

Hepatitis C como factor de riesgo de diabetes mellitus tipo 2

I. Vírveda Chamorro, M. Vírveda Chamorro, R. I. Prieto Carbajo y J. Jaqueti Aroca
Servicio de Análisis Clínicos y Servicio de Microbiología. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid.

Introducción. El virus de la hepatitis C (VHC) se ha implicado como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Nuestro objetivo es comprobar si en nuestros pacientes la infección por VHC constituye un riesgo para el desarrollo de DM2. En caso de establecerse esa relación estudiamos si el posible mecanismo patogénico pudiera estar relacionado con un aumento en los depósitos de hierro (Fe). **Pacientes y método.** Se reunió una serie consecutiva de 305 pacientes que acudieron a nuestro servicio para la determinación de anticuerpos anti-VHC. Los anticuerpos se identificaron mediante ELISA de segunda generación y confirmados por inmunoblot. En el 56% de estos pacientes detectamos ARN viral por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El grupo control estaba formado por 137 pacientes. Analizamos, en todos los casos, los niveles plasmáticos de glucosa, ferritina y otros parámetros bioquímicos. **Resultados.** Se encontró un 13% de diabéticos en los pacientes ARN viral, un 9,3% en los pacientes infectados y sin presencia de ARN y un 3,9 % en los controles. La media del nivel de ferritina para los pacientes infectados fue de 256 mg/l y la de los controles de 151 mg/l ($p=0,01$). Los pacientes diabéticos tuvieron niveles de ferritina de 346 mg/l y los no diabéticos de 218 mg/l ($p=0,038$). La presencia de anticuerpos anti-VHC mostró una *odds ratio* de 2,78 para el riesgo de diabetes. **Discusión.** Nuestros datos mostraron una relación entre la infección por VHC y la diabetes mellitus tipo 2, de forma que el porcentaje de diabéticos aumentó paralelamente el grado de actividad viral, siendo la variable «presencia de anticuerpos anti-VHC» la que más contribuyó al riesgo. Aunque nuestros resultados apoyarían el papel del metabolismo férrico en el desarrollo de diabetes, para contrastar esta afirmación serían necesarios estudios de seguimiento de una cohorte de pacientes infectados por VHC.

PALABRAS CLAVE: hepatitis C, diabetes mellitus, ferritina.

Vírveda Chamorro I, Vírveda Chamorro M, Prieto Carbajo RI, Jaqueti Aroca J. Hepatitis C como factor de riesgo de diabetes mellitus tipo 2. *Rev Clin Esp.* 2006;206(4):167-71.

Hepatitis C as a risk factor of diabetes mellitus type 2

Introduction. Hepatitis C virus (HCV) has been implicated as a risk factor for the development of diabetes mellitus, type 2 (DM2). Our aim is to check if HCV infection in our patients is a risk for the development of DM2. In that case, we study if the possible pathogenic mechanism could be related with an increase in iron deposits. **Patients and method.** A consecutive series of 305 patients that attended to our service for measurement of anti-HCV antibodies was collected. HCV-antibodies were identified by second generation ELISA and confirmed by immunoblot. We detected viral RNA in 56% of these patients by polymerase chain reaction. The control group was made up of 137 patients. In every case, we analyzed the plasma levels of glucose, ferritin and other biochemical parameters. **Results.** We found 13% of diabetics in the patient with viral RNA, 9.3% in the infected patients without RNA and 3.9% in the controls. The average of the ferritin level for the infected patients was 256 mg/l and for the controls was 151 mg/l ($p=0.01$). The diabetic patients had ferritin levels of 346 mg/l and non-diabetic patients had 218 mg/l ($p=0.038$). The presence of HCV-antibodies showed a 2.78 odds ratio for diabetes risk. **Discussion.** Our results showed a relationship between HCV infection and diabetes mellitus type 2, so that the percentage of diabetics increased parallelly with the degree of viral activity and the variable «presence of HCV-antibodies» was the one that most contributed to the risk. Although our results would support the role of the iron metabolism in the development of diabetes, follow-up studies of a cohort of patients infected by HCV would be necessary to contrast this statement.

KEY WORDS: hepatitis C, diabetes mellitus, ferritin.

Correspondencia: I. Vírveda Chamorro.
C./ Donoso Cortés, 79, 5.º A.
28015 Madrid.
Correo electrónico: virmedacha1@mi.madridtel.es
Aceptado para su publicación el 14 de enero de 2005.

Introducción

El virus de la hepatitis C (VHC) es un agente ubicuo con una elevada prevalencia en todo el planeta, esti-

mándose una población infectada de unos 170 millones de personas¹. Esa elevada prevalencia se traduce en un alto coste para los sistemas de salud. Según datos publicados en la revista *Pediatric Infectious Diseases* del año 2000², la hepatitis C fue, junto con el sida, la enfermedad infecciosa que supuso el mayor consumo de recursos terapéuticos y costes indirectos para el sistema sanitario de los países desarrollados. Desde su descubrimiento, el VHC ha ocupado un lugar destacado entre aquellos microorganismos a los que se intenta responsabilizar de diversos procesos patológicos cuya etiología no es conocida. Así, en los últimos años se ha demostrado claramente su relación con procesos como la crioglobulinemia mixta esencial y la glomerulonefritis^{3,4}. En otros, su posible asociación es mucho más controvertida. Entre estos últimos se encuentra la diabetes mellitus tipo 2 (DM2)^{5,6}. Varios mecanismos han sido propuestos para esta asociación, siendo uno de los más atractivos la implicación del metabolismo del hierro (Fe). En este caso, la infección por VHC conllevaría un incremento de los depósitos corporales de Fe, lo que ha sido demostrado en chimpancés infectados por VHC y sometidos a una dieta rica en Fe⁷. La sobrecarga corporal de Fe es uno de los factores desencadenantes de un fenómeno conocido como estrés oxidativo⁸ con varias consecuencias relacionadas con el metabolismo hidrocarbonado: alteración del ADN mitocondrial, disminución del transporte de glucosa a las células al verse comprometida la expresión genética de ciertos transportadores, incremento de la gluconeogénesis al activarse la glucógeno-sintasa e insulinoresistencia, pues los radicales libres y los peróxidos producidos disminuyen la actividad de la proteína-quinasa que media los efectos fisiológicos de la insulina⁹⁻¹¹.

En función de los datos anteriormente expuestos nos planteamos los siguientes objetivos:

1) Comprobar si en nuestros pacientes la infección por VHC constituye un riesgo para el desarrollo de DM2. Para ello estudiamos los niveles de glucemia basal en pacientes con anticuerpos anti-VHC, tanto si se detectan o no indicios de ARN viral, comparando los resultados con un grupo control de pacientes sanos.

2) En caso de establecerse una relación entre la infección por VHC y DM2 comprobar si el posible mecanismo patogénico pudiera estar relacionado con un aumento en los depósitos de Fe, relacionando el estado de los niveles de glucemia en los pacientes con la situación de su metabolismo férrico.

Pacientes y método

Se reunió una serie consecutiva de 305 pacientes que acudieron a nuestro servicio para determinación de anticuerpos anti-VHC. Los anticuerpos se identificaron mediante ELISA de segunda generación (AxSYM HCV versión 3.0, Abbott) y confirmados por inmunoblot (Deciscan HCV Plus, Bio Rad). En el 56% de estos pacientes (172) detectamos ARN viral por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) acoplada a la transcriptasa inversa (RT-PCR) (Amplificador Monitor HCV, Roche Diagnostics). En función del resultado de la RT-PCR los pacientes fueron clasificados en dos grupos:

grupo «no activos» cuando no se detectaba presencia de ARN viral y grupo «activo» cuando sí se detectaba aun en concentraciones mínimas.

El grupo control estaba formado por 137 pacientes sin evidencia de patología hepática, anticuerpos anti-VHC, antígeno del virus de la hepatitis B (VHB) ni valores patológicos de transaminasas o γ GT, equiparados por sexo, edad y nivel socioeconómico con el grupo de pacientes infectados. A ambos grupos de pacientes se les realizó, además de las pruebas serológicas frente a VHC y VHB, estudio de los niveles plasmáticos de glucosa, hierro, transaminasas (alanina aminotransferasa [ALT] y aspartato aminotransferasa [AST]), γ GT (Modular Hitachi, Roche Diagnostics) y ferritina (Nephelometer Analyzer II, Behring). Como marcadores de fase aguda se realizó la cuantificación de la proteína C reactiva (Nephelometer Analyzer II, Behring). En los sueros donde se detectó ARN viral se determinó el genotipo del VHC (HCV Genotype Assay Lipa, Bayer).

Se consideró como pacientes diabéticos a aquellos con glucemia basal en ayunas superior a 126 mg/dl en dos muestras de días diferentes, según los criterios establecidos por la Asociación Americana de la Diabetes para el diagnóstico de esta enfermedad¹².

Se excluyeron del estudio a las mujeres menores de 50 años para disminuir sesgos en los valores de ferritinemia por la menstruación, pacientes VHB positivos, pacientes en tratamiento con interferón y/o ribavirina e individuos con valores elevados de PCR para disminuir la probabilidad de que los valores altos de ferritina pudieran deberse más a su papel como α proteína de fase aguda que como ferroproteína. Se utilizaron los siguientes tests estadísticos: el de la Chi cuadrado para comparar variables categóricas, el de comparación de medias de la «t» de Student para comparar variables dicotómicas y cuantitativas, el análisis de la varianza (ANOVA) para comparar variables categóricas y cuantitativas y el coeficiente de regresión lineal para comparar variables cuantitativas. Por último se utilizó un modelo de regresión logística binaria para analizar la contribución de los factores sexo, edad, ARN, anticuerpos anti-VHC, genotipo, ferritina, ALT, AST, Fe y γ GT en el desarrollo de diabetes. Con este estadístico estudiamos cómo contribuyen diferentes variables, de forma independiente, en la aparición de una enfermedad. El nivel de significación utilizado fue del 95% bilateral ($p < 0,05$). Los datos fueron almacenados en una base de datos Access® y posteriormente importados al programa estadístico SPSS versión 10®.

Resultados

Estadística descriptiva

La media y desviación típica con respecto a la edad, sexo y los niveles de los parámetros bioquímicos de los tres grupos de estudio se muestran en la tabla 1.

Relación de sexo con diabetes

No se comprobó una relación significativa entre el sexo y los valores de glucemia ($p = 0,221$). Tampoco se observó una relación entre el sexo y el diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (el 56,1% de los diabéticos fueron varones y el 43,9% mujeres; $p = 0,615$).

Relación de la edad con la diabetes

Se comprobó una relación significativa entre la edad de los pacientes y los niveles de glucemia (coeficiente

TABLA 1

Distribución de la edad, sexo, glucemia, ferritinemia, hierro, aspartato transaminasa, alanino transaminasa y gamma glutamil transferasa en los tres grupos de estudio

	Edad (años)	Sexo (% varones)	Glucemia (mg/dl)	Ferritinemia (mg/l)	Hierro (µg/dl)	AST (mg/dl)	ALT (mg/dl)	γGT (mg/dl)
Controles	56,03 (18,21)*	63	98,83 (15,63)	151,33 (125,38)	96,43 (44,14)	22,11 (9,63)	27,08 (16,61)	27,56 (29,73)
No activos	58,13 (17,62)	59	107,48 (47,38)	185,09 (177,37)	113,27 (64,92)	47,84 (48,21)	57,72 (63,22)	49,07 (57,19)
Activos	61,73 (17,84)	53	105,14 (30,97)	249,84 (248,94)	114,46 (51,57)	69,81 (96,09)	105,61 (228,71)	64,95 (139,57)

*Media (entre paréntesis desviación típica); AST: aspartato transaminasa; ALT: alanino transaminasa; γGT: gamma glutamil transferasa.

de regresión = 0,12; $p = 0,000$). También se observó una relación entre la edad con el diagnóstico de DM. Los pacientes diabéticos fueron significativamente más viejos que los no diabéticos ($68,87 \pm 13,44$ años frente a $59,26 \pm 17,30$; $p = 0,000$).

Relación serología/ARN con la diabetes

Encontramos diferencias significativas entre la positividad serológica con respecto a los niveles de glucemia, es decir, existieron diferencias significativas ($p = 0,006$) entre los valores de glucemia para los pacientes con anticuerpos anti VHC (glucemia media de 106 mg/dl) y para las de los controles (glucemia media de 99 mg/dl). No encontramos diferencias significativas ($p = 0,12$) si consideramos, además, el parámetro de actividad viral ARN, es decir, comparando el nivel de glucemia en los tres grupos de estudio, siendo la media de glucosa en pacientes del grupo «activo» 105 mg/dl, para los del grupo «no activos» 107 mg/dl y de 99 mg/dl para los controles. Sin embargo, considerando el valor de 126 mg/dl establecido por la Asociación Americana de Diabetes¹² como valor umbral para el diagnóstico de diabetes mellitus, encontramos diferencias significativas ($p = 0,011$) entre los tres grupos (3,9%, 9,3% y 13% de diabéticos en cada grupo, respectivamente) (fig. 1).

Relación de la serología /ARN con el nivel de ferritina

Se observó una relación significativa entre la serolo-

gía para VHC (presencia/ausencia de anticuerpos anti-VHC) y la ferritina. La media del nivel de ferritina para los pacientes con anticuerpos anti-VHC (es decir, tanto pacientes «activos» como «no activos») fue de 256 mg/l y la de los controles de 151 mg/l ($p = 0,01$). Si introducimos la variable ARN también obtenemos diferencias significativas ($p = 0,000$) para los valores de ferritina, siendo además crecientes en el sentido controles (151 mg/l) no activos (185 mg/l) y pacientes activos (249 mg/l).

Relación de la ferritinemia con la diabetes

No encontramos una correlación significativa entre los valores de ferritina y los de glucosa (coeficiente de regresión = 0,096; $p = 0,111$); no hay una relación proporcional entre los valores de ferritina y de glucemia. Sin embargo, al analizar los valores de ferritina en función del diagnóstico de diabetes encontramos que los pacientes diabéticos tienen niveles de ferritina significativamente superiores (346 mg/l) a los de los no diabéticos (218 mg/l) ($p = 0,038$).

Análisis de regresión logística

Los resultados del análisis de regresión logística indicaron que las variables genotipo, sexo, ARN, γGT, AST, ferritina y Fe no contribuyeron significativamente al riesgo de diabetes. Por el contrario sí se encontró una relación respecto del riesgo de DM, de los parámetros edad, nivel sérico de ALT y presencia de anticuerpos anti-VHC (tabla 2).

Discusión

Nuestros datos mostraron una relación entre la infec-

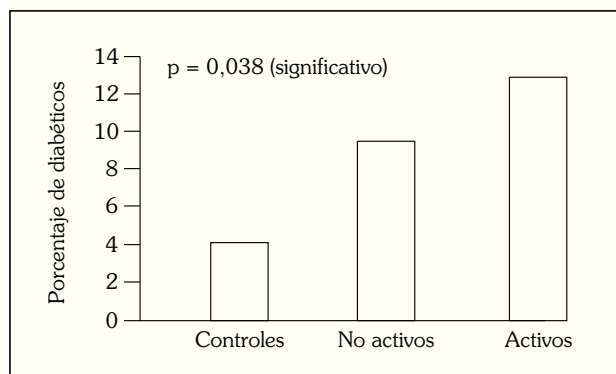


Fig. 1. Relación entre los grupos de estudio y la presencia de diabetes.

TABLA 2
Modelo de regresión logística explicativo del riesgo de padecer diabetes

Variable	B*	SE**	Wald***	p****	OR (Exp)***** (lim. confianza)
Edad	0,0381	0,0131	8,3997	0,0038	1,0388 (1,0038-1,0658)
ALT	0,0025	0,0012	4,4361	0,0352	1,0025 (1,0049-1,0001)
AC	1,0243	0,5121	4,0014	0,0455	2,7851 (7,5990-1,0208)
Constant	-5,5914	0,9867	32,1141	0,0000	

*Coeficiente de regresión multivariante. **Desviación típica. ***Test de significación. ****Nivel de significación. *****Odds ratio. ALT: alanino transaminasa; AC: presencia de anticuerpos antivirales de la hepatitis C (VHC).

ción por VHC y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Al analizar la relación entre los valores de glucemia basal y la serología para VHC observamos que los mayores niveles de glucemia se obtuvieron en los pacientes con anticuerpos anti-VHC (media de glucemia de 106 mg/dl para infectados frente a 99 mg/dl para controles). Sin embargo, al considerar la variable ARN (indicativa de actividad del VHC) no hubo diferencias con respecto a la glucemia entre los tres grupos considerados (controles, no activos y activos), lo que indicaría que la posible interferencia de VHC en el metabolismo de la glucosa no dependería directamente de su grado de actividad replicativa. No obstante, si utilizamos como criterio de diagnóstico de DM un valor de glucemia superior a 126 mg/dl encontramos diferencias significativas no sólo entre los tres grupos de pacientes, sino que además esas diferencias son crecientes, aumentando el porcentaje de diabéticos desde un 3,9% del grupo control, pasando por un 9,3% del grupo no activo hasta un 13% del grupo activo. Esto es compatible con una progresión paralela entre el grado de la actividad del virus y la alteración del metabolismo de la glucosa. Nuestros datos confirman los obtenidos por Garrido et al¹³, que encuentran un 36% de diabéticos en un grupo de cirróticos infectados por VHC en comparación con el 18% en cirróticos por otras causas, obteniendo a su vez mayores valores de ferritina en el primer grupo (137,7 ng/ml) que en el segundo (87,6 ng/ml).

En cuanto al papel que los depósitos de Fe puedan desempeñar en el desarrollo de DM2 en estos pacientes, nuestros resultados confirman lo ya apuntado por varios autores¹³⁻¹⁵ en el sentido del incremento de dichos depósitos en pacientes infectados por VHC (media de ferritinemia: 256 mg/l para los pacientes con anticuerpos anti-VHC y 151 mg/l para los controles), incluso al considerar la variable ARN, obteniendo diferencias significativas y crecientes desde un nivel medio de 96 mg/l de ferritinemia en el grupo control hasta niveles de 113 mg/l y 114 mg/l en los grupos de pacientes no activos y activos, respectivamente.

Sin embargo, al comparar los niveles de ferritina con la glucemia no encontramos relación significativa. Pero si consideramos el valor umbral de glucemia para la diabetes de 126 mg/dl encontramos que aquellos pacientes incluidos en el grupo de diabéticos tienen niveles de ferritinemia sérica superiores (346 mg/l) a los niveles de los no diabéticos (218 mg/l). Hernández et al¹⁶, estudiando los niveles de ferritina sérica en población diabética infectada por VHC, encuentran un nivel mayor en los pacientes diabéticos que en los no diabéticos, al igual que lo ya apuntado por Garrido et al¹³.

El papel de la ferritina en relación con la diabetes podría ser simplemente una variable que lleve a confusión o bien ser intermedia entre la presencia de anticuerpos anti-VHC y DM2, pues si la ferritina se relaciona estadísticamente con los anticuerpos anti-VHC (mayores valores de ferritina en infectados que en los controles) y los anticuerpos anti-VHC se relacionan con DM2 (mayor porcentaje de diabéticos en

función de la serología) podría existir una relación causa-efecto entre ferritina y diabetes. Esto explicaría por qué la ferritina no fue incluida como variable significativa al realizar el análisis multivariante. Varias evidencias apoyarían el papel de la ferritina en la progresión de la infección por VHC. Sabido es que elevados niveles de hierro y ferritina alteran la respuesta inmune¹⁷. Por otra parte, la progresión histológica de la infección crónica por VHC fue más benigna en mujeres menstruantes que además tenían bajos niveles de ferritina (< 9 μ g/l y saturación de transferrina < 20%), lo que sugiere que el estado de las reservas de Fe interviene directamente en la progresión del VHC¹⁸. Otros autores han encontrado que la flebotomía mejora la progresión de la fibrosis hepática y los valores de ALT, γ GT y alfa fetoproteína (pero no modifica niveles ARN viral) en pacientes infectados por VHC, lo que induce a pensar que el mantenimiento de un estado de deficiencia en hierro en estos pacientes podría ser beneficioso para prevenir la progresión de la hepatitis C, especialmente en pacientes con elevada carga viral a pesar del tratamiento con interferón (IF). No obstante, la flebotomía no sólo depleciona los depósitos de Fe, sino que también puede afectar al balance entre los sistemas prooxidativos y antioxidativos¹⁹.

En cuanto al peso de las variables analizadas en el riesgo de desarrollo de DM2, la variable «presencia de anticuerpos anti-VHC» es la que más contribuyó al riesgo (*odds ratio* [OR]: 2,78). Del resto de las variables sólo fueron significativas las contribuciones del factor edad y valor de AST, de forma que el riesgo máximo ocurre en ancianos infectados por VHC y con elevados valores de AST. Wright et al²⁰ encuentran peor pronóstico histológico de la infección crónica por VHC en los pacientes que se infectan a una edad más avanzada. Mangia et al²¹ sólo consideran como factores de riesgo la edad y el desarrollo de cirrosis, negando cualquier contribución que la infección por VHC pudiera tener en el desarrollo de DM. Otros autores también coinciden con nuestra hipótesis, atribuyendo al VHC un papel determinante en el desarrollo de DM2. Así, Custro et al²² encuentran una prevalencia de DM2 en pacientes con infección crónica por VHC del 7% y le atribuyen una OR de 3,9 respecto a la población general, e independiente del sexo o la edad de los pacientes.

En general, la mayoría de los estudios coinciden en que la edad (por encima de 60 años) y una glucemia superior a 82 mg/dl²³ son factores de riesgo predictivos de la progresión a DM2; en menor medida el sexo masculino, con evidencias tanto a favor (OR de 1,56)²³ como en contra de su posible implicación²⁴. Nosotros no encontramos en nuestros pacientes ninguna contribución al riesgo de DM en función del sexo, aunque hay que tener en cuenta que en el diseño inicial del estudio eliminamos a las mujeres de menos de 50 años, lo que ha podido sesgar el papel de esta variable. Otros factores incluyen vida sedentaria, antecedentes familiares de DM2, antecedentes de diabetes gestacional e índice de masa corporal superior a 30, aunque en este caso la OR encontrada ronda el

valor 1^{25,26}.

En conclusión, al intentar relacionar los niveles de ferritina en pacientes infectados por VHC y diabetes nos encontramos con datos que apoyarían una relación causa-efecto entre estas variables. Sin embargo, para contrastar esta afirmación serían necesarios estudios de seguimiento de una cohorte de pacientes infectados por VHC pero sin diabetes durante un tiempo hasta la aparición de esta enfermedad. Pero dada la lenta progresión de la infección por VHC ese seguimiento sería presumiblemente muy largo. De todas formas, independientemente del mecanismo implicado, nuestros resultados son compatibles con la hipótesis de que el riesgo de diabetes está relacionado con los marcadores de actividad viral. De confirmarse esta hipótesis la infección por VHC debería incluirse como un nuevo factor de riesgo en la aparición de DM2 y, por tanto, ser incluido en el *screening* de diabetes/prediabetes recomendado por la Asociación Americana de Diabetes¹².

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Hepatitis C: global prevalence (update). *Weekly Epidemiol Rec.* 2000;75:18-9.
2. Sinha M, Das A. Cost-effectiveness analysis of different strategies of management of chronic hepatitis C infection in children. *Pediatr Infect Dis* 2000;19:23-30.
3. Lunel F, Musset L, Cacoub P, Frangeul L, Cresta P, Perrin M, et al. Cryoglobulinemia in chronic liver diseases: role of hepatitis C virus and liver damage. *Gastroenterology*. 1994;106:1291-300.
4. Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, Osawa H, Inuma H, Sasaki T, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection response to interferon alfa. *Am J Kidney Dis.* 1995;25:67-9.
5. Bahtiyar G, Shin JJ, Aytaman A, Sowers JR, McFarlane SI. Association of diabetes and hepatitis C infection: epidemiologic evidence and pathophysiologic insights. *Curr Diab Rep.* 2004;4:194-8.
6. Lecube A, Hernández C, Genesca J, Esteban JI, Jardi R, Simo R. High prevalence of glucose abnormalities in patients with hepatitis C virus infection: a multivariate analysis considering the liver injury. *Diabetes Care.* 2004;27:1171-5.
7. Basset SE, Di Bisceglie AM, Bacon RR, Sharp RM, Govindarajan S, Hubbard GB, et al. Effects of iron loading on pathogenicity in hepatitis C-infected chimpanzees. *Hepatology.* 1999;29:1884-92.
8. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism.* 2000;49:27-9.
9. Gerbitz KD, Gempel K, Brdiczka D. Mitochondria and diabetes. Genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit. *Diabetes.* 1996;45:113-26.
10. Barbaro G, Di Lorenzo G, Asti A, Ribersani M, Belloni G, Grisorio B, et al. Hepatocellular mitochondrial alterations in patients with chronic hepatitis C: ultrastructural and biochemical findings. *Am J Gastroenterol.* 1999;94:2198-205.
11. Hansen L, Ikeda Y, Olsen G, Busch A, Mosthaf L. Insulin signaling is inhibited by micromolar concentrations of H₂O₂. Evidence for a role of H₂O₂ in tumor necrosis factor alpha-mediated insulin resistance. *J Biol Chem.* 1999;274(35):25078-84.
12. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of diabetes mellitus. Report of the expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1997;20:1183-97.
13. Garrido A, Guerrero FJ, Lepe JA, Palomo S, Grilo A. Hiperinsulinemia en pacientes cirróticos infectados por el virus de la hepatitis C. *Med Clin (Barc).* 2001;24:127-31.
14. Ford ES, Cogswell ME. Diabetes and serum ferritin concentration among U.S. adults. *Diabetes Care.* 1999;22:1978-83.
15. Rigamonti C, Andorno S, Maduli E, Morelli S, Pittau S, Nicosia G, et al. Iron, hepatic stellate cells and fibrosis in chronic hepatitis C. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:28-35.
16. Hernández C, Geesca J, Esteban I, García L, Simó R. Relación entre los depósitos de hierro y diabetes mellitus en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C. Estudio de casos y controles. *Med Clin.* 2000;115:21-2.
17. Walker EM, Walker SM. Effects of iron overload on the immune system. *Ann Clin Lab Sci.* 2000;30:354-65.
18. Sartori M, Andorno S, Rigamonti C, Grossini E, Nicosia G, Boldorini R. Chronic hepatitis C is mild in menstruating women. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000;15:1411-7.
19. Sartori M, Andorno S, Rigamonti C, Boldorini R. Chronic hepatitis C treated with phlebotomy alone: biochemical and histological outcome. *Dig Liver Dis.* 2001;33:157-62.
20. Wright M, Goldin R, Fabre A, Lloyd J, Thomas H, Trepo C, et al. Measurement and determinants of the natural history of liver fibrosis in hepatitis C virus infection: a cross sectional and longitudinal study. *Gut.* 2003;52:574-9.
21. Mangia A, Schiavone G, Lezzi G, Marmo R, Bruno F, Villani MR, et al. HCV and diabetes mellitus: evidence for a negative association. *Am J Gastroenterol.* 1998;93:2363-7.
22. Custro N, Carroccio A, Ganci A, Scafidi V, Campagna P, Di Prima L, et al. Glycemic homeostasis in chronic viral hepatitis and liver cirrhosis. *Diabetes Metab.* 2001;27:476-81.
23. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. Are risk factors for conversion to NIDDM similar in high and low risk populations? *Diabetologia.* 1997;40:62-6.
24. Jarret RJ, Keen H, Fuller JH, McCartney M. Worsening to diabetes in men with impaired glucose tolerance (borderline diabetes). *Diabetologia.* 1979;16:25-30.
25. Vázquez JA, Gaztambide S, Soto-Pedre E. Estudio prospectivo a 10 años sobre la incidencia y factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2. *Med Clin (Barc).* 2000;115:534-9.
26. Informe: Incidencia y Prevalencia de Diabetes Mellitus en la CAM 20001-2001. Boletín Epidemiológico de la Comunidad de Madrid. 2002;