

Modulación de marcadores de inflamación y estrés oxidativo en pacientes con diabetes tipo 1 y sobrepeso que participan en un programa de cambio de estilo de vida

Alejandra Cicchitti P¹, Isabel Quesada², Jimena Cejas², Celina Bertona A¹, Joaquín González V¹, Walter Rosales R¹, Guillermo Esteves M¹, Gabriel Minuchín B¹, Martín Rodríguez G³ y Claudia Castro².

Modulation of Inflammatory and oxidative stress markers in overweight type 1 Diabetes patients participating in a lifestyle change program

Abstract: Introduction: Reduction in the expression of inflammatory markers and oxidative stress associated with exercise will protect against cardiovascular complications in Diabetes Mellitus (DM). Aim: The aim of this study was evaluated cardiovascular fitness (VO₂Max), interleukin-6 (IL-6), monocyte chemo-attractant protein 1 (MCP-1) and serum lipid peroxidation (TBARS) in overweight patients with Type-1 diabetes (T1DM) participating in a lifestyle-change program. Results: 20 T1DM overweight patients (43.3 ± 13.8 years), with BMI= 29.6 ± 3.5 kg/m², initial HbA1c 7.9 ± 0.91% and treated with multiple insulin injections, were included in this work. The lifestyle-change program consisted of: a) walking 10,000 steps/day, b) sequence of exercises of 24 minutes, 3-5 times/week, c) "healthy-plate" (and counting carbohydrates, and d) prandial insulin as blood-glucose levels. VO₂max, HbA1c, TBARS, IL6, MCP-1 were determined before starting the lifestyle-change program. Six months of adherence later, participants showed an average number of steps of 8242 ± 1834, a significant increase in VO₂max, (33.4 ± 1.3 vs 36.2 ± 1.5 ml.Kg⁻¹.min⁻¹ p= 0.008), a significant decrease in serum MCP-1 (314 ± 42 vs 235 ± 43 MFI p= 0.02), and less TBARS (3.01 ± 0.44 vs 2.12 ± 0.22 μmol/mL p= 0.015). IL-6 and HbA1c showed no significant decrease. Conclusion: Our results showed that a 6-month systemized and simple exercise plan improves cardiorespiratory fitness (VO₂max), and reduces both circulating oxidative stress and inflammation markers in overweight patients with T1DM.

Key Words: Diabetes; Exercise; Lipid Peroxidation; Inflammation.

Resumen: Introducción: La reducción en la expresión de marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo asociado con el ejercicio podría proteger contra las complicaciones cardiovasculares de la diabetes mellitus (DM). Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar en pacientes con DM tipo1 (DMT1) y sobrepeso, la capacidad cardiorespiratoria (VO₂Max), la expresión sérica de marcadores inflamatorios (IL-6 y MCP-1) y la peroxidación lipídica sérica (TBARS), luego de participar por 6 meses de un programa de cambios de estilo de vida. Resultados: Veinte pacientes adultos (43.3 ± 13.8 años), de ambos sexos, con un Índice de Masa Corporal de 29.6 ± 3.5 kg/m², HbA1c inicial de 7,9% ± 0,91, en tratamiento con inyecciones múltiples de insulina participaron del estudio. Se indicó: 1) caminar 10.000 pasos/día, 2) realizar en domicilio una secuencia de ejercicios de 20 minutos, 3-5 veces/semana, 3) plato saludable (consumo de 1 fruta antes de las 3 comidas principales), 4) Insulina prandial según glucemia y conteo de carbohidratos. Se registraron parámetros antropométricos, presión arterial, se determinó VO₂max, y se midieron los niveles séricos de HbA1c, IL6, MCP-1 y TBARS. Luego de seis meses, los participantes alcanzaron un número promedio de pasos de 8242 ± 1834 y mostraron un aumento

1. Hospital Universitario, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina.
2. Área de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas-Universidad Nacional de Cuyo y Laboratorio de Biología Vascular, IMBECU-CONICET. Mendoza, Argentina
3. Instituto de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición, Facultad de Ciencias Médicas- Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina.

Correspondencia:

Claudia Castro
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo.
Avda. Libertador 80, 5500 Mendoza, Argentina
Teléfono: 54 261 4135000 ext 2721
Correo: ccastro@fcm.uncu.edu.ar

Recibido: 26-06-2018
Aceptado: 05-08-2018

Artículo Original

significativo en VO_2max , (33.4 ± 1.3 vs 36.2 ± 1.5 ml.Kg⁻¹.min⁻¹ $p= 0.008$). Además, se encontró una disminución significativa de MCP-1 (314 ± 42 vs 235 ± 43 MFI $p= 0.02$) y TBARs (3.01 ± 0.44 vs 2.12 ± 0.22 μ mol/mL $p= 0.015$) en comparación con el día 0. No se observaron modificaciones en los niveles de IL-6 y HbA1c. Conclusión: Nuestros resultados demuestran que el ejercicio, implementado como un plan accesible y acompañado, es adecuado para reducir los riesgos de inflamación y estado pro-oxidativo en pacientes con DM tipo 1.

Palabras Clave: Diabetes; Ejercicio; Inflamación; Estrés Oxidativo.

Introducción

La diabetes mellitus (DM) está estrechamente relacionada con las enfermedades cardiovasculares (ECV) y los pacientes con DM tipo 1 (DMT1) tienen mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares en comparación con la población sana². La hiperglucemia, el estrés oxidativo y la inflamación son factores claves que contribuyen a la ECV, que a su vez es más frecuente y ocurre más temprano en pacientes con diabetes que en individuos con normoglucemia^{3,4}. La diabetes y el sobrepeso están asociados con la inflamación sistémica persistente⁵⁻⁸ y, contrariamente a lo que ocurría con anterioridad, la prevalencia de sobrepeso en pacientes con DMT1 es ahora similar a la de la población general⁹. La obesidad aumenta el riesgo de comorbilidades en personas con DMT1, especialmente las enfermedades micro y macrovasculares⁸. Por lo tanto, son necesarias estrategias para lograr el control de peso en pacientes con DMT1.

La inflamación es mayor en pacientes con DM que en pacientes sin diabetes y, en particular, en individuos con DMT1¹⁰. Estudios recientes muestran elevaciones de proteína C reactiva (PCR) en niños con diagnóstico reciente de DMT1¹¹ y un aumento significativo en los niveles de diferentes citoquinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α , GM-CSF) en pacientes jóvenes con DMT1¹². El papel del estrés oxidativo y la inflamación en la progresión de las complicaciones vasculares de la DM está bien establecido, y los mecanismos por los cuales la inflamación y el estrés oxidativo son mayores en personas con DMT1 se relacionan con la hiperglucemia, la hipoglucemia, la distribución alterada de la grasa y el aumento de adipocinas¹³⁻¹⁷.

El ejercicio regular reduce la resistencia a la insulina y el riesgo cardiovascular al interferir con los mecanismos fisiopatológicos de la ECV a diferentes niveles. El estudio LOOK AHEAD, demostró una reducción significativa de CRP en personas con DM después de un año de intervención en el estilo de vida¹⁸. Si bien el ejercicio produce una respuesta inflamatoria a corto plazo, con aumento del estrés oxidativo y mayores niveles de PCR, esta breve respuesta proinflamatoria es seguida por un efecto antiinflamatorio a largo plazo¹⁹. No hay duda de que el ejercicio es necesario o, al menos, cumple un propósito funcional inmediato, pero el inconveniente central de realizar ejercicio es la mala adherencia, lo cual constituye uno de los comportamientos humanos más problemáticos^{20,21,22}.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad cardiorespiratoria (VO_2max), los niveles séricos de interleuquina

6 (IL-6), proteína quimioattractiva-1 de monocitos (MCP-1) y peroxidación lipídica (TBARS), en pacientes con DMT1 y sobrepeso antes y después de 6 meses de participar en un programa de cambio de estilo de vida, que incluía un plan de ejercicio simple.

Sujetos, Material y Métodos

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los estándares éticos del comité responsable de experimentación humana (Comité de Ética e Investigación del Hospital Universitario) y con la Declaración de Helsinki de 1964, revisada en 2013. Los pacientes que aceptaron participar en el estudio asisten al Hospital Universitario de Mendoza, Argentina y todos firmaron un consentimiento. Veinte pacientes adultos con DMT1, con un índice de masa corporal (IMC) > 25 kg/m², con múltiples inyecciones diarias de insulina participaron en el programa. Se excluyeron los pacientes con hipertensión no controlada (>160/100 mmHg), insuficiencia cardíaca, neuropatía diabética grave o retinopatía diabética que requieren tratamiento. En una visita inicial, se registró una evaluación clínica completa, medición de peso y altura con ropa ligera y sin calzado, circunferencia de la cintura a nivel del ombligo y mediciones de la presión arterial.

Programa de cambio de estilo de vida (LSCP)

Los participantes fueron invitados a participar en un simple LSCP, que consistió en: 1) caminar 10,000 pasos por día (cada participante recibió un podómetro) y realizar una serie de ejercicios aeróbicos y de fuerza, sin supervisión en el hogar, durante aproximadamente 20 minutos, 3-5 veces / semana. 2) El consumo de 1 fruta antes de las 3 comidas principales y un plato saludable que consiste en la mitad del plato con vegetales, un cuarto del plato con proteínas y un cuarto con carbohidratos, sugerido según la recomendación de la Asociación Americana de Diabetes (ADA). 3) Uso de insulina basal y ajuste de insulina prandial según glucemia y conteo de hidratos de carbono.

Se programaron visitas mensuales para el ajuste de la dosis y para el control clínico.

Medida de la capacidad cardiorespiratoria (VO_2max)

La VO_2max expresa el consumo de O_2 al máximo esfuerzo. En una visita inicial, VO_2 se estimó mediante Prueba de Step Test del American College Sport Medicine (ACSM) según

Heydari et al²³. Después de 6 meses, la estimación se realizó nuevamente.

Determinaciones bioquímicas

Se tomaron muestras de sangre (~10 ml) de la vena antecubital del brazo utilizando una aguja desechable de calibre 20 con un soporte Vacutainer, de los participantes sentados, después de 12 horas de ayuno. Se utilizó una alícuota de sangre completa para determinar la hemoglobina glucosilada (HbA1c), el resto se centrifugó sin anticoagulante a 3000 g durante 15 minutos, y el sobrenadante (suero) se separó en los volúmenes requeridos para cada determinación y se almacenó a -70°C hasta la realización de las determinaciones bioquímicas.

El día 0 y después de 6 meses de participar en el programa, la HbA1c se determinó mediante DCA 2000, IL-6 y MCP-1se determinaron mediante citometría de flujo utilizando el kit bead-flex de BD-Bioscience y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se midieron espectrofotométricamente (530 nm) después de la adición de ácido tiobarbitúrico como se describió previamente²⁴.

Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron utilizando GraphPad Prism versión 6.0 (GraphPad Software, CA, EE. UU) y el paquete estadístico SPSS (Versión 20.0; SPSS, Chicago, IL). Se utilizó prueba t de Student para comparar grupos con variables continuas, y la prueba de rango con signo de Wilcoxon se usó como una prueba estadística no paramétrica, cuando se compararon dos muestras relacionadas, independientemente de si los rangos de la media poblacional eran diferentes o no. El valor de p menor que 0.05 se consideró significativo.

Resultados

Las características de los pacientes antes y después de participar en este estudio se presentan en la Tabla 1. Después

de 6 meses de iniciación del programa LSPC, los participantes alcanzaron un número promedio de pasos por mes de 8,242 ± 1,834 y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el peso (P= 0.83), circunferencia de la cintura (P= 0.61) y HbA1c (7.9% ± 0.9, vs 7.6% ± 0.8). Es sabido que la actividad física regular aumenta el consumo máximo de oxígeno y posteriormente, aumenta la condición física. En este estudio la capacidad cardiorrespiratoria (VO_{max}) mostró una mejora significativa después de 6 meses de adherencia al LSCP en todos los participantes (Figura 1).

Dado que el ejercicio físico es un importante modulador de citoquinas y quimiocinas, se determinaron marcadores inflamatorios, antes y después de los 6 meses de adherencia al programa. Se encontró que, comparado con el estado basal, el nivel de proteína quimiotáctica de monocitos soluble (MCP-1) disminuía significativamente (P<0.05), mientras que no se observó una variación estadísticamente significativa en los niveles de IL-6 (Figura 2).

Con el fin de determinar el estrés oxidativo circulante en los participantes del estudio, se midieron los TBARS en suero, y se encontró que la peroxidación de lípidos disminuía significativamente después de 6 meses de adherencia al programa (P<0,01)(Figura 3).

El ejercicio mejora el rendimiento y los parámetros bioquímicos en promedio, sin embargo, este estudio mostró una variabilidad interindividual. Cuando se examinó el cambio de peso en la semana 24, los participantes pudieron clasificarse en dos grupos (respondedores y no respondedores) en función de su cambio de peso calculado, según lo descrito por King y col⁴. Los pacientes “no respondedores” (n= 9) disminuyeron ≤ 1 kg o aumentaron de peso en comparación con los participantes restantes (“respondedores”, n= 11) que disminuyeron ≥1 kg. Comparando ambos grupos, aparecieron respuestas similares, con la excepción del grupo de respondedores que muestra una mayor disminución tanto en MCP-1 como en TBARS y un mayor aumento en VO₂max (Figura 4).

Tabla 1: Características clínicas, antropométricas y metabólicas de los participantes del estudio antes y después de los 6 meses de participar en el programa.

| | Antes (n= 20) | Después (n= 20) | Pvalue |
|--|------------------|--------------------|--------|
| Años de edad | 43.3 ± 13.8 | | |
| Duración de la enfermedad (años) | 20.5 ± 11.5 | | |
| Género | 11♂ / 9♀ | | |
| Peso (kg) | 85.5 ± 2.7 | 84.6 ± 2.8 | 0.83 |
| Índice de masa corporal (kg/m ²) | 29.6 ± 0.8 | 29.3 ± 0.8 | 0.77 |
| Circunferencia de la cintura (cm) | 100.4 ± 2.1 | 98.78 ± 2.3 | 0.62 |
| Hba1c (%) | 7.9 ± 0.9 | 7.6 ± 0.8 | 0.33 |
| PA sistólica (mm HG) | 127.0 ± 2.4 | 124.8 ± 2.67 | 0.54 |
| PA diastólica (mm HG) | 76.0 ± 1.9 | 78.1 ± 1.9 | 0.43 |
| Hipertensión | 3 / 20 | 3 / 20 | |
| Medicación antihipertensiva | 9 / 20 | 9 / 20 | |

Artículo Original

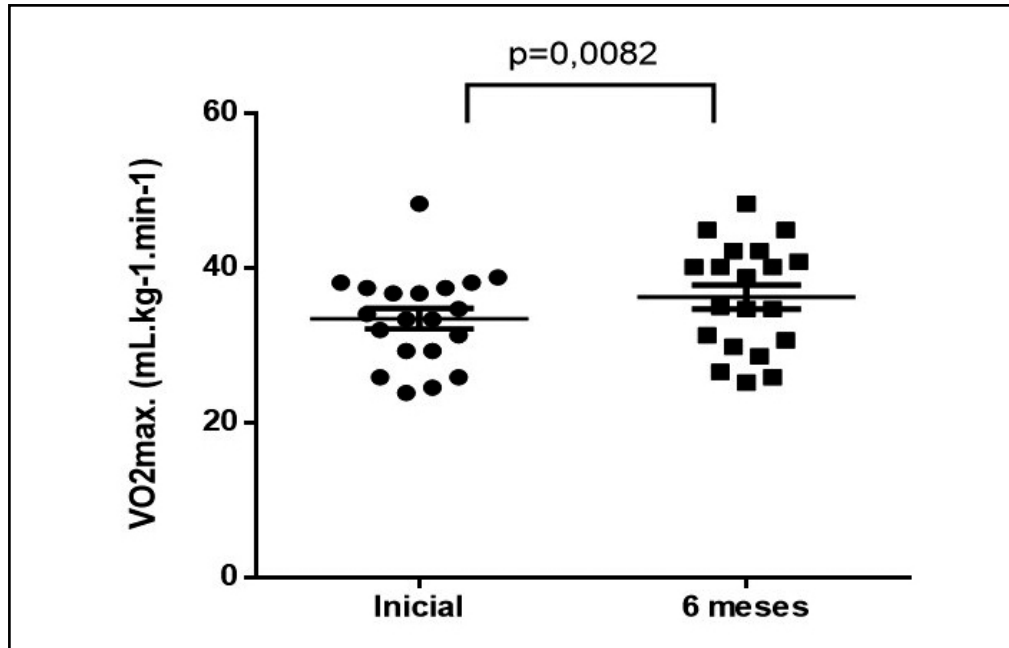


Figura 1. Evaluación del consumo máximo de oxígeno (VO₂Máx) estimado por Step Test del American College of Sport Medicine. Los datos representan Promedio ± SEM. Las diferencias entre el día cero y después de 6 meses de adherencia al programa de cambios de estilo de vida se calcularon utilizando la prueba t de Student y Wilcoxon. P < 0.01 versus basal.

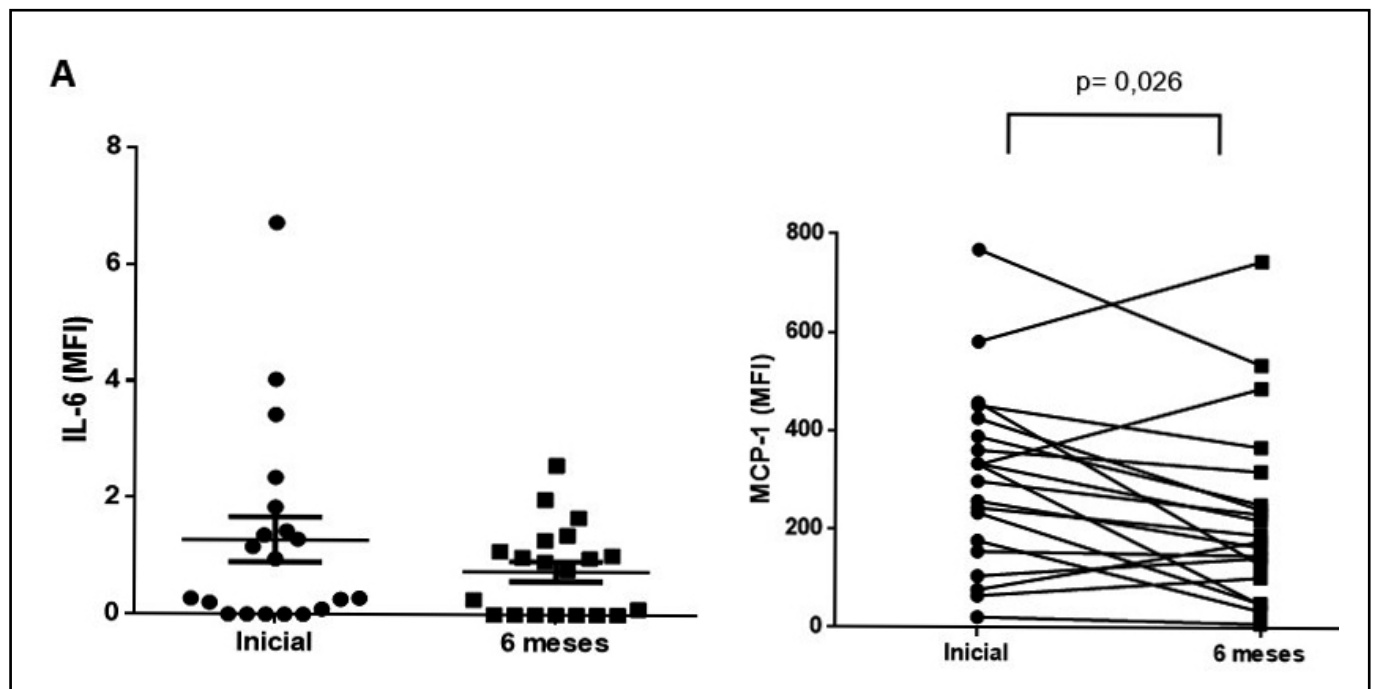


Figura 2. Determinación de los niveles séricos de A) Interleuquina-6 (IL-6); y B) proteína quimiotáctica de monocito-1 (MCP-1) en pacientes con DMT1 y sobrepeso. Los datos representan el promedio ± SEM de la intensidad de fluorescencia media (IMF). Las diferencias entre el día cero y después de 6 meses de adherencia al programa de cambios de estilo de vida se calcularon usando una prueba t de Student y Wilcoxon. P < 0.05 versus basal.

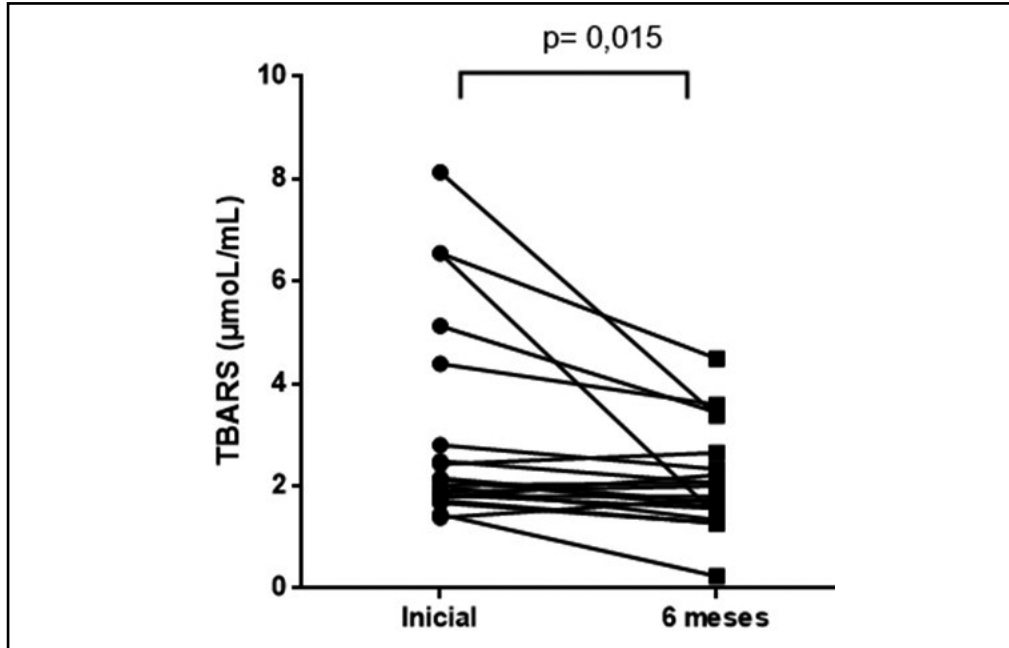


Figura 3. Determinación de los niveles plasmáticos de TBARS en pacientes con DMT1 y sobrepeso. La peroxidación lipídica se determinó mediante la cuantificación de productos reactivos con ácido tiobarbitúrico (TBARS). Los datos representan Promedio ± SEM. Las diferencias entre el día cero y después de 6 meses de adherencia al programa de cambios de estilo de vida se calcularon usando una prueba t de Student y Wilcoxon. $P < 0.02$ versus basal

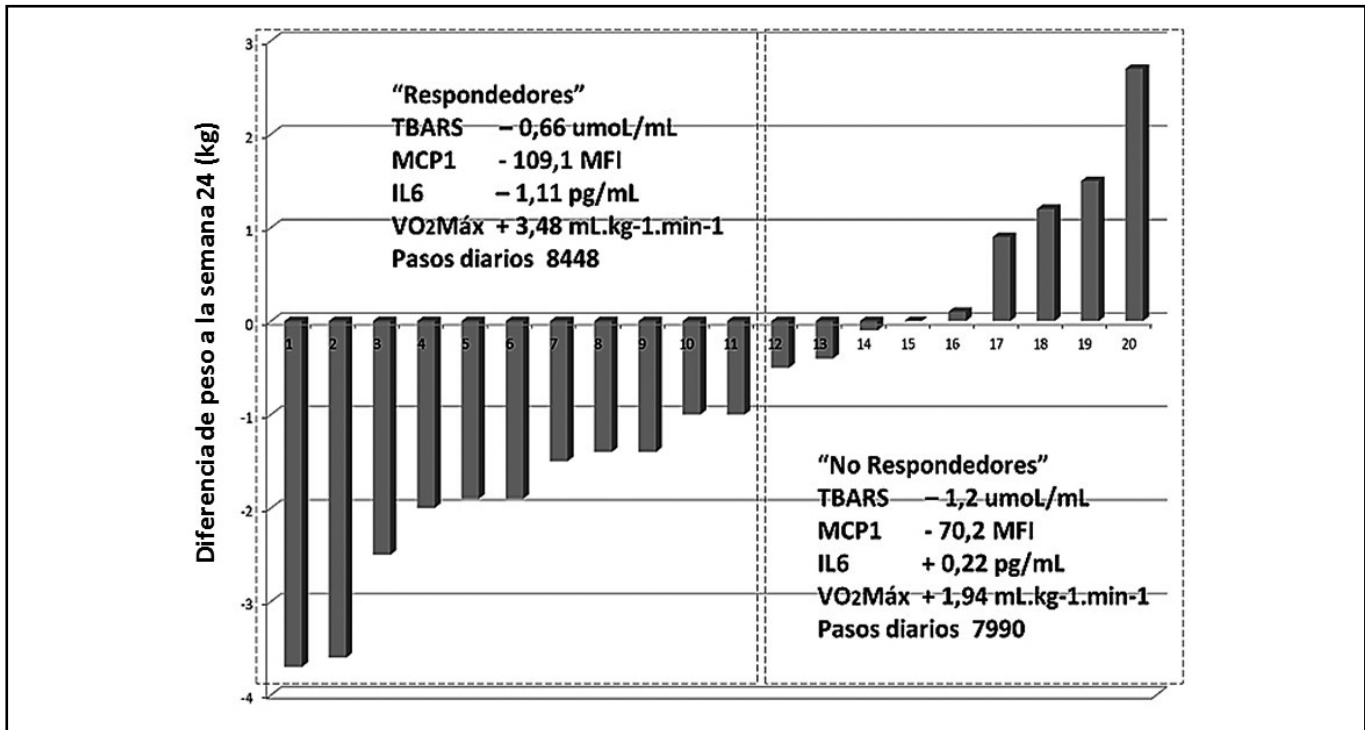


Figura 4. Evaluación de la respuesta al Programa de Cambios en el Estilo de Vida de acuerdo con los cambios en el peso corporal (kg) después de 24 semanas. Los insertos muestran los cambios en la peroxidación de lípidos (TBARS); marcadores inflamatorios (MCP-1 e IL-6) y VO₂max después de 24 semanas de ejercicio supervisado en respondedores (n= 11) y no respondedores (n= 9).

Artículo Original

Discusión

El presente estudio evaluó los efectos de un plan de cambio de estilo de vida simple en pacientes con DMT1 y sobrepeso. Como la obesidad y la diabetes se asocian con un aumento de la inflamación y el estrés oxidativo²⁵, el estudio se centró en examinar los marcadores inflamatorios y la peroxidación lipídica sérica. El estudio EURODIAB mostró una asociación inversa en pacientes con DMT1 entre la mortalidad por todas las causas y la actividad física en ambos sexos²⁶. Un estudio transversal con 18.028 adultos con DMT1 mostró una asociación inversa entre actividad física y HbA1c, microalbuminuria y retinopatía, y el grupo con mayor actividad física mostró un mejor perfil de factores de riesgo (presión arterial, lípidos, IMC)²⁷. Los estudios epidemiológicos han demostrado que cada 3,5 ml/Kg⁻¹/min-1 de aumento en el VO₂max, expresado como el consumo de O₂ al máximo esfuerzo, se alcanza una reducción del 23% en la mortalidad por todas las causas en las poblaciones con DM²⁸. En este estudio, después de 6 meses de adherencia al programa, la aptitud cardiorrespiratoria medida por la captación máxima de oxígeno (VO₂max) aumentó en todos los participantes.

En las enfermedades crónicas como la DM, las respuestas agudas y crónicas al ejercicio muestran diferentes respuestas inflamatorias, exageradas después del ejercicio agudo y una respuesta antiinflamatoria menos crónica²⁹. Aunque la ADA considera la inflamación como uno de los principales determinantes de ECV en personas con DMT1, con igual magnitud al tabaquismo, menor magnitud con hipertensión, microalbuminuria y control glucémico, pero de mayor magnitud al colesterol LDL y al bajo HDL-colesterol³⁰, la escasa información sobre el impacto del ejercicio regular sobre la inflamación es sorprendente.

Se ha informado que la IL-6 en plasma aumenta con el ejercicio moderado agudo y tiende a descender por debajo del valor inicial con ejercicio moderado regular, lo que indica que el ejercicio moderado regular tiene efectos beneficiosos⁽³¹⁾. Aquí, los niveles plasmáticos de IL-6 disminuyeron levemente y la expresión circulante de MCP-1 se redujo significativamente después de 6 meses de ejercicio. MCP-1 participa en la patogénesis de varias enfermedades caracterizadas por el infiltrado de monocitos como la psoriasis, la artritis reumatoide y la aterosclerosis³². La MCP-1 disminuye significativamente las señales de captación de glucosa por parte del músculo, lo que le confiere un papel importante además de su participación en la inflamación³³. Nuestros resultados pueden re- enfatizar el papel prominente de la quimiocina en el control de las complicaciones asociadas a la DMT1.

Existen cada vez más pruebas de que el exceso de generación de especies reactivas del oxígeno, en gran parte debido a la hiperglucemia, causa estrés oxidativo en diferentes tejidos³⁴. El estrés oxidativo es el resultado de un aumento en la producción de radicales libres, una disminución de las defensas antioxidantes endógenas, o ambas, que conduce al daño oxidativo de las macromoléculas celulares, como los lípidos, las proteínas y el ADN³⁵. Esta reportado que el aumento de la peroxidación lipídica en DMT1 disminuye como resultado del

tratamiento intensivo con insulina³⁶. En este estudio, después de 6 meses de un programa de cambio de estilo de vida no complejo, los pacientes con DMT1 mostraron una disminución de los TBARS séricos en comparación con el valor inicial, lo que sugiere un efecto beneficioso de disminución de la peroxidación debido al cumplimiento del programa.

El ejercicio se promueve generalmente como un método de control de peso, pero se pueden lograr beneficios significativos para la salud incluso cuando la pérdida de peso inducida por el ejercicio es menor a la esperada. King y col. informaron que de 58 sujetos con DMT2 que participaron en un programa de ejercicios, 26 no perdieron peso o incluso aumentaron de peso. Estos 26 sujetos «no respondedores» también mostraron cambios favorables significativos en el VO₂max, la circunferencia de la cintura y la presión arterial²⁶.

Del mismo modo en nuestro estudio, los participantes que no perdieron peso también mostraron beneficios en VO₂max, MCP1 y TBARS. Debería ser conveniente considerar los beneficios del ejercicio no solo por la pérdida de peso corporal sino también por la mejoría de otros marcadores.

En conclusión, los pacientes con DMT1 se benefician de un programa de ejercicios simple y acompañado que los ayuda a mejorar la capacidad cardiorrespiratoria (VO₂max) y a reducir los marcadores de inflamación y la peroxidación lipídica. Además, estas mejoras pueden ocurrir independientemente de las mejoras en la glucemia, y por lo tanto, tener una glucemia bien controlada y ser sedentario no es suficiente para prevenir complicaciones/comorbilidades en pacientes con DMT1.

Agradecimientos y fuentes de financiamiento

Este trabajo ha sido financiado a través de los subsidios otorgados (2013-2015) por la Secretaria de Ciencia, Tecnología y Postgrado, de la Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

Referencias

1. Vaidya V, Gangan N, Sheehan J: *Impact of cardiovascular complications among patients with Type 2 diabetes mellitus: a systematic review. Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research* 2015; 15(3): 487-497.
2. Huxley RR, Peters SA, Mishra GD, Woodward M: *Risk of all-cause mortality and vascular events in women versus men with type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. The lancet Diabetes & endocrinology* 2015; 3(3): 198-206.
3. Berezin A: *Metabolic memory phenomenon in diabetes mellitus: Achieving and perspectives. Diabetes & metabolic syndrome* 2016; 10(2 Suppl 1): S176-183.
4. de Ferranti SD, de Boer IH, Fonseca V, Fox CS, Golden SH, Lavie CJ, Magge SN, Marx N, McGuire DK, Orchard TJ et al. *Type 1 diabetes mellitus and cardiovascular disease: A scientific statement from the American Heart Association and American Diabetes Association. Circulation* 2014; 130(13): 1110-1130.
5. Kolb H, Mandrup-Poulsen T. *The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. Diabetologia* 2010; 53(1): 10-20.
6. Chillaron JJ, Benaiges D, Mane L, Pedro-Botet J, Flores Le-Roux JA. *Obesity and type 1 diabetes mellitus management. Minerva endocrinologica* 2015; 40(1): 53-60.
7. Conway B, Miller RG, Costacou T, Fried L, Kelsey S, Evans RW, Orchard TJ. *Temporal patterns in overweight and obesity in Type 1 diabetes. Diabet Med* 2010; 27(4): 398-404.
8. Polisky S, Ellis SL. *Obesity, insulin resistance, and type 1 diabetes mellitus.*

- Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity 2015; 22(4): 277-282.
9. Pinhas-Hamiel O, Levek-Motola N, Kaidar K, Boyko V, Tisch E, Mazor-Aronovitch K, Graf-Barel C, Landau Z, Lerner-Geva L, Frumkin Ben-David R. Prevalence of overweight, obesity and metabolic syndrome components in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2015; 31(1): 76-84.
 10. Moreno PR, Murcia AM, Palacios IF, Leon MN, Bernardi VH, Fuster V, Fallon JT. Coronary composition and macrophage infiltration in atherectomy specimens from patients with diabetes mellitus. *Circulation* 2000; 102(18): 2180-2184.
 11. Hamad A, Qureshi HJ, Roohi N. Assessment of C-reactive proteins in recently diagnosed type-1 diabetic children as a risk marker of early atherosclerosis. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad. JAMC* 2014; 26(4): 434-436.
 12. Aravindhan V, Mohan V, Arunkumar N, Sandhya S, Babu S. Chronic Endotoxemia in Subjects with Type-1 Diabetes Is Seen Much before the Onset of Microvascular Complications. *PLoS one* 2015; 10(9): e0137618.
 13. Boizel R, Bruttman G, Benhamou PY, Halimi S, Stanke-Labesque F. Regulation of oxidative stress and inflammation by glycaemic control: evidence for reversible activation of the 5-lipoxygenase pathway in type 1, but not in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2010; 53(9): 2068-2070.
 14. Ceriello A, Novials A, Ortega E, Canivell S, La Sala L, Pujadas G, Esposito K, Giugliano D, Genovese S. Glucagon-like peptide 1 reduces endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress induced by both hyperglycemia and hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes care* 2013; 36(8): 2346-2350.
 15. Das P, Biswas S, Mukherjee S, Bandyopadhyay SK. Association of Oxidative Stress and Obesity with Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus. *Mymensingh Med J* 2016; 25(1): 148-152.
 16. Domingueti CP, Dusse LM, Carvalho M, de Sousa LP, Gomes KB, Fernandes AP. Diabetes mellitus. The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *J Diabetes Complications* 2016; 30(4): 738-745.
 17. Tran B, Oliver S, Rosa J, Galassetti P. Aspects of inflammation and oxidative stress in pediatric obesity and type 1 diabetes: an overview of ten years of studies. *Experimental diabetes research* 2012; 2012: 683-680.
 18. Belalcazar LM, Reboussin DM, Haffner SM, Hoogeveen RC, Kriska AM, Schwenke DC, Tracy RP, Pi-Sunyer FX, Ballantyne CM, Look ARG. A 1-year lifestyle intervention for weight loss in individuals with type 2 diabetes reduces high C-reactive protein levels and identifies metabolic predictors of change: From the Look AHEAD (Action for Health in Diabetes) study. *Diabetes care* 2010; 33(11): 2297-2303.
 19. Kasapis C, Thompson PD. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: A systematic review. *Journal of the American College of Cardiology* 2005; 45(10): 1563-1569.
 20. Carpenter R, Gilleland D. Impact of an exercise program on adherence and fitness indicators. *Appl Nurs Res* 2016; 30: 184-186.
 21. Lee HH, Emerson JA, Williams DM. The Exercise-Affect-Adherence Pathway: An Evolutionary Perspective. *Front Psychol* 2016; 7: 1285.
 22. Morgan F, Battersby A, Weightman AL, Searchfield L, Turley R, Morgan H, Jagroo J, Ellis S. Adherence to exercise referral schemes by participants - what do providers and commissioners need to know? A systematic review of barriers and facilitators. *BMC Public Health* 2016; 16: 227.
 23. Heydari P, Varmazyar S, Nikpey A, Variani AS, Jafarvand M. Step Test: A method for evaluating maximum oxygen consumption to determine the ability kind of work among students of medical emergencies. *Electronic physician* 2017; 9(3): 4020-4026.
 24. Theodorou AA, Nikolaidis MG, Paschalis V, Sakellariou GK, Fatouros IG, Koutedakis Y, Jamurtas AZ. Comparison between glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient and normal individuals after eccentric exercise. *Medicine and science in sports and exercise* 2010; 42(6): 1113-1121.
 25. Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. The cytokine response to physical activity and training. *Sports medicine* 2001; 31(2): 115-144.
 26. King NA, Hopkins M, Caudwell P, Stubbs RJ, Blundell JE. Beneficial effects of exercise: shifting the focus from body weight to other markers of health. *Br J Sports Med* 2009; 43(12): 924-927.
 27. Tielemans SM, Soedamah-Muthu SS, De Neve M, Toeller M, Chaturvedi N, Fuller JH, Stamatakis E. Association of physical activity with all-cause mortality and incident and prevalent cardiovascular disease among patients with type 1 diabetes: The EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia* 2013; 56(1): 82-91.
 28. Bohn B, Herbst A, Pfeifer M, Krakow D, Zimny S, Kopp F, Melmer A, Steinaecker JM, Holl RW, Initiative DPV. Impact of Physical Activity on Glycemic Control and Prevalence of Cardiovascular Risk Factors in Adults With Type 1 Diabetes: A Cross-sectional Multicenter Study of 18,028 Patients. *Diabetes care* 2015; 38(8): 1536-1543.
 29. Wei M, Gibbons LW, Kampert JB, Nichaman MZ, Blair SN. Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 2000; 132(8): 605-611.
 30. Ploeger HE, Takken T, de Greef MH, Timmons BW. The effects of acute and chronic exercise on inflammatory markers in children and adults with a chronic inflammatory disease: A systematic review. *Exerc Immunol Rev* 2009; 15: 6-41.
 31. Ambarish V, Chandrashekar S, Suresh KP. Moderate regular exercises reduce inflammatory response for physical stress. *Indian journal of physiology and pharmacology* 2012; 56(1): 7-14.
 32. Xia M, Sui Z. Recent developments in CCR2 antagonists. *Expert Opin Ther Pat* 2009; 19(3): 295-303.
 33. Sell H, Dietze-Schroeder D, Kaiser U, Eckel J. Monocyte chemotactic protein-1 is a potential player in the negative cross-talk between adipose tissue and skeletal muscle. *Endocrinology* 2006; 147(5): 2458-2467.
 34. Fiorentino TV, Prioleta A, Zuo P, Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Current pharmaceutical design* 2013; 19(32): 5695-5703.
 35. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et biophysica acta* 2014; 1840(9): 2709-2729.
 36. Wang X, Tao L, Hai CX. Redox-regulating role of insulin: The essence of insulin effect. *Molecular and cellular endocrinology* 2012; 349(2): 111-127.