier intrahepatice pe parcursul terapiei antivirale eficiente este demonstrată și de evoluția total diferită a prohepcidinei serice, feritinei și sideremiei la cei fără răspuns viral susținut, la care valorile acestora nu se modifică semnificativ în timp. Efectele terapiei antivirale asupra prohepcidinei se mențin și după terminarea terapiei, datorită timpului de înjumătățire prelungit al pegilatinterferonului, de peste 6 luni.

Studiul nostru are câteva limite: numărul redus de pacienți cu HVB studiați și lipsa datelor histologice privitoare la depozitele de fier în ficat la pacienții cu HVC.

Concluzii

Sinteza prohepcidinei este alterată la pacienții cu HVC, mai ales în stadiile incipiente ale bolii hepatice, mai probabil prin acțiunea directă a virusului hepatitic C, iar la pacienții cu hepatită cronică virală B în stadiul precirrotic (F3), ca efect al acumulării fierului în ficat. În HVC tratamentul antiviral eficient cu pegilatinterferon și ribavirină îmbunătățește sinteza prohepcidinei. Prohepcidina serică se corelează cu fibroza în ambele etiologii ale hepatitei cronice virale (B și C), astfel ar putea fi un marker serologic al progresiei bolii hepatice.

Bibliografie

1. WHO. Global surveillance and control of hepatitis C. J Viral Hep 1999; 6: 35-47.
2. Seeff L. Natural history of chronic hepatitis C. National Institutes of Health Consensus Development Conference Management of Hepatitis C: 2002. Hepatology 2002; 36:35-46.
3. D'Souza RFC, Feakins R, Mears L, Sabin A, Foster GR. Relationship between serum ferritin, hepatic iron staining, diabetes mellitus and fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. Aliment Pharmacol Ther 2005; 21:519-24.
4. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. Lancet Infect Dis 2005; 5:558-67.
5. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. Gastroenterology 2004; 127:35-50.
6. Girelli D, Pasino M, Goodnough JB et al. Reduced serum hepcidin levels in patients with chronic hepatitis C J Hepatol. 2009 November; 51(5):845-52.
7. Poynard T, Bedossa P, Opolan P for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. Lancet 1997; 349:825-32.
8. Bonkovsky HL, Troy N, McNeal K et al. Iron and HFE or

TfR1 mutations as comorbid factors and progression of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2002; 37:848–58.

9. Beinker NK, Voigt MD, Arendse M, Smit J, Stander IA, Kirsch RE. Threshold effect of liver iron content on hepatic inflammation and fibrosis in hepatitis B and C. *J Hepatol* 1996; 25:633–38.

10. Chapoutot C, Esslimani M, Joomaye Z et al. Liver iron excess in patients with hepatocellular carcinoma developed on viral C cirrhosis. *Gut* 2000; 46:711–14.

11. Pietrangelo A. Metals, oxidative stress, and hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1996; 16:13–30.

12. Angelucci E, Mureto P, Nicolucci A, Baronciani D, Erer B, Gaziev J et al. Effects of iron overload and hepatitis C virus positivity in determining progression of liver fibrosis in thalassemia following bone marrow transplantation. *Blood* 2002; 100:17–21.

13. Guyader D, Thirouard AS, Erdtmann L, Rakba N, Jacquelinet S, Danielou H, et al. Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007; 46:587–95.

14. Nahon P, Sutton A, Rufat P, Zioli M, Thabut G, Schischmanoff PO, et al. Liver iron, HFE gene mutations, and hepatocellular carcinoma occurrence in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2008; 134:102–10.

15. Olynyk JK, Reddy KR, Di Bisceglie AM, Jeffers LJ, Parker TI, Radick JL et al. Hepatic iron concentration as a predictor of response to interferon-alfa therapy in chronic hepatitis-C. *Gastroenterology* 1995; 108:1104–109.

16. Lebray P, Zylberberg H, Hue S, Poulet B, Carnot F, Martin S et al. Influence of HFE gene polymorphisms on the progression and treatment of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2004; 11:175–82.

17. Di Bisceglie AM, Bonkovsky HL, Chopra S, Flamm S, Reddy RK, Grace N et al. Iron reduction as an adjuvant to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C who have previously not responded to interferon: a multicenter, prospective, randomized, controlled trial. *Hepatology* 2000; 32:135–38.

18. Kawamura Y, Akuta N, Sezaki H, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M et al. Determinants of serum ALT normalization after phlebotomy in patients with chronic hepatitis C infection. *J Gastroenterol* 2005; 40:901–906.

19. Kageyama F, Kobayashi Y, Kawasaki T, Toyokuni S, Uchida K, Nakamura H. Successful interferon therapy reverses enhanced hepatic iron accumulation and lipid peroxidation in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:1041–50.

20. Fontana RJ, Israel J, LeClair P, Banner BF, Tortorelli K, Grace N et al. Iron reduction before and during interferon therapy of chronic hepatitis C: results of a multicenter, randomized, control trial. *Hepatology* 2000; 31:730–36.

21. Piperno A, Sampietro M, D'Alba R, Roffi L, Fargion S, Parma S et al. Iron stores, response to a-interferon therapy, and effects of iron depletion in chronic hepatitis C. *Liver* 1996; 16:248–54.

22. Fargion S, Fracanzani AL, Rossini A, Borzio M, Riggio O, Belloni G et al. Iron reduction and sustained response to interferon-a therapy in patients with chronic hepatitis C: results of an Italian multicenter randomized study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:1204–210.

23. Kato J, Kobune M, Nakamura T, Kuroiwa G, Takada K, Takimoto R et al. Normalization of elevated hepatic 8-hydroxy-20-deoxyguanosine level in chronic hepatitis C patients by phlebotomy and low iron diet. *Cancer Res* 2001; 61:8697–702.

24. Bonkovsky HL, Banner BF, Rothman AL. Iron and chronic viral hepatitis. *Hepatology* 1997; 25:759–68.

25. Pietrangelo A. Hemochromatosis gene modifies course of hepatitis C viral infection. *Gastroenterology* 2003; 124:1509–523.

26. Deugnier Y, Brissot P, Loreal O. Iron and the liver: update 2008. *J Hepatol* 2008; 48(Suppl. 1):113–23.

27. Mohamed A, Metwally MA, Zein CO, Zein NN. Clinical significance of hepatic iron deposition and serum iron values in patients with chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 286–91.

28. Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Koliarak V. Serum hepcidin levels are related to the severity of liver histological lesions in chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis* 2010; 17:800–06.

29. Valore EV, Ganz T. Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 40:132–38.

30. Park CH, Valore EV, Waring AJ et al. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276:7806–810.

31. Pietrangelo A. Hemochromatosis: an endocrine liver disease. *Hepatology* 2007; 46:1291–301.

32. Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008; 112:219–30.

33. DeDomenico I, McVey Ward D, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9:72–81.

34. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306:2090–93.

35. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102:783–88.

36. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110:1037–44.

37. Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004; 117:285–97.

38. Pietrangelo A, Dierssen U, Valli L, Garuti C, Rump A, Corradini E et al. STAT3 is required for IL-6-gp130-dependent activation of hepcidin in vivo. *Gastroenterology* 2007; 132:294–300.

39. Camaschella C. Understanding iron homeostasis through genetic analysis of hemochromatosis and related disorders. *Blood* 2005; 106:3710–717.

40. Harrison-Findik DD, Schafer D, Klein E, Timchenko NA, Kulaksiz H, Clemens D et al. Alcohol metabolism-mediated oxidative stress downregulates hepcidin transcription and leads to increased duodenal iron transporter expression. *J Biol Chem* 2006; 281:22974–22982.

41. Bridle K, Cheung TK, Murphy T, Walters M, Anderson G, Crawford DG et al. Hepcidin is down-regulated in alcoholic liver injury: implications for the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30:106–12.

42. Nishina S, Hino K, Korenaga M, Vecchi C, Pietrangelo A, Mizukami Y et al. Hepatitis C virus-induced reactive oxygen species raise hepatic iron level in mice by reducing hepcidin transcription. *Gastroenterology* 2008; 134:226–38.

43. Fujita N, Sugimoto R, Motonishi S, Tomosugi N, Tanaka H, Takeo M et al. Patients with chronic hepatitis C achieving a sustained virological response to peginterferon and ribavirin

- therapy recover from impaired hepcidin secretion. *J Hepatol* 2008; 49:702–10.
44. Nemeth E, Ganz T. The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol*. 2009; 122:78–86.
45. Yonal O, Akyuz F, Demir K et al. Decreased Prohepcidin Levels in Patients with HBV-Related Liver Disease: Relation with Ferritin Levels. *Dig Dis Sci* 2010; 55:3548–355.
46. Aoki CA, Rossaro L, Ramsamooj R, Brandhagen D, Burritt MF, Bowlus CL. Liver hepcidin mRNA correlates with iron stores, but not inflammation, in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2005; 39:71–74.
47. Fujita N, Sugimoto R, Takeo M, et al. Hecpidin expression in the liver: relatively low level in patients with chronic hepatitis C. *Mol Med*. 2007; 13:97–104.
48. Jaroszewicz J, Rogalska M, Flisiak R. Serum prohepcidin reflects the degree of liver function impairment in liver cirrhosis. *Biomarkers*. 2008; 13:478–85.
49. Olmez OF, Gurel S, Yilmaz Y. Plasma prohepcidin levels in patients with chronic viral hepatitis: relationship with liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009; doi: 10.1097/MEG.0b013e3283344708.
50. Silva I, Perez RM, Oliviera P. Iron overload in patients with chronic hepatitis C virus infection: Clinical and histological study *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20:243–48.