

Estado proinflamatorio en niños obesos

Proinflammatory state in obese children

Luciardi M. C.^a, Carrizo T.R.^a, Díaz E. I.^a, Áleman M. N.^a, Bazán M. C.^b, Abregu A. V.^a

^aCátedra Práctica Profesional, Facultad de Bioquímica, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina

^bServicio de Endocrinología, Hospital del Niño Jesús, Tucumán, Argentina

Recibido el 24 de agosto de 2017; aceptado el 23 de febrero de 2018

Resumen

Introducción: La presencia de un estado de inflamación de bajo grado en niños obesos, se debería, entre otros factores, a que el tejido adiposo de los obesos produce moléculas proinflamatorias que contribuyen al desarrollo de aterosclerosis. **Objetivo:** Determinar en una población de niños obesos los niveles séricos de ligando CD-40 soluble (sCD40L), proteína quimioattractante de monocitos 1 (MCP-1), interleuquina 6 (IL-6), Factor de Necrosis tumoral α (TNF- α) y Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR-us), comparados con un grupo control y analizar la correlación de estas moléculas con las variables antropométricas y metabólicas. **Pacientes y Método:** Estudio transversal de 37 niños obesos de 8 a 12 años y 20 niños con peso normal. A todos los pacientes se les realizó una historia clínica consignando edad, peso, talla, IMC, circunferencia de cintura, estadios de Tanner y antecedentes familiares. Se determinaron los niveles séricos de sCD40L, MCP-1, IL-6, TNF- α y PCR-us mediante ELISA, PCR-us por quimioluminiscencia, glucemia, insulina plasmática, perfil lipídico y se calculó el índice HOMA. Los datos se expresaron como la mediana y rango intercuartil y se utilizó el coeficiente de Spearman para investigar las correlaciones entre variables. **Resultados:** Los niños obesos presentaron valores significativamente mayores de sCD40L, MCP-1, IL-6, TNF- α , PCR-us que los niños controles. El índice de masa corporal y la circunferencia de cintura se correlacionaron positivamente con sCD40L y MCP-1. **Conclusión:** Los niveles elevados de las moléculas estudiadas sugieren la presencia de inflamación de bajo grado asociada a obesidad en esta población.

Palabras clave:

Obesidad;
inflamación subclínica;
TNF- α ;
PCR-us;
factores proinflamatorios

Abstract

Introduction: Obesity is a chronic disease that affects adults as well as children and is associated with insulin resistance, type 2 diabetes and cardiovascular disease. One of the reasons for the presence of low-grade inflammation in these patients could be that adipose tissue of the obese produces proinflammatory molecules that favor the development of atherosclerosis. **Objective:** To determine serum levels of soluble CD40 ligand (sCD40L), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), interleukin 6 (IL-6), Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) and high sensitivity CRP (hsCRP), in an obese children population compared to a control group, also to analyze the correlation of these molecules with

Keywords:

Obesity;
subclinical inflammation;
TNF- α ;
hsPCR

the anthropometric and metabolic variables. **Patients and Method:** A cross-sectional, observational study was carried out on 37 obese children, aged 8 to 12 years, and 20 children with normal weight. Serum levels of sCD40L, MCP-1, IL-6, TNF- α and hsCRP were determined. Data were expressed as the median and interquartile range and Spearman coefficient was used to investigate correlations between variables. **Results:** Compared to the control group, obese children presented significantly higher values of sCD40L, MCP-1, IL-6, TNF- α , and hsCRP than control group. Body mass index and waist circumference correlated positively with sCD40L and MCP-1. **Conclusion:** Elevated levels of the studied molecules suggest the presence of low-grade inflammation associated with obesity in this population.

Introducción

La obesidad es una enfermedad metabólica e inflamatoria que se ha convertido en una epidemia no solo en los adultos sino también en niños y adolescentes. Su prevalencia se ha incrementado en las últimas décadas y es considerada la enfermedad crónica no transmisible más frecuente en el mundo¹. La obesidad infantil frecuentemente continúa hasta la edad adulta y está estrechamente asociada a resistencia a la insulina (RI), dislipidemia, hipertensión arterial y diabetes tipo 2⁽²⁾.

Diversos procesos intervienen en la asociación entre obesidad e inflamación, entre ellos, la hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos, reclutamiento de macrófagos, aumento de la hipoxia, elevación del grado de estrés oxidativo y secreción incrementada de citoquinas inflamatorias como Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), Interleuquina 6 (IL-6) y Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1 (MCP-1)^{3,4}. Las citoquinas ejercen un profundo efecto sobre la sensibilidad a la insulina en el hígado, tejidos periféricos y en la homeostasis del endotelio vascular⁵.

No obstante, como ocurre en muchas situaciones fisiopatológicas, la obesidad infantil presenta características propias que incluirían a la síntesis y secreción de adipoquinas. Así, la infancia y la adolescencia son periodos de intensa adipogénesis y la acumulación de tejido adiposo estaría asociada principalmente al aumento en el número de adipocitos de tamaño normal (obesidad hiperplásica). Además, el patrón de secreción de adipoquinas dependería del tamaño de los adipocitos^{6,7}.

El TNF- α , producido por tejido adiposo, macrófagos y células endoteliales, participa en varios procesos fisiológicos en respuesta a injurias, infecciones, angiogénesis y/o apoptosis. El TNF- α tiene un importante papel en la resistencia a la insulina, ya que inhibe la acción de la insulina en los adipocitos a través de inhibidores en la vía de señalización de esta hormona y también parece estar relacionado a la resistencia insulínica periférica⁸. Ejerce también un efecto deletéreo

sobre la homeostasis vascular, por diferentes mecanismos como la disminución de la vasodilatación por menor biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), estimulación de la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales y musculares lisas y aumento de la apoptosis de células endoteliales¹⁰.

La IL-6, también una citoquina pleiotrópica, producida por numerosas células del sistema inmune, tejido adiposo omental y subcutáneo. Sus niveles se relacionan con el índice de masa corporal (IMC) y la RI. La IL-6 es la principal reguladora de la respuesta inflamatoria aguda y tiene un papel crítico en la inflamación crónica estimulando la síntesis de Proteína C Reactiva (PCR)^{11,12}.

Elevaciones leves de PCR pueden ocurrir crónicamente, proporcionando un indicador relativamente estable de inflamación de bajo grado durante meses o años^{13,14}. Varios estudios mostraron que IMC y la distribución de la grasa corporal tienen una fuerte influencia sobre los niveles séricos de PCR^{15,16}.

La MCP-1 y sus receptores son cruciales en el desarrollo de la respuesta inflamatoria y en el reclutamiento de células inmunes a los sitios de inflamación. Niveles elevados de MCP-1 se han asociado a aterosclerosis y a las complicaciones vasculares de la obesidad¹⁷. Por otra parte, el ligando CD40 (CD40L) es una glicoproteína, miembro de la superfamilia de los TNF, que se une a su receptor CD40 en la superficie de las células. Tanto el CD40L como su receptor, se expresan en plaquetas, linfocitos y en una gran variedad de células. El sistema CD40/CD40L está implicado en la fisiopatología de enfermedades inflamatorias crónicas incluyendo la aterosclerosis y la trombosis^{18,19}.

Las investigaciones sobre estas moléculas en niños obesos latinoamericanos son limitadas²⁰. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue investigar en una población de niños obesos la presencia de un estado proinflamatorio, mediante las determinaciones de los niveles séricos de TNF- α , IL-6, MCP-1, sCD40L y PCR-us y analizar la correlación de estas moléculas con variables antropométricas y metabólicas.

Pacientes y Método

Población estudiada

En este trabajo, observacional, analítico y de corte transversal, se incluyeron 37 niños de 8 a 12 años (18 varones/19 mujeres), que consultaron por sobrepeso u obesidad al Servicio de Endocrinología del Hospital del Niño Jesús de Tucumán durante el periodo 2013-2015. Fueron comparados con un grupo constituido por 20 individuos sanos (12 varones), de sexo y edades semejantes, eutróficos, provenientes de una escuela pública de esta ciudad. Se excluyeron niños de ambos grupos, que al momento del estudio presentaban enfermedades infecciosas, inflamatorias, endocrinológicas y tratamiento con antiinflamatorios. Un valor de PCR sérica convencional mayor o igual a 6 mg/L, se utilizó para descartar inflamación aguda.

Para la realización de este trabajo se contó con la aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Tucumán y con la firma de los consentimientos informados por los padres y/o tutores de los pacientes.

Medidas antropométricas y estadio puberal

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica consignando edad, peso, talla, IMC, circunferencia de cintura (CC), estadios de Tanner y antecedentes familiares. El peso se midió con una balanza de palanca, con ropa liviana y sin calzado. La talla se midió en un altímetro sin calzado, con los talones juntos, los hom-

bros relajados, ambos brazos a los costados del cuerpo. El IMC se calculó con la fórmula Quetelet (peso/talla²). Se definió como peso normal al IMC entre los p^o 15 y 84; sobrepeso, entre los p^o 85 y 97 y obesidad: p^o > 97 para edad y sexo. Para calcular los percentiles se utilizaron las tablas de referencias recomendadas por la Organización Mundial de la Salud en 2007²¹. La CC se midió a la altura del ombligo, con una cinta métrica no distensible y se consideró obesidad abdominal a una CC ≥ al p^o 90 para edad y sexo, según la tabla percentilar de Fernández y cols.²².

El estadio puberal de niños y adolescentes fue determinado por el médico endocrinólogo, según los caracteres sexuales primarios y secundarios de acuerdo a los estándares de Tanner. Se consideró prepúberes a los niños con estadio de Tanner 1 y púberes a los de Tanner 2 al 5^{23,24}.

También se averiguó la presencia de antecedentes familiares de obesidad, diabetes y/o enfermedad cardiovascular en la entrevista realizada a padres o tutores al momento de la consulta.

Determinaciones bioquímicas

Luego de un ayuno de 12 h se extrajo una muestra de sangre y en el suero se determinaron los niveles séricos de TNF- α , IL-6, MCP-1 (método ELISA, R&D Systems, EE. UU.), sCD40L (método ELISA, PeproTech, EE. UU.) y PCR ultrasensible (PCR-us, método quimioluminiscencia, Immunolite 2000, Siemens), glucemia en ayunas (método colorimétrico Wiener Lab, Argentina), insulina plasmática (método ECLIA, Roche) y el perfil lipídico (método colorimétrico Wiener Lab, Argentina). Se calculó el índice HOMA con la fórmula de Matthews y se consideró RI al p^o ≥ 90 del HOMA-I, según sexo y estadio de Tanner, empleando la tabla percentilar de García Cuartero²⁵.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa SPSS 20. Para determinar la distribución de las variables cuantitativas se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizó los tests de Mann-Whitney y Chi-cuadrado para comparar los grupos y el coeficiente de Spearman para investigar las correlaciones entre las variables estudiadas. Los datos se expresaron como mediana y rango intercuartil y un valor de $p < 0,05$ se consideró significativo.

Resultados

La tabla 1 muestra las características clínicas y metabólicas de los niños estudiados. Los niños obesos tuvieron valores significativamente más elevados de IMC, CC, insulina, HOMA y Triglicéridos con espec-

Tabla 1. Características clínicas y metabólicas de los grupos estudiados

	Controles	Obesos	p
n	20	37	---
Sexo (Varón/Mujer)	12/8	18/19	0,53*
Prepúberes/Púberes	8/12	18/19	0,73*
Edad (años)	10 (9 -12)	10 (8-12)	0,81
IMC (kg/m ²)	18,6 (17,8-19,9)	28,0 (26,2-30,9)	0,0001
CC (cm)	67 (59-79)	93 (86-103)	0,0001
Glucemia (mg/dl)	78 (69-83)	75 (68-84)	0,72
Insulina (uUI/ml)	5,5 (4,2-9,0)	18,2 (12,9-30,5)	0,0001
HOMA	1,2 (0,87-2,0)	3,3 (2,4-6,2)	0,001
Colesterol (mg/dl)	160 (134-177)	165 (143-196)	0,38
Colesterol HDL (mg/dl)	40 (35-48)	40 (35-44)	0,63
Colesterol LDL (mg/dl)	94 (73-131)	109 (76-138)	0,60
Triglicéridos (mg/dl)	69 (61-84)	96 (77-153)	0,01

Se utilizaron los tests de Chi-cuadrado (*) y Mann-Whitney. Los datos se expresaron como mediana y rango intercuartil. Se consideró significativo un $p < 0,05$. IMC: Índice de Masa Corporal; CC: perímetro craneano.

to al grupo control. Sin embargo, no se encontraron diferencias en los niveles de glucemia, colesterol, HDL y LDL colesterol. La obesidad abdominal estuvo presente en el 100% de los niños obesos.

Del análisis de los antecedentes familiares de los niños obesos estudiados, se evidenció que el 71% (n = 26) presentaba antecedentes de obesidad, diabetes e hipertensión arterial, siendo la diabetes la más frecuente, sola o combinada con obesidad o hipertensión arterial (51%, n = 19).

Los niños obesos presentaron valores significativamente mayores de TNF- α , IL-6, MCP-1, sCD40L y PCR-us que sus pares con normopeso (Tabla 2). Entre varones y mujeres no se observaron diferencias en las moléculas estudiadas. Tampoco se encontró diferencias entre prepúberes y púberes.

El 67% (n = 25) de los niños obesos presentó RI. Al comparar a los obesos con y sin RI no hubo diferencias en las concentraciones de moléculas proinflamatorias.

Tanto el IMC como la CC se correlacionaron positivamente con las variables MCP-1, sCD40L, insulina e índice HOMA (Tabla 3).

Discusión

El papel de la inflamación crónica de bajo grado como un vínculo entre la obesidad y sus consecuencias cardiovasculares se ha demostrado de manera convincente en los últimos años²⁶. Las investigaciones realizadas en niños y adolescentes obesos han evidenciado anomalías vasculares como disminución de la reactividad vascular periférica, el incremento del espesor de la íntima-media de la arteria carótida, así como niveles elevados de moléculas de adhesión²⁷⁻²⁹.

En este trabajo se estudiaron los niveles séricos de moléculas proinflamatorias en una población infantojuvenil con obesidad. Los resultados mostraron que los niños obesos tuvieron valores significativamente mayores de TNF- α , IL-6, y PCR-us comparados con el grupo control. En coincidencia, otros autores informaron niveles elevados de TNF- α , IL-6 y PCR-us en obesos infantojuveniles^{30,31}. Diversos mecanismos explicarían estos resultados. Así, el TNF- α y la IL-6 promueven la lipólisis y la secreción de ácidos grasos libres, contribuyendo al aumento de la producción de glucosa hepática y a la RI. Ambas citoquinas provocan la diferenciación del adipocito y favorecen la inflamación, no solo en el tejido adiposo, sino también en las células endoteliales y hepáticas, estimulando la síntesis de PCR³².

También, los valores elevados de MCP-1 encontrados son concordantes con los reportados por otros investigadores^{20,33}. La MCP-1 ha sido estudiada en relación a enfermedades inflamatorias como diabetes y

obesidad. Así, la sobreexpresión del gen de MCP-1 estuvo elevada en tejido adiposo visceral y subcutáneo de pacientes obesos en comparación con los delgados³⁴. Más aun, la expresión de la MCP-1 fue mayor en la grasa omental que en la subcutánea en pacientes con obesidad severa³⁵.

Además, en este trabajo se observó en los niños obesos niveles mayores de sCD40L, comparados con los controles. La literatura informa valores elevados de esta molécula en adultos con síndrome coronario agudo, hipercolesterolemia, diabetes y obesidad^{36,37}, como también en niños con hipercolesterolemia y con diabetes tipo 1^{38,39}. No obstante, las investigaciones de este ligando en niños obesos son escasas y discordantes. Así, Byun y cols. encontraron valores menores de sCD40L en obesos respecto a los controles, en contraposición a nuestro trabajo⁴⁰. Sería necesario un estudio más profundo para dilucidar estas diferencias.

Por otra parte, el análisis de las correlaciones indica que la obesidad está asociada a inflamación subclínica y RI.

Tabla 2. Niveles de moléculas proinflamatorias en obesos y controles

	Controles	Obesos	p
TNF- α (pg/ml)	13,0 (11,5-14,7)	15,4 (13,2-24,0)	0,03
IL-6 (pg/ml)	0,6 (0,5-0,8)	1,0 (0,6-2,1)	0,02
MCP-1 (pg/ml)	95 (77-110)	170 (120-200)	0,001
sCD40L (pg/ml)	112 (90-126)	945 (758-1120)	0,0001
PCR-us (mg/l)	0,3 (0,2-0,8)	1,9 (0,8-3,1)	0,001

Se utilizó el test de Mann-Whitney. Los datos de expresaron como mediana y rango intercuartil. Se consideró significativo un p < 0,05. TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa. IL-6: Interleukina 6. MCP-1: Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1. sCD40L: Ligando CD40. PCR: Proteína C Reactiva.

Tabla 3. Correlaciones entre las variables estudiadas

	IMC		CC	
	r	p	r	p
MCP-1	0,42	0,003	0,41	0,007
sCD40L	0,47	0,001	0,52	0,001
TNF- α	0,36	0,17	0,34	0,25
IL-6	0,28	0,07	0,24	0,15
PCR-us	0,23	0,10	0,27	0,08
Insulina	0,64	0,0001	0,68	0,0001
HOMA	0,55	0,0001	0,61	0,0001

Se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman y se consideró significativo un p < 0,05. TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa. IL-6: Interleukina 6. MCP-1: Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1. sCD40L: Ligando CD40. PCR: Proteína C Reactiva.

Este estudio tiene algunas limitaciones, su diseño transversal solo permite establecer asociación, pero no causalidad. El tamaño de la muestra es relativamente pequeño y algunos resultados no alcanzaron o estuvieron al borde de la significación estadística, como la diferencia entre sexo y el grado de desarrollo puberal. Por lo tanto, se necesitan estudios en una población mayor, para una investigación más exhaustiva.

En conclusión, los niveles séricos elevados de TNF- α , IL-6, MCP-1, sCD40L y PCR-us sugieren la presencia de un estado proinflamatorio en la población de niños obesos estudiados. Estos datos proveen resultados preliminares para niños obesos argentinos, que deberán ser confirmados con posteriores investigaciones. La valoración precoz de estas moléculas es importante a fin de implementar conductas terapéuticas adecuadas para reducir el riesgo cardiovascular desde la infancia.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación hu-

mana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

A Wiener-Lab por la donación de reactivos empleados en la realización de este trabajo. Este estudio fue financiado en forma parcial por un subsidio otorgado por el Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT).

References

- Bereket A, Zeynep A. Current status of childhood obesity and its associated morbidities in Turkey. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2012;4(1):1-7.
- Piya M, McTernan P, Kumar S. Adipokine inflammation and insulin resistance: the role of glucose, lipids and endotoxin. *J Endocrinol* 2013;216(1):T1-T15.
- Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm* 2013;2013:139239. doi: 10.1155/2013/139239.
- Suganami T, Tanaka M, Ogawa Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. *Endocr J*. 2012;59(10):849-57.
- Gustafson B. Adipose tissue inflammation and atherosclerosis *J Atheroscler Thromb* 2010; 17:332-41.
- Martos-Moreno G, Kopchick J, Argente J. Adipokines in healthy and obese children. *An Pediatr (Barc)* 2013;78(3):189.e1-189.e15.
- Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hausner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1023-33.
- Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard J. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab* 2008;34(1):2-11.
- Gomes F, Telo DF, Souza HP, Nicolau JC, Halpern A, Serrano CV (Jr). Obesidad y enfermedad arterial coronaria: papel de la de la inflamación vascular. *Arq Bras Cardiol* 2010;94:260-69.
- Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin. Sci (Lond)* 2012;122:143-59.
- Stelzer I, Zelzer S, Raggam R, et al. Link between leptin and interleukin-6 levels in the initial phase of obesity related inflammation. *Transl Res*. 2012;159(2):118-24.
- Kwon H, Pessin J. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2013; 4:71. doi: 10.3389/fendo.2013.00071.
- Peisajovich A, Marnell L, Mold C, Du Clos T. C-reactive protein at the interface between innate immunity and inflammation. *Expert Rev Clin Immunol* 2008;4:379-90.
- Brooks G, Blaha M, Blumenthal R. Relation of C-reactive protein to abdominal adiposity. *Am J Cardiol* 2010;106(1):56-61.
- Ramírez Alvarado M, Sánchez Roitz C. Relación entre los niveles séricos de la proteína C reactiva y medidas antropométricas; una revisión sistemática de los estudios realizados en Suramérica. *Nutr Hosp* 2012;27(4):971-7.
- Panee J. Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine*. 2012; 60(1):1-12. doi: 10.1016/j.cyto.2012.06.018
- Antoniades C, Bakogiannis C, Tousoulis D, Antonopoulos A, Stefanadis C. The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(8):669-77.
- Unek I, Bayraktar F, Solmaz D, et al. The levels of soluble CD40 ligand and C-Reactive Protein in normal weight, overweight and obese people. *Clin Med Res*. 2010;8(2):89-95.
- Breslin WL, Johnston CA, Strohacker K, et al. Obese Mexican American children have elevated MCP-1, TNF- α , monocyte concentration, and dyslipidemia. *Pediatrics*. 2012;129(5): e1180-6.
- World Health Organization 2007. BMI-for-age (5-19 years) / http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/index.html.
- Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference

- percentiles in nationally representative samples of african-american, europeanamerican, and mexicanamerican children and adolescents. *J Pediatr* 2004;145:439-44.
23. Marshall WA, Tanner JM. Variations in patterns of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44:291-303.
 24. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in Boys. *Arch Dis Child* 1970;45(239):13-23.
 25. García Cuartero B, García Lacalle C, Jiménez Lobo C, et al. Índices HOMA y QUICKI, insulina y péptido C en niños sanos. Puntos de corte de riesgo cardiovascular. *An Pediatr (Barc)* 2007;66(5):481-90.
 26. Golia E, Limongelli G, Natale F, et al. Adipose tissue and vascular inflammation in coronary artery disease. *World J Cardiol.* 2014;6(7):539-54.
 27. Ozcetin M, Celikyay Z, Celik A, Yilmaz R, Yerli Y, Erkorkmaz U. The importance of carotid artery stiffness and increased intima-media thickness in obese children. *S Afr Med J.* 2012;102(5):295-9.
 28. Caballero A, Bousquets Santos K, Robles Sorio L, et al. Overweight Latino children and adolescents have marked endothelial dysfunction and subclinical vascular inflammation in association with excess body fat and insulin resistance. *Diabetes Care* 2008;31:576-82.
 29. Abregú A, Carrizo T, Díaz E, et al. Niveles elevados de e-Selectina soluble en una población infantojuvenil con sobrepeso. *Rev Argent Endocrinol Metab* 2012;49:119-23.
 30. Ghomari-Boukhatem H, Bouchouicha A, Mekki K, Chenni K, Belhadj M, Bouchenak M. Blood pressure, dyslipidemia and inflammatory factors are related to body mass index in scholar adolescents. *Arch Med Sci.* 2017;13(1):46-52.
 31. Yeste D, Vendrell J, Tomasini R, et al. Interleukin-6 in obese children and adolescents with and without glucose intolerance. *Diabetes Care* 2007;30:1892-4.
 32. Kwon H, Pessin J. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4:71. doi: 10.3389/fendo.2013.00071.
 33. Stoppa-Vaucher S, Dirlewanger M, Meier CA, et al. Inflammatory and prothrombotic states in obese children of European descent. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20(8):1662-8.
 34. Huber J, Kiefer F, Zeyda M, et al. CC chemokine and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(8):3215-21.
 35. Harman-Boehm I, Blüher M, Redel H, et al. Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations: effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:2240-7.
 36. Santini E, Madec S, Corretti V, Ferrannini E, Solini A. Effect of statins on soluble CD40 ligand in hypercholesterolemic type 2 diabetic patients. *J Endocrinol Invest* 2008;31:660-5.
 37. Unek I, Bayraktar F, Solmaz D, et al. The levels of soluble CD40 ligand and C-reactive protein in normal weight, overweight and obese people. *Clin Med Res.* 2010;8(2):89-95.
 38. Martino F, Pignatelli P, Martino E, et al. Early increase of oxidative stress and soluble CD40L in children with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(19):1974-81.
 39. El-Asrar M, Adly A, Ismail E. Soluble CD40L in children and adolescents with type 1 diabetes: relation to microvascular complications and glycemic control. *Pediatr Diabetes* 2012;13(8):616-24.
 40. Byun S, Kwon E, Kim Y. The relationship between serum adiponectin and inflammatory cytokines in obese Korean juveniles. *Korean J Pediatr.* 2014;57(12):533-7.