

TRABAJO ORIGINAL

BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN SUBCLÍNICA EN PACIENTES INFANTO-JUVENILES CON DIABETES TIPO 1

SUBCLINICAL INFLAMMATION BIOMARKERS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH TYPE 1 DIABETES

Adela Victoria Abregú¹, Teresita del Rosario Carrizo², Elba Irma Díaz³, María Cristina Fonio⁴,
María Cristina Bazán⁵

RESUMEN

La diabetes tipo 1 (DT1) se asocia a un riesgo incrementado de complicaciones vasculares. Las citoquinas proinflamatorias IL-6, MCP-1 y TNF- α han sido implicadas en el desarrollo de estas complicaciones.

El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles plasmáticos de IL-6, MCP-1, TNF- α , PCRus y fibrinógeno (Fg) en pacientes infanto-juveniles con DT1 y su asociación con el grado de control glucémico y tiempo de evolución de la enfermedad.

Se estudiaron 45 pacientes con DT1 (24 M/21 F), edad 11,2 \pm 1,8 años, con tiempo de evolución de la enfermedad de 3,1 \pm 3,0 años, sin complicaciones vasculares, que se compararon con 20 sujetos sanos. Se determinaron los niveles plasmáticos de IL-6, MCP-1 y TNF- α , Fg, PCRus, recuento de leucocitos, glucemia en ayunas y HbA1c. Se descartó la presencia de retinopatía y nefropatía. Los datos fueron analizados con el programa SPSS 15 para Windows. Los niños diabéticos presentaron niveles mayores de IL-6 (1,10 \pm 0,74 vs 0,68 \pm 0,19 pg/ml; p=0,005), MCP-1 (130 \pm 49 vs 95 \pm 18 pg/ml; p=0,02), PCRus (1,02 \pm 1,07 vs 0,43 \pm 0,26 mg/l; p=0,007), Fg (299 \pm 59 vs 246 \pm 18 mg/dl, p=0,0001), respecto de los controles. No se observaron diferencias significativas de TNF- α entre ambos grupos. Al agrupar a los diabéticos según el grado de control glucémico (HbA1c <8% y \geq 8%) y el tiempo de evolución de la enfermedad (\leq 3 y >3 años), no se encontraron diferencias significativas en las moléculas estudiadas. En los diabéticos la HbA1c se correlacionó con IL-6, MCP-1 y PCRus.

Estos resultados reflejan un estado proinflamatorio en la población diabética estudiada.

Palabras clave: diabetes, inflamación subclínica, citoquinas proinflamatorias, PCRus.

ABSTRACT

Type 1 diabetes (T1D) is associated with an increased risk of vascular complications. Proinflammatory cytokines IL-6, MCP-1 and TNF- α , have been implicated in the development of these complications.

The aim of this study was to determine the plasma levels of IL-6, MCP-1, TNF- α , hsPCR and fibrinogen (Fg) in patients with infant-juvenile DT1 and its association with the glycemic control degree and time to progression of disease.

Forty-five DT1 patients (24 m/21 w), age 11,2 \pm 1,8 years, with a time to progression of disease of 3,1 \pm 3,0 years, without vascular complications, were studied and compared with 20 healthy subjects. Plasma levels of IL-6, MCP-1 and TNF- α , Fg, hsPCR, leukocyte count, fasting blood glucose and HbA1c were determined. The presence of retinopathy and nephropathy was rule out. Data were analyzed with the Windows software SPSS 15. Diabetic children had higher levels of IL-6 (1,10 \pm 0,74 vs 0,68 \pm 0,19 pg/ml; p=0,005), MCP-1 (130 \pm 49 vs 95 \pm 18 pg/ml, p=0,02), hsPCR (1,02 \pm 1,07 vs 0,43 \pm 0,26 mg/l; p=0,007) Fg (299 \pm 59 vs 246 \pm 18 mg/dl, p=0,0001) with respect to controls. No significant difference of TNF- α between both groups were observed. When diabetic patients were grouped according to glycemic control degree (HbA1c <8% and \geq 8%) and time to progression of DT1 (\leq 3 and >3 years), no significant differences were found in the molecules studied. In diabetic patients, HbA1c was correlated with IL-6, MCP-1 and hsPCR.

These results reflect a proinflammatory state in the diabetic population studied.

Key words: diabetes, subclin inflammation, proinflammatory cytokines, hsPCR.

Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes 2015; Vol. 49 (44-49)

Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes 2015; Vol. 49 (44-49)

¹ Dra. en Bioquímica. Prof. Asoc. Práctica Profesional. Cátedra de Práctica Profesional, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina

² Bioquímica. Docente Práctica Profesional. Cátedra de Práctica Profesional, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina

³ Bioquímica. Prof. Asoc. Práctica Profesional. Cátedra de Práctica Profesional, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina

⁴ Bioquímica. Docente Práctica Profesional. Cátedra de Práctica Profesional, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina

⁵ Dra. en Medicina. Jefa del Servicio Endocrinología del Hospital del Niño Jesús (SIPROSA), Tucumán, Argentina

Contacto del autor: Adela Victoria Abregú

E-mail: vabregu@fbqf.unt.edu.ar

Correspondencia: Pje. Puerto Argentino 1368, (CP4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

Tel.: (54381) -4423660

Fecha de trabajo recibido: 27/08/2015

Fecha de trabajo aceptado: 15/09/15

INTRODUCCIÓN

La incidencia de diabetes tipo 1 (DT1) está incrementándose progresivamente en todo el mundo y este aumento no puede explicarse sólo por los factores genéticos¹. Si bien los mecanismos que desencadenan la DT1 son múltiples y no del todo conocidos, actualmente se acepta que es un desorden inmunoinflamatorio crónico.

La respuesta autoinmune que conduce a la DT1 se asocia estrechamente con sobreproducción de citoquinas por los linfocitos T helper-1 que activan en los macrófagos la producción de mediadores proinflamatorios como la interleuquina 6 (IL-6), la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que promueven la síntesis hepática de proteínas de fase aguda tales como la proteína C reactiva (PCR) y el fibrinógeno (Fg)^{2,3}.

La IL-6 es una citoquina pleiotrópica producida por adipocitos, fibroblastos, células endoteliales y leucocitos activados. Es la principal reguladora de la respuesta inflamatoria aguda y tiene un papel crítico en la inflamación crónica^{4,5}. En adultos con DT1 se han encontrado tanto niveles bajos como elevados de IL-6 respecto de personas sanas^{6,7}. Además algunos estudios sugieren que la IL-6 participa en la iniciación y aceleración del proceso de la inflamación crónica y podría contribuir al desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares en pacientes diabéticos^{8,9}.

La MCP-1 (del inglés *monocyte chemoattractant protein-1*) está involucrada en el reclutamiento y activación de monocitos contribuyendo al proceso inflamatorio. Niveles elevados de MCP-1 se han asociado a aterosclerosis y a las complicaciones vasculares de la diabetes tipo 2^{10,11}. Además, un aumento en la expresión de MCP-1 se ha detectado en los macrófagos, células endoteliales y células del músculo liso vascular en la placa de ateroma. La activación de macrófagos por la MCP-1 también parece estar implicada en la vulnerabilidad de la placa¹².

El TNF- α es otra citoquina proinflamatoria producida por tejido adiposo, macrófagos y células endoteliales que ejerce un efecto deletéreo sobre la homeostasis vascular por diferentes mecanismos, como la disminución de la vasodilatación por menor biodisponibilidad del NO, estimulación de la expresión de moléculas de adhesión y aumento de la apoptosis celular^{13,14}. Sin embargo, los resultados de la asociación del TNF- α con la DT1 son divergentes.

La PCR es sintetizada principalmente en el hígado en respuesta a la IL-6, IL-1 y TNF- α , regulando la intensidad y extensión de la reacción inflamatoria aguda. En estudios experimentales se ha detectado la presencia de PCR en arterias con lesiones ateroscleróticas. También se ha demostrado que la PCR induce la producción de otras células inflamatorias y disminuye la expresión de la NO sintetasa en las células endoteliales, participando activamente en el proceso aterogénico. La PCR también promueve la captación de las LDL por los macrófagos y facilita la adhesión y trans migración de los leucocitos al estimular la expresión de moléculas de adhesión y la secreción de MCP-1¹⁵. La determinación de PCR por métodos ultrasensibles (PCRus) permite detectar la inflamación subclínica y evaluar niveles de riesgo cardiovascular en individuos aparentemente sanos¹⁶.

El Fg es una glicoproteína de fase aguda que por acción de estímulos proinflamatorios de las IL-1 e IL-6 puede incrementar de dos a 20 veces su valor normal. Tiene una actividad importante en el proceso de inflamación, aterosclerosis y trombogénesis, aumentando el riesgo cardiovascular. El Fg también modula la disfunción endotelial y promueve migración y proliferación de las células del músculo liso¹⁷.

En niños y adolescentes con diabetes se han evidenciado anomalías vasculares precoces, como disfunción endotelial, niveles elevados de moléculas de adhesión, incremento del espesor de la íntima-media de la arteria carótida. Sin embargo, las investigaciones de estas citoquinas en pacientes infanto-juveniles con DT1 son escasas¹⁸⁻²⁰.

El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles plasmáticos de IL-6, MCP-1, TNF- α , PCRus y Fg como marcadores de inflamación subclínica en pacientes infanto-juveniles con DT1 y su asociación con el grado de control glucémico y el tiempo de evolución de la enfermedad.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, analítico y de corte transversal en pacientes infanto-juveniles con DT1, sin evidencia clínica de enfermedad vascular.

Se incluyeron 45 pacientes con diagnóstico de DT1 (24 M/21 F), edad 11,2 \pm 1,8 años y un tiempo de evolución de la enfermedad de 3,1 \pm 3,0 años, que concurrieron a los consultorios externos del Servicio de Endocrinología del Hospital del Niño Jesús de San Miguel de Tucumán. Los pacientes

fueron comparados con un grupo control constituido por 20 sujetos de edades, sexo e índice de masa corporal (IMC) semejantes, sin antecedentes familiares de diabetes.

Los criterios de exclusión de pacientes para este estudio fueron: presencia de otras endocrinopatías asociadas, enfermedades cardiovasculares, hepáticas, renales, procesos inflamatorios y/o infecciosos agudos y crónicos. Una PCR sérica convencional, con una sensibilidad de 6 mg/l, se utilizó para excluir inflamación aguda. Se descartó la patología cardiovascular mediante estudio clínico y de registro cardiográfico. La ausencia de retinopatía se confirmó mediante examen de fondo de ojo y de nefropatía incipiente mediante la determinación de microalbuminuria (Sistema DCA 2000, Siemens).

A los pacientes se les confeccionó una historia clínica detallada consignando los siguientes datos: edad cronológica, peso, talla, IMC, estadio de Tanner, tiempo de evolución de la diabetes, presión arterial y antecedentes familiares de diabetes.

En ambos grupos se tomaron muestras de sangre previo ayuno de 12 horas, las que se centrifugaron y se separó suero/plasma, conservándose a -20°C hasta su procesamiento.

El grado de control glucémico se evaluó mediante la determinación de glucemia en ayunas (Mét. Enzimático, Wiener Lab) y hemoglobina glicosilada (HbA1c, Sistema DCA 2000, Siemens).

La presencia de un estado inflamatorio subclínico se investigó a través de la determinación de los niveles plasmáticos de las citoquinas IL-6, MCP-1 y TNF- α empleando técnicas de ELISA (R&D Systems). También se midieron las concentraciones de PCRus (Met. ECLIA, Siemens) y Fg plasmático (Met. coagulométrico de Clauss, Stago).

Se compararon los pacientes de acuerdo al tiempo de evolución de la diabetes; el punto de corte se fijó en tres años porque corresponde al valor promedio de la antigüedad de los niños estudiados.

También se compararon aquellos pacientes que se encontraban con buen y mal control metabólico, para lo cual se estableció un punto de corte de HbA1c por encima y por debajo del 8% respectivamente. Si bien las distintas organizaciones de estudio de la diabetes aconsejan para niños y adolescentes con DT1 como valor óptimo de control glucémico una HbA1c <7,5%, en la población diabética analizada en este trabajo, ninguno de los niños presentaba un valor de HbA1c

menor al sugerido. Además, se consideró el valor de corte <8% por el riesgo de hipoglucemia en estos pacientes.

Los datos fueron analizados con el programa SPSS 15 para Windows y los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar. El coeficiente de Pearson se utilizó para investigar las correlaciones entre las variables estudiadas. Un valor de $p < 0,05$ se consideró significativo.

Para la realización de este proyecto, de acuerdo a las disposiciones de la ANMAT 5330/97 e internacionales, se contó con la aprobación del Comité de Docencia e Investigación del Hospital de Pediatría, así como los consentimientos informados firmados por los padres y/o tutores de los pacientes y un testigo.

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra las características clínicas y el estado glucémico de los dos grupos estudiados, observándose que entre diabéticos y controles no hubo diferencias significativas respecto de la edad e IMC. La distribución de los estadios de Tanner en ambos grupos está representada en el Gráfico 1, observándose que la frecuencia de pre-púberes (Tanner 1) fue de 36 y 30% en obesos y controles respectivamente, mientras que en los púberes (Tanner 2-5) fue de 64 y 70%.

	DT1	Controles	P
n (varones/mujeres)	45 (24/21)	20 (10/10)	----
Edad (años)	11,8 \pm 1,8	10,4 \pm 1,6	NS
IMC (Kg/m ²)	19,5 \pm 4,3	19,5 \pm 2,4	NS
Evolución diabetes (años)	3,1 \pm 3,0	----	----
Glucemia en ayunas (mg/dl)	214 \pm 108	77 \pm 10	0,0001
HbA1c (%)	9,7 \pm 2,8	5,8 \pm 0,5	0,0001

Los resultados se expresan como media \pm desviación estándar. NS: no significativo valor de p significativo < 0,05.

Tabla 1: Características de las poblaciones estudiadas y estado glucémico de las mismas.

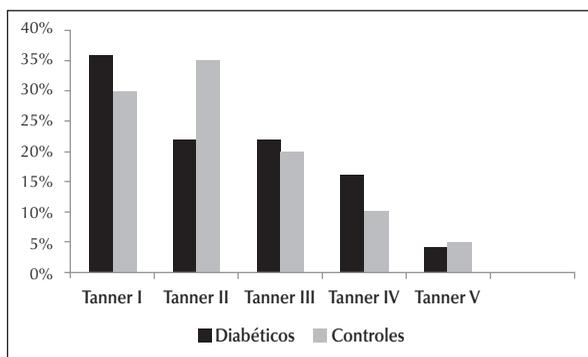


Gráfico 1: Estadios de Tanner en ambos grupos.

La población infanto-juvenil con DT1 presentó niveles mayores de IL-6, MCP-1, PCRus y Fg con respecto a los controles. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los valores de TNF- α (Tabla 2). Entre varones y mujeres no hubo diferencias en las moléculas estudiadas.

Cuando se agruparon los pacientes diabéticos según el grado de control glucémico en diabéticos con buen control (DBC; HbA1c <8%) y diabéticos con pobre control (DPC; HbA1c \geq 8%), no hubo diferencias significativas en los niveles de IL-6, MCP-1 TNF- α , PCRus ni Fg (datos no mostrados). Cabe destacar que el 76% (n=34) de los diabéticos presentó un pobre control glucémico.

Cuando se separaron los pacientes según el tiempo de evolución de la enfermedad (\leq 3 y $>$ de 3 años), no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

Finalmente en los diabéticos se observó que la HbA1c se correlacionó positivamente con IL-6, MCP-1 y PCRus (Tabla 3) y también la IL-6 con PCRus (r=0,47; p=0,001).

	DT1	Controles	P
Leucocitos (x μ l)	7029 \pm 1730	6680 \pm 1860	NS
IL-6 (pg/ml)	1,10 \pm 0,74	0,68 \pm 0,19	0,005
MCP-1 (pg/ml)	130 \pm 49	95 \pm 18	0,02
TNF- α (pg/ml)	14,55 \pm 5,27	12,82 \pm 2,03	NS
PCRus (mg/l)	1,02 \pm 1,07	0,43 \pm 0,26	0,007
Fg (mg/dl)	299 \pm 59	246 \pm 18	0,0001

Los resultados se expresan como media \pm desviación estandar. NS: no significativo.

Tabla 2: Niveles plasmáticos de moléculas marcadoras de inflamación en diabéticos y controles.

	r	p
IL-6	0,36	0,01
MCP-1	0,32	0,03
TNF- α	0,39	0,01

r se calculó con el Coeficiente de Pearson.

Tabla 3: Correlación entre niveles de HbA1c y concentración sérica de citoquinas proinflamatorias.

DISCUSIÓN

El papel de la inflamación crónica de bajo grado como un vínculo entre la diabetes y sus consecuencias cardiovasculares se ha estudiado ampliamente en los últimos años^{21,22}.

En este trabajo se investigaron biomarcadores de inflamación subclínica en una población infanto-juvenil con DT1, encontrándose niveles plasmáticos elevados de IL-6, MCP-1, PCRus y Fg. En concordancia, Fawaz et al. hallaron valores aumentados de IL-6 y PCRus y una correlación entre estas moléculas y la HbA1c, pero en contraste, al comparar niños con buen y mal control glucémico informaron significativos aumentos en estos últimos²³. Resultados de otros investigadores confirmaron niveles elevados de PCRus e IL-6 en DT1^{24,25}. Este aumento puede estar relacionado a la activación de macrófagos, incremento del estrés oxidativo, hiperglucemia, formación de productos de glicación avanzados (AGEs) y a disfunción endotelial, ya que hay evidencia de que estos mecanismos contribuyen a la etiopatogenia de la DT1.

La relación entre MCP-1 e hiperglucemia ha sido estudiada en trabajos experimentales y clínicos. De este modo, se ha demostrado que las altas concentraciones de glucosa aumentan la expresión MCP-1 en cultivos de células humanas mesangiales. Además, elevados niveles de glucosa en sangre favorecen una mayor generación de los AGEs, lo cual estimula la secreción de MCP-1 en células mesangiales^{26,27}.

Se han informado niveles elevados de MCP-1 en adultos con diabetes tipo 2 con y sin complicaciones vasculares^{11,28}. Recientemente Verrijn Stuart et al. examinaron los niveles plasmáticos de 24 adipoquinas y su relación con el tejido adiposo de niños con DT1. El perfil de adipoquinas mostró un aumento de varias citoquinas, incluida la MCP-1, que sugieren la participación del tejido adiposo en la inflamación de bajo grado asociada a DT1, aún en pacientes pediátricos²⁹. Concordando con nuestro trabajo, otros autores también infor-

maron niveles elevados de MCP-1 en niños con DT1 comparados con sujetos controles³⁰.

Coincidiendo con nuestros resultados, Romano et al. no encontraron diferencias en los niveles séricos de TNF- α entre los grupos de niños controles y diabéticos con un tiempo de evolución mayor a un año. Sin embargo estos autores observaron que los diabéticos de reciente diagnóstico (<1 año) tuvieron mayor TNF- α comparados con aquellos de más de un año de evolución. Estos niveles elevados de TNF- α , limitados a los casos de reciente diagnóstico, indican la activación de una respuesta inflamatoria en la primera etapa de la enfermedad³¹.

Nuestros datos demostraron que la PCRus y el Fg están aumentados en niños y adolescentes con DT. Estos hallazgos son consistentes con varios trabajos previos que detectaron un estado inflamatorio en niños y adolescentes con DT¹³²⁻³⁴.

CONCLUSIONES

Los niveles plasmáticos aumentados de IL-6, MCP-1, PCRus y Fg en niños y adolescentes con DT1, sin complicaciones vasculares, sugieren la presencia de un estado de inflamación subclínica en la población estudiada.

La detección temprana de estas moléculas contribuiría a la prevención y/o retardo de las manifestaciones vasculares en la diabetes, mejorando la calidad de vida y el bienestar de estos pacientes.

REFERENCIAS

1. Snell-Bergeon JK, West NA, Mayer-Davis EJ, et al. Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: The SEARCH Case-Control Study. *J. Clin. Endocrinol Metab.* 2010; 95(6):2868-76.
2. Fujii C, Sakakibara H, Kondo, et al. Plasma fibrinogen levels and cardiovascular risk factors in Japanese schoolchildren. *J. Epidemiol.* 2006; 16:64-9.
3. Hartge MM, Unger T, Kintscher U. The endothelium and vascular inflammation in diabetes. *Diabetes Vasc. Dis. Res.* 2007; 4:84-8.
4. Croker BA, Kiu H, Pellegrini M, et al. IL-6 promotes acute and chronic inflammatory disease in the absence of SOCS3. *Immunol. Cell Biol.* 2012; 90(1):124-9.
5. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, et al. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin. Sci. (Lond)* 2012; 122:143-59.
6. Geerlings SE, Brouwer EC, Van Kessel KC, et al. Cytokine secretion is impaired in women with diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Invest.* 2000; 30(11):995-1001.
7. Targher G, Zenari L, Bertolini L, et al. Elevated levels of interleukin-6 in young adults with type 1 diabetes without clinical evidence of microvascular and macrovascular complications. *Diabetes Care* 2001; 24(5):956-7.
8. Jialal I, Kaur H. The role of toll-like receptors in diabetes induced inflammation: implications for vascular complications. *Current Diabetes Reports* 2013; 12(2):172-9.
9. Wegner M, Araszkievicz A, Piorunski-Stolzmann M, et al. Association between IL-6 concentration and diabetes-related variables in DM1 patients with and without microvascular complications. *Inflammation* 2013; 36(3):723-8.
10. Kusano KF, Nakamura K, Kusano H, et al. Significance of the level of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerosis. *Circ. J.* 2004; 68(7):671-6.
11. Sozer V, Himmetoglu S, Korkmaz GG, et al. Paraoxonase, oxidized low density lipoprotein, monocyte chemoattractant protein-1 and adhesion molecules are associated with macrovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Minerva Med.* 2014; 105(3):237-44.
12. Ikeda U, Matsui K, Murakami Y, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and coronary artery disease. *Clin. Cardiol.* 2002; 25(4):143-7.
13. Doganay S, Evreklioglu C, Er H, et al. Comparison of serum NO, TNF- α , IL-1 β , sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye* 2002; 16:163-70.
14. Fernando Gomes DF, Telo HP, Souza JCN, et al. Obesidad y enfermedad arterial coronaria: papel de la inflamación vascular. *Arq. Bras. Cardiol.* 2010; 94:260-6.
15. Du Clos TW. Pentraxins: structure, function, and role in inflammation. *ISRN Inflamm.* 2013; 2013:379040. doi:10.1155/2013/379040.
16. Montgomery JE, Brown JR. Metabolic biomarkers for predicting cardiovascular disease. *Vasc. Health Risk Manag.* 2013; 9:37-45.
17. Ahmed MS, Jadhav AB, Hassan A, et al. Acute phase reactants as novel predictors of cardiovascular disease. *ISRN Inflamm.* 2012; 2012:953461. doi:10.5402/2012/953461.
18. Babar GS, Zidan H, Widlansky ME, et al. Impaired endothelial function in preadolescent children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34(3):681-5.
19. Cé GV, Rohde LE, da Silva AM, et al. Endothelial dysfunction is related to poor glycemic control in adolescents with type 1 diabetes under 5 years of disease: evidence of metabolic memory. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011; 96(5):1493-9.
20. Bayir O, Korkmaz HA, Dizdärer C, et al. Carotid artery intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2014; doi: 10.5152/akd.2014.4788.
21. Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94(9):3171-82.
22. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, et al. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2014; 105(2):141-50.
23. Fawaz L, Elwan AE, Kamel YH, et al. Value of C-reactive protein and IL-6 measurements in type 1 diabetes mellitus. *Arch. Med. Sci.* 2009; 5(3):383-90.
24. Picardi MG, Valorani U, Vespasiani Gentilucci V, et al. Raised C-reactive protein levels in patients with recent onset type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2007; 23:211-4.
25. Scholin A, Siegbahn A, Lind L, et al. CRP and IL-6 concentrations are associated with poor glycemic control despite preserved beta-cell function during the first year after diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2004; 20(3):205-10.
26. Ihm CG, Park JK, Hong SP, et al. A high glucose concentration stimulates the expression of monocyte chemoattractant peptide 1 in human mesangial cells. *Nephron* 1998; 79:33-7.
27. Panee J. Monocyte chemo attractant protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine* 2012; 60(1):1-12.

28. Kravchun P, Narizhna A, Ryndina N. Monocyte chemo attractant protein-1 in patients with chronic heart failure of different functional class with type 2 diabetes. *Georgian Med. News* 2014; 231:42-5.
29. Verrijn Stuart AA, Schipper HS, Tasdelen I, et al. Altered plasma adipokine levels and in vitro adipocyte differentiation in pediatric type 1 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2012; 97(2):463-72.
30. Zineh I, Beitelshees AL, Silverstein JH, et al. Serum monocyte chemo attractant protein-1 concentrations associate with diabetes status but not arterial stiffness in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32(3):465-7.
31. Romano M, Pomilio M, Vigneri S, et al. Endothelial perturbation in children and adolescents with type 1 diabetes: association with markers of the inflammatory reaction. *Diabetes Care* 2001; 24(9):674-8.
32. Arroyo V, Camacho P, Vásquez K, et al. Marcadores de inflamación y autoinmunidad en pacientes con diabetes tipo 1. *Rev. Chile Endocrinol. Diabetes* 2014; 7:6-9.
33. Amanullah S, Jarari A, Govindan M, et al. Association of hs-CRP with diabetic and non-diabetic individuals. *JJBS* 2010; 3:7-12.
34. Targher G, Bertolini L, Zoppini G, et al. Increased plasma markers of inflammation and endothelial dysfunction and their association with microvascular complications in Type 1 diabetic patients without clinically manifest macroangiopathy. *Diab. Med.* 2005; 22:999-1004.