



Universitat Autònoma de Barcelona

**DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, D'OBSTETRÍCIA I GINECOLOGIA  
I DE MEDICINA PREVENTIVA**

Programa de Doctorado:

**Pediatría, Obstetrícia y Ginecología**

Tesis Doctoral:

**Niños obesos prepuberales: efecto de una intervención dietética y en el estilo de vida sobre las lipocalinas y el *brain-derived neurotrophic factor*. Estudio longitudinal de 2 años de duración.**

Doctoranda:

**Raquel Corripio Collado**

Directores:

**Dra. Assumpta Caixàs Pedragós**

**Dr. José Miguel González Clemente**

Tutor:

**Diego Yeste Fernández**

A mis padres, por su amor incondicional.

A Javi, mi talismán.

A Martina y Javier, los niños de mis ojos.

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	9
<b>ABREVIATURAS</b> .....	11
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	15
1. Definiendo obesidad en niños.....	15
2. Prevalencia de obesidad infantil.....	17
3. Origen de la obesidad .....	19
3.1 Genes .....	19
3.2 Regulación del apetito.....	20
3.3 Síndromes.....	23
3.4 Endocrinopatías.....	23
3.5 Lesiones del Sistema Nervioso Central .....	23
3.6 Fármacos .....	24
3.7 Ambiente .....	24
3.8 Entorno intrauterino .....	24
3.9 Factores psicosociales .....	25
3.10 Dieta y estilo de vida.....	25
4. Consecuencias de la obesidad infantil.....	26
4.1 Persistencia de la obesidad en la edad adulta.....	26
4.2 Comorbilidades .....	27
4.3 Síndrome metabólico .....	28
4.3.1 Definición de síndrome metabólico.....	28
4.3.2 Síndrome metabólico en niños .....	30
5. Inflamación y obesidad. Nuevos predictores del Síndrome Metabólico en niños: papel de las adipocitocinas .....	34
5.1 Citocinas inflamatorias .....	35
5.2 Proteínas de fase aguda .....	36
5.3 Citocinas proinflamatorias .....	37
5.4 Moléculas de adhesión .....	38
5.5 Adipocinas.....	38
5.5.1 Leptina.....	38

5.5.2 Adiponectina .....	39
5.5.3 Lipocalinas.....	40
5.5.3.1 <i>Retinol binding protein-4</i> (RBP-4) .....	40
5.5.3.2 Lipocalina-2 .....	43
5.5.3.3 <i>Adipocyte-fatty acid-binding protein</i> (A-FABP).....	45
5.5.4 Otras adipocinas .....	50
5.6 <i>Brain-derived neurotrophic factor</i> (BDNF).....	50
<b>HIPÓTESIS</b> .....	55
<b>OBJETIVOS</b> .....	57
<b>PACIENTES Y MÉTODOS</b> .....	59
1. Diseño del estudio .....	59
2. Casos. ....	59
3. Controles .....	59
4. Criterios exclusión .....	59
5. Reclutamiento. Consentimiento informado .....	60
6. Evaluación de los pacientes .....	60
6.1 Anamnesis .....	60
6.2 Medidas antropométricas y clínicas.....	64
6.3 Estudio bioquímico. Test de tolerancia oral a la glucosa: realización e interpretación.....	65
6.4 Definición de síndrome metabólico .....	66
6.5 Intervención y reevaluación.....	68
7. Análisis laboratorio .....	68
7.1 Estudio bioquímico .....	69
7.2 Estudio parámetros inflamatorios .....	69
8. Análisis estadístico .....	70
<b>RESULTADOS</b> .....	71
1. Comparación entre casos y controles .....	72
2. Correlaciones de lipocalinas y BDNF con parámetros del SM y grado de adiposidad.....	74
3. Prevalencia de Síndrome Metabólico .....	80

4. Riesgo cardiovascular: relación con el sexo, edad y grado de obesidad .....	90
5. Hábitos nutricionales y de actividad física .....	91
6. Evolución a los dos años de los pacientes obesos.....	97
<b>DISCUSIÓN</b> .....	107
1. Síndrome metabólico .....	107
2. Hábitos nutricionales y de actividad física .....	117
3. Citocinas .....	120
3.1 RBP-4 .....	120
3.2 Lipocalina-2 .....	123
3.3 A-FABP.....	125
3.4 BDNF .....	129
4. Aplicabilidad .....	132
5. Limitaciones .....	132
6. Líneas futuras de investigación .....	133
<b>CONCLUSIONES</b> .....	135
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	137



## **AGRADECIMIENTOS**

Este estudio ha contado con el soporte de la *Fundació Parc Taulí*.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me han ayudado a llevar a cabo este proyecto, en concreto:

A mis directores de tesis: la Dra Assumpta Caixàs por su apoyo a lo largo de todo el proyecto, su nitidez mental y su energía contagiosa. Al Dr José Miguel González Clemente por su minuciosidad y su exquisita educación en las críticas. A los dos muchas gracias.

A Montse Selvas y Susana Loureda por el procesamiento de las muestras. A la Dra. Susana Sadino por su colaboración en mi ausencia. A Olga Carro y Yolanda Couto por realizar las entrevistas dietéticas. A Marcos Catalán por su inestimable ayuda en la gestión bibliográfica. A David Suárez y Anna Espinal por el soporte estadístico. A M<sup>a</sup>José López por la corrección del estilo.

A mis profesores en Endocrinología Pediátrica del Hospital Vall d'Hebron: el Dr. Enric Vicens, Dr. Antonio Carrascosa, Dra. Marian Albisu, Dr. Miquel Gussinyé y Dr. Yeste por dirigir mi formación como especialista. Al Dr. Pedro Domínguez de la Unidad de Intensivos Pediátricos del Hospital Vall d'Hebrón por vincularme a la Endocrinología Pediátrica.

A la Dra. Pepi Rivera por su confianza y su estímulo en todos mis proyectos desde mis inicios en el Hospital de Sabadell. Al Dr. Roman Baraibar por librarme de obstáculos para finalizar este trabajo y ayudarme en la gestión del tiempo. A mis compañeros de trabajo el Dr. Ramon Nosàs y el Dr. Jacobo Pérez por su apoyo y colaboración.

A Javi, que me impulsa en todos mis planes, me da paz y es la persona donde me quiero quedar a vivir.

A mis hermanos mayores Rafa, Lumi y Antonio por su ejemplo, y al resto de mi familia por su alegría, en especial a mis sobrinas.

A mis amigos por su cariño.





## ABREVIATURAS

A-FABP	<i>Adipocyte-fatty acid-binding protein</i>
AgRP	<i>Agouti-related peptide</i>
ADA	<i>American diabetes association</i>
AGA	Alteración de la glucosa en ayunas
AMG	Alteración del metabolismo de la glucosa
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP III	<i>Adult treatment panel III</i>
AVENA	Alimentación y valoración del estado nutricional en adolescentes
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>
CART	<i>Cocaine and amphetamine regulated transcript</i>
CDC	<i>Centers for disease control and prevention</i>
cHDL	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
CKK	Colecistoquinina
cLDL	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad
cm	Centímetros
Ct	Colesterol total
EE.UU.	Estados Unidos
E-FABP	<i>Fatty acid binding protein epidérmico</i>
EHNA	Esteatosis hepática no alcohólica
ELISA	Enzimoimmunoanálisis
FABP	<i>Fatty acid binding proteins</i>
GH	Hormona de crecimiento
GLP1	<i>Glucagon-like péptide 1</i>
GLUT4	Transportador de la glucosa 4
gr	Gramos
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
HOMA	<i>Homeostatic Model Assessment</i>
HOMA-IR	<i>Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance</i>

HSL	Lipasa sensible a hormona
IC	Intervalo de confianza
ICAM-1	<i>Inter-cellular adhesion molecule 1</i>
IDF	<i>International diabetes federation</i>
IMC	Índice de masa corporal
IL1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-6	Interleucina 6
IOTF	<i>International obesity task force</i>
ITG	Intolerancia a la glucosa
kDa	Kilodaltons
MCP1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MCR4	Receptor 4 de la melanocortina
mg/dL	Miligramos por decilitro
mmHg	Milímetros de mercurio
mRNA	Ácido desoxirribonucleico mensajero
<i>NCEP</i>	<i>National cholesterol education program's</i>
NPY	Neuropéptido Y
OMS	Organización mundial de la salud
OR	<i>Odds ratio</i>
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PEPK	Fosfoenolpiruvatocinasa
PYY	Péptido YY
p85, p95	Percentil 85, percentil 95
PPAR $\gamma$	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor-<math>\gamma</math></i>
PP	Polipéptido pancreático
POMC	Proopiomelanocortina
PCR	Proteína C reactiva
RBP-4	<i>Retinol binding protein-4</i>
SD	Desviación estándar
SM	Síndrome metabólico
TrKB	<i>Tropomyosin-related kinase B</i>

TTOG      Test de tolerancia oral a la glucosa  
TNF- $\alpha$       Factor de necrosis tumoral  $\alpha$   
*VCAM-1*      *Vascular cell adhesion molecule-1*



## **INTRODUCCIÓN**

La obesidad constituye el problema de salud pública más importante al que se enfrentan los países desarrollados. La epidemia global de obesidad despegó alrededor de 1980 y en la mayoría de sociedades desarrolladas ha continuado aumentando inexorablemente hasta la actualidad. Sólo a partir de 1998 la Organización Mundial de la Salud (OMS) aceptó que se trataba de un problema público de salud mayor e, incluso entonces, no existía un método aceptado para monitorizar el problema en los niños (1).

### **1. Definiendo obesidad en niños.**

En ausencia de unos criterios establecidos que definan la obesidad infantil en base a la grasa corporal total y su relación con las consecuencias en la salud, generalmente se utilizan puntos de corte basados en la distribución de medidas antropométricas (ej. peso, Índice de Masa Corporal (IMC)) para definirla. Desde 1995 varios grupos de expertos y asesores, incluidos los de la OMS, han recomendado el IMC como la medida preferida para evaluar la obesidad entre los niños y adolescentes de 2-19 años de edad (2, 3). En 1994 en Estados Unidos, el *Expert Committee on Clinical Guidelines for Overweight in Adolescent Preventive Services* recomendaba que aquellos niños cuyo IMC excediera de 30 Kg/m<sup>2</sup> o fuese  $\geq$  al percentil 95 para edad y sexo, fuesen considerados afectados de sobrepeso, mientras que aquellos cuyo IMC estuviese entre el p85 y el p95 fuesen considerados estar "en riesgo de sobrepeso". El Comité evitó deliberadamente el término obeso por la incapacidad de medir específicamente la grasa corporal a través de datos antropométricos (4). En el año 2005 el *Institute of Medicine* se apartó a conciencia de la terminología previamente descrita acuñando el vocablo obeso a aquellos niños con un  $IMC \geq p95$  para edad y sexo. El cambio se justificaba por la naturaleza de la actual epidemia y la necesidad de dirigir el problema activamente. Asimismo se recomendaba considerar sobrepeso en aquellos niños con un IMC entre

p85 y p95 (5). Esta nueva terminología permitía además establecer un paralelismo con las recomendaciones de la *International Obesity Task Force (IOTF)* que, a principios de este milenio, estableció un esquema razonable para comparar los puntos de corte del Índice de Masa Corporal en niños (ajustados según edad y sexo) con los aceptados en adultos de 25 y 30 para sobrepeso y obesidad, respectivamente (6). Cole *et al* basaron dichos puntos de corte en los datos obtenidos de seis países. Debido al cambio continuo en la prevalencia de obesidad, los percentiles son dependientes del año en que se recopilan los datos de estudio, mientras que los puntos de corte del IOTF están basados en una construcción estadística que es independiente del nivel de sobrepeso y obesidad de la población de referencia. Sin embargo, las definiciones de sobrepeso y obesidad del IOTF tienden a proporcionar prevalencias más conservadoras, y por carecer de percentiles precisos no son útiles para estudios longitudinales de seguimiento individual. Posteriormente, algunos investigadores presentaron desacuerdo en el uso de esta referencia internacional. Se ha argumentado que deberían utilizarse estándares específicos para cada población debido a las diferencias biológicas entre poblaciones (7). La evidencia para el uso de tablas de referencia de IMC nacionales es suficientemente fuerte para su adopción en la práctica clínica y en el cribado de obesidad (8). La elección de unos puntos de corte determinados implica que existe un aumento en la morbilidad por encima de esos valores.

Existe poca evidencia disponible acerca del modo más efectivo para evaluar la severidad de la obesidad en niños con  $IMC > p97$ . En entornos de investigación se utiliza el *z score* específico para edad y sexo para valores extremos de medidas antropométricas. Algunos datos disponibles sugieren que valores de  $IMC \geq p99$  (que equivale aproximadamente a +3 desviaciones estándar (SD)) para edad y sexo están fuertemente asociados con la presencia de comorbilidades, exceso de adiposidad y persistencia de la obesidad en el adulto (9).

## **2. Prevalencia de obesidad infantil**

A lo largo de las últimas décadas ha habido un claro aumento en el percentil 97 de IMC, mientras que el percentil 3 y 50 de IMC han permanecido estables en el mismo período. Esto indica que no sólo aumenta el porcentaje de niños obesos, sino que, además, aumenta el grado de obesidad (10). Así, durante las últimas 3 décadas la prevalencia de obesidad infanto-juvenil ha ido incrementándose hasta doblarse en algunos países desarrollados. En uno de los ejemplos más extremos, la prevalencia de obesidad infantil en Estados Unidos (EE.UU.) se ha doblado entre los niños de 6-11 años de edad y se ha triplicado entre aquellos de 12-17 años de edad, según se ha constatado mediante el segundo *Nacional Health and Nutrition Examination Survey*, realizado entre 1976-1980 y el tercero realizado entre 1999-2000. Aproximadamente el 14-15% de los adolescentes de 15 años en EE.UU. pueden clasificarse como obesos (11). Estudios transversales en población escolar realizados en 1997-98 en 13 países europeos, Israel y EE.UU. muestran que Irlanda, Grecia, EE.UU. y Portugal tienen la mayor prevalencia mundial de obesidad (12). Una revisión de 21 estudios realizados en varios países europeos indica una mayor prevalencia de obesidad en el sur y oeste de Europa, siendo los países que rodean el Mediterráneo los más afectados (13).

Wang y colaboradores revisaron la tendencia mundial de obesidad infantil en 25 países para niños en edad escolar y 42 países para población preescolar; observaron que la prevalencia de obesidad infantil ha aumentado en ambos sexos, en todas las etnias y en todos los grupos socioeconómicos, en casi todos los países para los que existían datos disponibles, y de forma más dramática, en países desarrollados y en población urbana (14). Los autores destacaban que el exceso de peso corporal es el sexto factor más importante de la carga global de enfermedad a nivel mundial y que aproximadamente 110 millones de niños están afectados de sobrepeso u obesidad.

En nuestro país, la prevalencia de obesidad infanto-juvenil, para edades comprendidas entre 2-24 años, se estima en un 13.9%, y para el sobrepeso se estima en un 12,4%, según el estudio enKid. En conjunto, sobrepeso y obesidad suponen el 26,3%. La obesidad es significativamente más elevada en los varones (15,6%) que en las mujeres (12%). En el subgrupo de varones, las tasas más elevadas se observaron entre los 6 y los 13 años de edad. En las chicas, las tasas de prevalencia más elevadas se observaron entre los 6 y los 9 años. Entre los niños de 6-9 años, la prevalencia de obesidad infanto-juvenil ha aumentado progresivamente en el curso de las últimas décadas, con un incremento del 4.9% en 1984 al 15.9% en el año 2000, según muestra el estudio enKid. En este mismo grupo de edad, el sobrepeso afecta al 14.5% de los niños, suponiendo sobrepeso y obesidad un 30.4% (15, 16).

El incremento en la prevalencia de obesidad infantil en Europa continúa aumentando. Un análisis de 45 pares de estudios procedentes de 11 países europeos ha permitido estimar que, en el año 2010, 26.7 millones de niños europeos de 5-17.9 años de edad tendrán sobrepeso (IMC >p85 según Cole) con un incremento anual de 1,3 millones, de los cuales 6.4 millones serán obesos (IMC p>95 según Cole) con un incremento anual de 0.35 millones, lo que supone una prevalencia de 36.7% de sobrepeso y 8.8% de obesidad respectivamente. Para España se estima una prevalencia de sobrepeso del 41.4% (11.1% de obesidad) para varones y del 30.8% (7.4% de obesidad) en niñas según los criterios de Cole (17).

Si la prevalencia de la obesidad se mantiene en los términos actuales, ya hay quien aventura que ésta podría ser la primera generación de niños condenados a morir antes que sus padres. Hasta ahora todos los esfuerzos se han dirigido a tratar la obesidad, pero el porcentaje de éxitos a largo plazo es muy bajo y a menudo el peso perdido se recupera en un corto plazo de tiempo, con lo que reaparecen las



comorbilidades asociadas a la misma. La magnitud del problema es tal que, de seguir aumentando la prevalencia de la obesidad, se puede estar seguro de que en unos pocos años no habrá ningún país, por rico que sea, que pueda hacer frente económicamente a esta epidemia (18).

### **3. Origen de la obesidad**

El humano ha evolucionado bajo condiciones de estrés en las que era ventajoso ser capaz de ahorrar energía (19). La obesidad epidémica sería una respuesta normal de nuestra biología al confrontarla a un estilo de vida moderno obesogénico, con hábitos alimenticios poco saludables junto a un aumento en el sedentarismo. Este último hecho ha surgido con rapidez inusitada al abrigo del desarrollo de la alta tecnología, que incluso ha creado una actitud negativa hacia la actividad física, sin que haya sido posible una adecuada adaptación evolutiva a la par del desarrollo creado por el propio ser humano. Según la medicina darwiniana, nuestros genes y nuestra forma de vida ya no están en armonía, de forma que todo el mundo parece tener garantizado un aumento de peso excepto los genéticamente muy resistentes o si se está bajo circunstancias sociales inusuales (20).

#### **3.1 Genes**

Hasta la actualidad, se han asociado más de 600 genes, marcadores y regiones cromosómicas con la obesidad humana, pero tal hecho, por sí solo, es muy difícil que desencadene el problema, ya que las obesidades monogénicas son raras (<5% del total), muy graves y de inicio precoz en la primera infancia (21). El gen de la leptina fue el primer gen específico reconocido en el control del peso corporal en humanos (22). Hasta la fecha, la regulación del sistema leptina-melanocortina está implicada en la mayoría de obesidades monogénicas. Las mutaciones homocigotas de los genes del sistema leptina-melanocortina son extremadamente raras y a menudo asocian otros rasgos, como el hipogonadismo hipogonadotrofo en el déficit de leptina o el cabello

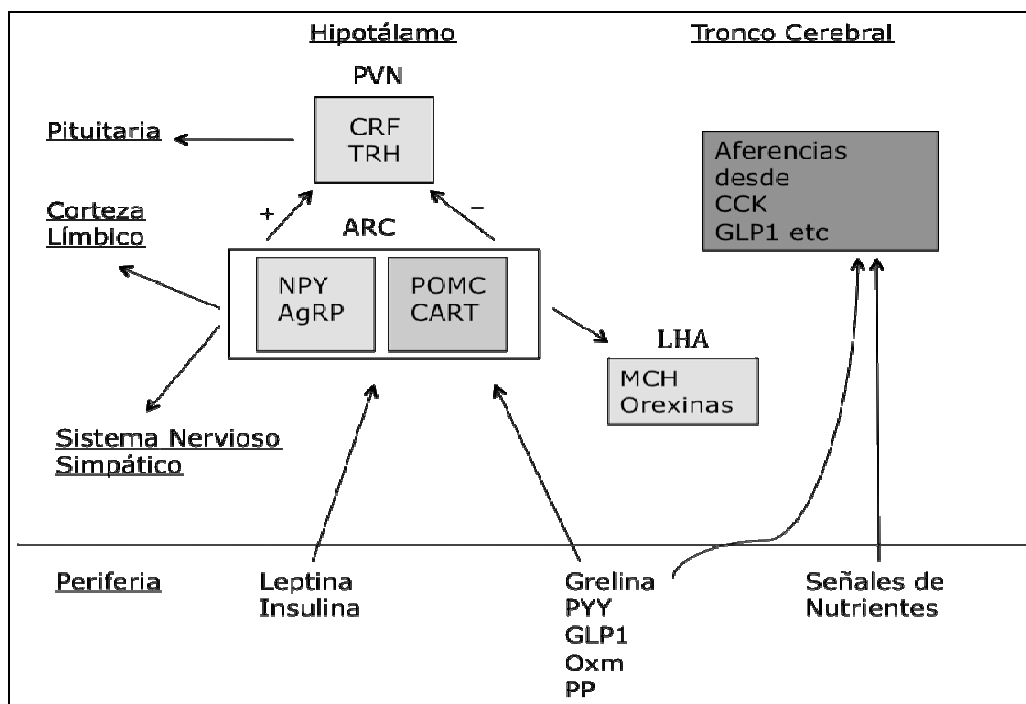
pelirrojo e hipocortisolismo en el déficit de proopiomelanocortina (POMC), resultando en fenotipos que excluyen a estos genes como probables candidatos para la obesidad común (23). Se pueden encontrar mutaciones en heterocigosis que causen obesidad, pero que no están asociadas con un fenotipo distintivo, en el receptor de la melanocortina (MCR4). Las mutaciones en MCR4 son la causa conocida más frecuente de obesidad humana monogénica, ocurriendo en un 4% de las obesidades graves y de inicio precoz en la primera infancia (24).

El mapa genético de la obesidad humana continúa expandiéndose. Existen más de 30 regiones genómicas con varios *loci* implicados que han sido replicados en varios estudios de obesidad. Cada cromosoma tiene algún *loci* vinculado al fenotipo de obesidad. Algunos genes parecen ser específicos de obesidad visceral. Por todo ello, es altamente probable que la obesidad infantil sea poligénica (25). Se estima que el 30-50% de la tendencia hacia el exceso de adiposidad puede ser explicado por variaciones genéticas (26).

### **3.2 Regulación del apetito.** (Figura 1)

Un complejo sistema fisiológico equilibra la ingesta y el gasto energético a través de señales aferentes y eferentes. El hambre conduce a la ingesta. Al tomar la comida, determinadas hormonas contribuyen a la digestión y a la sensación de saciedad.

Figura 1. Representación esquemática del control del apetito. Acciones de las hormonas intestinales, de las señales adipocitarias en la población neuronal del núcleo arcuato y de las respuestas anorexígenas y orexígenas de las poblaciones neuronales hipotalámicas. ARC, núcleo arcuato; PVN, núcleo paraventricular; LHA, área lateral hipotalámica; CRF, factor liberador de corticotropina; TRH, factor liberador de tirotrópina; NPY, neuropéptido Y; AgRP, *agouti-related peptide*; POMC, proopiomelanocortina; CART, *cocaine and amphetamine regulated transcript*; MCH, hormona concentradora de melanina; CCK, colecistoquinina; GLP-1; *glucagon-like peptide 1*; PYY, péptido YY; Oxm, oxintomodulina; PP, polipéptido pancreático. Modificado de Druce et al.



Existen **circuitos centrales** cerebrales que integran las señales de saciedad y las de estado energético para producir una respuesta coordinada al cambio en el estado nutricional. La regulación central de la homeostasis energética se encuentra en los núcleos del hipotálamo y en la corteza cerebral. El núcleo arcuato recibe señales de la periferia. Dichas señales actúan en dos poblaciones distintas neuronales: las orexígenas que expresan AgRP (*agouti-related peptide*) y NPY (neuropéptido Y) y otra población anorexígena inhibidora del apetito que libera CART (*cocaine and amphetamine regulated transcript*) y POMC (proopiomelanocortina). Dichas poblaciones neuronales proyectan mensajes al núcleo paraventricular y otros núcleos implicados en la regulación energética. Además, otros núcleos hipotalámicos participan en el control del apetito, así como la corteza cerebral. La naturaleza de recompensa de la comida puede actuar en el control de la ingesta. El circuito de recompensa implica a los sistemas endocannabinoides, opioides, dopaminérgico y serotoninérgico.

La **regulación periférica** de la homeostasis energética la realizan hormonas intestinales, pancreáticas y adipocitarias.

- *Hormonas intestinales.*

La ghrelina se sintetiza predominantemente en el estómago. Su receptor se expresa en la corteza cerebral y en el hipotálamo (incluyendo el núcleo arcuato) y es un potente orexígeno. Requiere un sistema vagal intacto para su acción. Los factores que controlan la saciedad provienen de mensajes procedentes de mecanorreceptores y quimiorreceptores de la cavidad oral y del tracto gastrointestinal. Además se liberan péptidos intestinales en respuesta a la comida como el péptido YY (PYY) (que actúa en el receptor Y2 del núcleo arcuato), el *glucagon-like péptide 1* (GLP1) (favorece la liberación pancreática de insulina regulado por la concentración luminal de glucosa), la oxintomodulina (al igual que GLP-1 es producida por procesamiento del preproglucagón), la colecistoquinina (CKK) (estimula la liberación de sales biliares, la secreción pancreática y la movilidad intestinal) y el polipéptido pancreático (PP) (liberado posprandialmente en función de las calorías ingeridas).

- *Hormonas extraintestinales.*

La insulinemia aumenta en función de la masa grasa del individuo. La insulina puede cruzar la barrera hematoencefálica, y actuar en el cerebro como una señal anorexígena. Sin embargo, la insulinemia es sensible a la ingesta y su principal función biológica es el control de la homeostasis de la glucosa.

La hormona adipocitaria leptina estimula las neuronas anorexígenas e inhibe las orexígenas del núcleo arcuato. Se cree que su principal función es proteger el organismo en situaciones de inanición.

Otras hormonas del tejido adiposo podrían jugar un papel en la homeostasis energética como por ejemplo la adiponectina (27).

La respuesta del sistema regulador del metabolismo energético parece variar en función de la edad. En adultos mayores, al aumentar la edad

existe una "reprogramación" del sistema regulador que conduce a una resistencia a la pérdida de peso. El obeso manifiesta entonces una respuesta hormonal regulada por el hipotálamo que implica el eje tiroideo y el sistema nervioso autónomo simulando la respuesta de una semi-inanición. Esta respuesta adaptativa no ocurre cuando se sobrealimenta de forma aguda a una persona joven (28).

### **3.3 Síndromes**

La obesidad es un componente de algunos síndromes genéticos que presentan fenotipos característicos; entre ellos el síndrome de Prader-Willi (OMIM nº176270) caracterizado por hipotonía intrauterina, retraso mental e hipogonadismo hipogonadotropo, y el síndrome de Bardet-Bield (OMIM nº209900) caracterizado por retinosis pigmentaria, polidactilia, retraso mental y anomalías renales.

### **3.4 Endocrinopatías**

Aunque las endocrinopatías son raras entre los niños y adolescentes con obesidad, el déficit de hormona de crecimiento (GH), el hipotiroidismo y el exceso de cortisol se caracterizan por una combinación de disminución de gasto energético y disminución en el crecimiento, resultando en una prominente adiposidad central en un niño con talla baja que crece lentamente (29).

### **3.5 Lesiones del Sistema Nervioso Central**

La obesidad es una complicación frecuente en niños que han sobrevivido a un traumatismo craneoencefálico grave, tumor cerebral o irradiación craneal. Parecen tener una actividad física reducida, más que un exceso de ingesta energética, que podría ser secundaria a una sustitución hormonal subóptima y a una disminución en la función del sistema nervioso simpático. Los mecanismos exactos responsables de este fenómeno no son del todo conocidos, aunque parecen estar implicadas alteraciones en los neuropéptidos del hipotálamo. A menudo

tienen una disregulación autonómica de la célula beta pancreática con hipersecreción de insulina en respuesta al test de tolerancia oral a la glucosa (TTOG) (30).

### **3.6 Fármacos**

El tratamiento crónico a dosis altas de corticoides está asociado a un patrón característico de ganancia de peso. Otros fármacos que predisponen al aumento de peso incluyen el valproato, los progestágenos y algunos antipsicóticos (31).

### **3.7 Ambiente**

Los genes juegan un papel permisivo e interactúan con factores ambientales que promueven la obesidad, como muestran estudios realizados con gemelos monozigóticos. Los avances en la capacidad de generar información genotípica, en combinación con marcadores fenotípicos precisos, mejorará nuestra capacidad de determinar las interacciones entre genes y ambiente (32).

### **3.8 Entorno intrauterino**

Parece existir una relación en forma de U entre el peso al nacer y la obesidad posterior. El bajo peso al nacer debido a malnutrición materna, tabaquismo o insuficiencia placentaria, o, alternativamente el elevado peso al nacimiento, atribuido mayoritariamente a diabetes gestacional materna, se asocian a obesidad a los 6 años de edad y en el adulto joven (33, 34). La restricción en el crecimiento prenatal con un rápido crecimiento postnatal podrían ser claves en la patogénesis de la progresión de la enfermedad hasta la vida adulta (35). Es probable que factores genéticos en combinación con la programación intrauterina influyeran el pronóstico (36). Los niños con bajo peso para la edad gestacional presentan un riesgo mucho mayor de presentar obesidad central, diabetes e hipertensión en la edad adulta (36, 37).

### **3.9 Factores psicosociales**

En general, aquéllos con ingresos más bajos y nivel educativo inferior tienen más probabilidad de convertirse en obesos que aquéllos con mayor poder adquisitivo y nivel educativo, que pueden tener más conciencia del problema y mayor acceso a comida saludable y a ejercicio físico. La prevalencia de obesidad es mayor en minorías étnicas, quizás por el mayor índice de pobreza entre estos grupos. Además el impacto que la obesidad tiene en las diferentes etnias es variable. El sexo influencia el impacto del status socioeconómico y la etnia en el desarrollo de la obesidad. La impresión global es que las mujeres tienen más probabilidad de ser obesas que los hombres (38).

### **3.10 Dieta y estilo de vida**

Un metaanálisis ha evidenciado que la lactancia materna parece tener un pequeño, aunque consistente, efecto protector contra la obesidad infantil (*odds ratio* (OR)= 0,78 (IC95%: 0,71-0,85)). Cuatro estudios objetivaron un efecto inverso dosis dependiente entre la duración de la lactancia materna y la prevalencia de obesidad infantil (39).

Estudios que utilizan sensores de movimiento han mostrado que los niños que invierten menos tiempo en ejercicio moderadamente vigoroso tienen mayor riesgo de convertirse en obesos durante la infancia y adolescencia. La televisión y los videojuegos han contribuido a actividades de ocio más sedentarias, al picoteo entre comidas y a elecciones inapropiadas en las comidas debido a los anuncios televisivos. Existe una correlación positiva entre las horas que un niño ve la televisión y la obesidad, especialmente en niños mayores y adolescentes (40).

Por otro lado, los patrones alimentarios de niños y adolescentes han cambiado sustancialmente en las últimas décadas. Los factores dietéticos que sitúan al niño en riesgo de obesidad incluyen una ingesta rica en grasas e hipercalórica. Los niños obesos tienden a saltarse el

desayuno y a consumir una gran cantidad de comida en la cena (41). En términos de contenido dietético, existe una relación inversa entre la ingesta de calcio y la adiposidad (42). El consumo de bebidas con alto contenido en carbohidratos es un contribuyente importante al aumento de calorías, especialmente porque estos líquidos tienden a desplazar la ingesta de lácteos entre los adolescentes (43). No obstante, el eliminar el consumo de bebidas azucaradas de la dieta, no parece tener en general un gran efecto sobre el IMC, excepto en aquellos niños con un IMC basal  $>30 \text{ Kg/m}^2$  (44).

#### **4. Consecuencias de la obesidad infantil**

##### **4.1 Persistencia de la obesidad en la edad adulta**

A medida que la prevalencia de obesidad infantil aumenta, las implicaciones que ésta tiene para la salud se han hecho más evidentes. La obesidad se asocia a problemas de salud en la infancia, y es un factor de riesgo importante para la morbilidad y mortalidad en el adulto (45). La obesidad infantil persiste en la edad adulta hasta en el 80% de los casos si los padres son obesos, y lo hace tanto más cuanto mayor es la obesidad y mayor la edad del niño. Así Whitaker y colaboradores observaron que en EE.UU., el 69% de los niños obesos de 6-9 años de edad y el 83% de los niños obesos de 10-14 años, también será obeso en la edad adulta (46). La estimación de la persistencia de la obesidad en la edad adulta en cohortes de niños prepuberales se situaba en 40-70% en estudios realizados hace décadas. Dichos estudios subestimaban la magnitud del efecto ambiental obesogénico en los niños. Así, por ejemplo, Freedman y colaboradores encontraron que el 77% de los niños obesos continuaron siendo obesos en la edad adulta (47).



## 4.2 Comorbilidades

Existe suficiente evidencia científica para afirmar que la obesidad infantil se asocia a problemas psicológicos como baja autoestima y trastornos del comportamiento (45). Asimismo, presentan un mayor riesgo de apnea del sueño, asma y empeoramiento en caso de asma preexistente. Algunos autores han encontrado asociación entre obesidad y anomalías en la estructura de los pies, tibia vara, espondilolistesis, epifisiolisis de la cabeza femoral y osteoartritis (48).

Muchas de las complicaciones metabólicas y cardiovasculares de la obesidad, tales como hipertensión, dislipemia, anomalías en la función del ventrículo izquierdo y anomalías en la función endotelial, están ya presentes durante la infancia y están estrechamente relacionadas con la presencia de resistencia a la insulina/ hiperinsulinemia, la alteración metabólica más frecuente de la obesidad (49). Así, hasta un tercio de los niños obesos tienen signos de resistencia a la insulina (50, 51). Además, algunos estudios sugieren la presencia de inflamación de bajo grado en pacientes pediátricos obesos. En el año 2006, se estimó que en Europa existían, como mínimo, 27.000 niños obesos con diabetes tipo 2, 400.000 intolerantes a la glucosa, más de un millón tenían algún factor de riesgo cardiovascular asociado (1,1 millón hipertensión y 1 millón dislipemia), 1,2 millones tenían 3 o más componentes del síndrome metabólico (de estos 1/10 tenían 4 o más componentes) y 1,4 millones esteatosis hepática (52). Existen estudios recientes que, usando el *z-score* del IMC como medida de adiposidad en niños, examinan la relación entre el IMC y las complicaciones de la obesidad en niños y adolescentes. Dichos estudios sugieren una relación continua entre el IMC creciente y los componentes del síndrome metabólico. En concreto las relaciones con triglicéridos y colesterol de lipoproteínas de alta densidad (cHDL) es curvilínea, sugiriendo que un cambio en el *z-score* del IMC por encima de 2 es muy desfavorable para el perfil lipídico (53).

### **4.3 Síndrome metabólico**

En la actualidad se conoce poco sobre la epidemiología y fisiopatología del síndrome metabólico (SM) en los niños, a diferencia de lo que ocurre en adultos (54, 55). Esto es en parte debido a la falta de consenso en la definición de síndrome metabólico en la edad pediátrica y también a la controversia alrededor de su existencia en niños. El síndrome metabólico en niños es un tema complejo con muchas cuestiones aún no resueltas satisfactoriamente, tales como ¿qué es exactamente el síndrome metabólico?, ¿cuál es la situación en niños?, ¿cómo se puede predecir?, ¿cómo contribuye al mismo el tejido adiposo?.

#### **4.3.1 Definición de Síndrome Metabólico**

El término y concepto de síndrome metabólico fue acuñado inicialmente por Reaven en 1988 para describir la existencia simultánea de resistencia a la insulina y otros factores de riesgo cardiovascular en un mismo paciente, lo que le conferiría una mayor morbilidad cardiovascular. Él ya asumía que podía existir un mecanismo común subyacente para aquellos factores de riesgo: la resistencia a la insulina (54), condición en la que las concentraciones normales de insulina plasmática no son capaces de promover de forma adecuada la captación periférica de glucosa, ni la supresión en la neoglucogénesis hepática, ni la inhibición de la lipólisis. Ciertamente la obesidad parece ser otro factor de riesgo predisponente para todos aquellos componentes de riesgo cardiovascular. El concepto de síndrome metabólico fue entonces definido, institucionalizado y ampliamente aplicado en la práctica clínica. El *US National Cholesterol Education Program's (NCEP) Adult treatment Panel III (ATP III)* requiere para su definición tres de las siguientes cinco características: 1) obesidad abdominal (hombres >102cm, mujeres >88cm), 2) hipertrigliceridemia (>150 mg/dL o 1,7 mmol/L); 3) colesterol ligado a la lipoproteína de alta densidad (cHDL) <40 mg/dL o 1 mmol/L en hombres y <50 mg/dL o 1,3 mmol/L en mujeres; 4) presión arterial  $\geq$  130/85 mmHg; 5) intolerancia a la glucosa definida

inicialmente como glucosa en ayunas > 110 mg/dL y redefinida posteriormente según las recomendaciones de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) (glucosa ayunas >100 mg/dL o 5,5 mmol/L, intolerancia a la glucosa en el TTOG o diabetes tipo 2) (56-58). El NCEP modificó los puntos de corte para adolescentes como sigue: triglicéridos > 110 mg/dL o 1,2 mmol/L, cHDL < 40 mg/dL, perímetro cintura > p90 (según el *National Health and Nutrition Examination Surveys III*) y presión arterial > p90 (59). Los criterios según la OMS se superponen a los anteriores, pero se exige la presencia de alteración en el metabolismo de la glucosa o resistencia a la insulina determinada por clamp y se añade, como posible criterio, la presencia de microalbuminuria > 20 µg/min (60). La definición según la Federación Internacional de Diabetes (IDF) precisa la medición del perímetro de la cintura (según sexo y etnia) como índice de obesidad central, siendo el resto de parámetros igual que los del NCEP (61). Para niños proponen definir la obesidad central con perímetro de cintura > p90 y utilizar el resto de parámetros como en los adultos. Recomiendan utilizar 40 mg/dL como punto de corte para cHDL en ambos sexos (62).

Sin embargo, una reevaluación en el año 2005 realizada por la ADA y la *European Association of the Study of Diabetes*, condujo a una crítica del término cuestionando su claridad y precisión, así como el propio concepto de síndrome metabólico. Algunos criterios utilizados eran ambiguos o incompletos, y no se había probado que el valor predictivo del "síndrome" fuese superior al de sus componentes por separado. Además, investigaciones actuales han identificado otros componentes que valdría la pena considerar como las adipocitocinas (63). No obstante, no hay duda de que existe una agrupación de factores de riesgo correlacionados entre sí y que están asociados a enfermedad cardiovascular y, la obesidad y la insulinoresistencia participarían en su génesis.

### 4.3.2 Síndrome metabólico en niños

Existe una gran variabilidad en los puntos de corte tomados para definir el síndrome metabólico en el niño. Como en adultos, se clasifican a los niños como afectados de síndrome metabólico si cumplen 3 o más de los siguientes criterios:

- ⇒ obesidad: definida por el  $IMC > \text{percentil } 95$  o  $IMC > p97$  (o *z-score*  $> 2$ ), perímetro de cintura  $> p75$  o perímetro cintura  $> p 90$ ;
- ⇒ triglicéridos por encima del percentil 75,90,95,  $> 110$  mg/dL;
- ⇒ cHDL  $< \text{percentil } 5,10,25$ ,  $< 40$  mg/dL;
- ⇒ hipertensión arterial definida como presión arterial sistólica o diastólica  $> \text{percentil } 90$  o  $> 130/85$ ;
- ⇒ alteración de la tolerancia a la glucosa definida como glucemia basal  $> 100$  mg/dL (AGA) , intolerancia a la glucosa en TTOG (IGT) o diabetes tipo 2.

En el apartado 6.4 se muestran las definiciones más utilizadas en la literatura.

Todos los parámetros expresados en percentiles se definen para edad y sexo. La obesidad abdominal medida con el perímetro de la cintura es exigida como condición *sine qua non* por la IDF para definir el síndrome metabólico. Esta decisión se basa en que la obesidad abdominal es un factor de riesgo independiente en la enfermedad cardiovascular del adulto (64). En niños, al igual que en adultos, el perímetro de la cintura se correlaciona con el tejido adiposo visceral más intensamente que el IMC (65), y es un factor independiente predictor de resistencia a la insulina, dislipemia e hipertensión arterial (todos componentes del síndrome metabólico) (66-69). La obesidad parece ser el mayor predictor de síndrome metabólico en el adolescente, por encima de la insulina (70).

Aunque el estadio puberal no forma parte de los algoritmos del síndrome metabólico pediátrico, la pubertad tiene efectos significativos en las concentraciones circulantes de lípidos y parámetros de

resistencia a la insulina, por lo que es importante evaluarla en el contexto de síndrome metabólico en niños. De hecho, la mayoría de estudios poblacionales de la prevalencia de SM en niños y adolescentes han utilizado definiciones arbitrarias de SM, incluyendo todos los estadios puberales y un amplio rango de edad (49) (71).

No se incluye ningún marcador de inflamación en el diagnóstico de síndrome metabólico en niños, ni tampoco en adultos.

Existen algunos estudios que han tratado de definir la prevalencia de síndrome metabólico en niños, aspecto más complicado que en adultos, ya que la selección y los puntos de corte de los parámetros son más arbitrarios, como se ha explicado anteriormente. Los estudios americanos han mostrado de forma uniforme que el síndrome metabólico es una alteración de alta prevalencia en la población pediátrica obesa americana, con más del 30% de niños obesos afectados independientemente de los criterios utilizados (49, 72, 73). Sin embargo, algunos estudios realizados en Europa reportan prevalencias inferiores; así, en Hungría un 8,9% de los niños obesos cumplían criterios de SM (74) y en Francia un 15,9% (75). En España López-Capapé et al describen una prevalencia de síndrome metabólico del 18% (16% en caucásicos) en una población de 429 pacientes de 4-18 años de edad (76). El impacto del aumento de peso en los parámetros cardiometabólicos se ilustra en la figura 2.

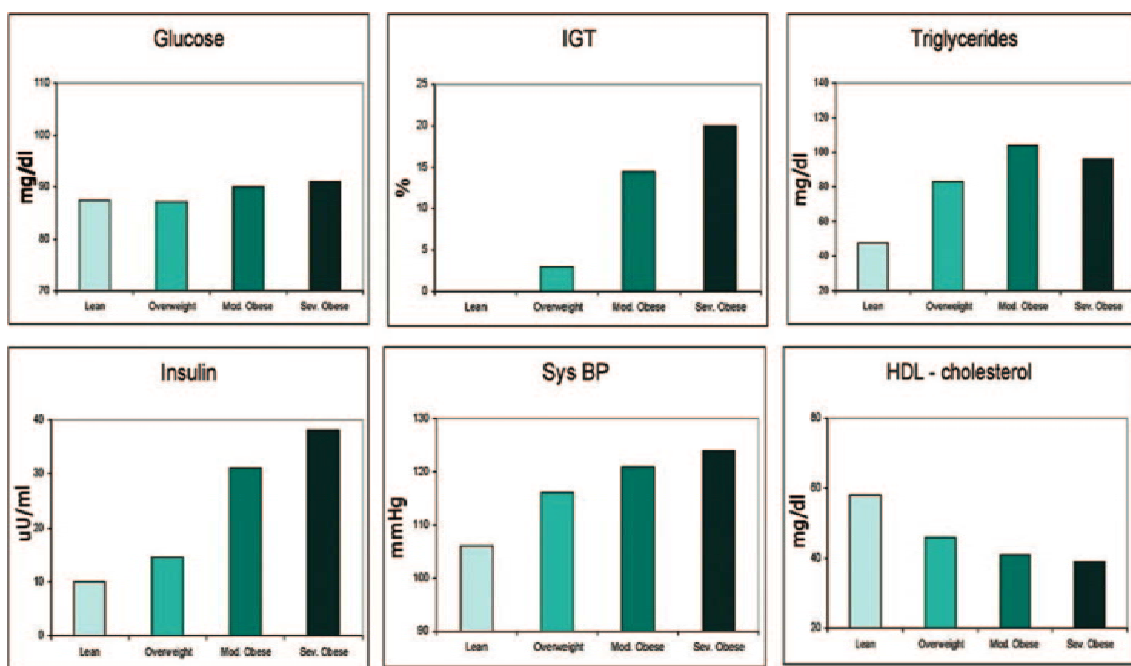


Figura 2. Impacto del grado de obesidad en los factores de riesgo cardiometabólico en niños y adolescentes. IGT: intolerancia a la glucosa, sysBP: presión arterial sistólica. Modificado de Cali et al.

La glucosa en ayunas varía mínimamente con el aumento de peso. En cambio la prevalencia de intolerancia a la glucosa aumenta de forma relevante en los niños con obesidad moderada y grave afectando al 25% de estos niños (50). Sin embargo Invitti et al en Italia, describe una prevalencia de intolerancia a la glucosa de sólo el 4.5%, en un grupo de 710 niños y adolescentes caucásicos obesos ( $z\text{-IMC } 3,8 \pm 0,7$ ) de 6-18 años de edad (77). Otro estudio chileno en 489 niños ( $z\text{-IMC } 2,6\text{-}4$ ) refieren una prevalencia de intolerancia basal a la glucosa del 3,7% (78). La prevalencia de alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado parece variar según la etnia y el grado de obesidad. Un patrón similar se ha observado en la insulinemia, la trigliceridemia, la presión arterial sistólica así como en el descenso de las concentraciones plasmáticas de CHDL.

El grado de obesidad y la prevalencia de síndrome metabólico muestran una fuerte asociación, tras ajustar por etnia y sexo. Así, la prevalencia de síndrome metabólico es de hasta el 38% en obesidad moderada y de

hasta el 49% en sujetos con obesidad grave. Además, cada elemento del síndrome empeora entre los diferentes grados de obesidad, independientemente de edad, sexo y estadio puberal (49).

Los estudios del *Bogalusa Heart Study* han demostrado que los factores de riesgo cardiovascular presentes en el niño predicen la enfermedad coronaria en el adulto (79). Entre estos factores de riesgo, el colesterol de lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y el IMC medidos en niños fueron predictores del engrosamiento de la íntima carotídea en jóvenes adultos (80). Por otro lado, la presencia de síndrome metabólico en la infancia y de antecedentes parentales de diabetes tipo 2, predice de forma independiente la presencia de SM en adultos (OR=9,4;IC 4-22,2) y (OR=2,4; IC 1,6-3,5) respectivamente (81). El IMC > p75 en niños de 6 años o el perímetro de la cintura >87cm en niños de 8 años en varias determinaciones, y el IMC>p60 o el perímetro cintura >82 cm en niñas de 13 años parecen predecir el síndrome metabólico en el adulto (82).

Existe suficiente evidencia de que la obesidad en la infancia crea la plataforma metabólica para la enfermedad cardiovascular del adulto (83, 84).

Además de los componentes clásicos del síndrome metabólico existe una creciente preocupación por la aparición de esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) en niños obesos. Se ha encontrado enfermedad hepática no alcohólica en un 50-75% de los niños obesos según las series, con un 24% ya afectados de EHNA (85). Estudios recientes sugieren que la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo son importantes en la patogénesis del EHNA, y que por consiguiente el EHNA puede ser considerado como la manifestación hepática del síndrome metabólico (86). Al igual que en adultos, el EHNA en niños puede progresar a cirrosis en etapas posteriores de la vida en un 20% de pacientes y de estos un 30-40% podrían morir por hepatopatía. De ahí que esta patología deba ser considerada en el abordaje de las comorbilidades del niño obeso. En la actualidad no existe un

tratamiento farmacológico aceptado para esta entidad en niños y, por ello, los cambios en estilo de vida son de gran importancia (87).

A día de hoy no disponemos de puntos de corte específicos para establecer el diagnóstico de resistencia a la insulina con precisión en los niños a través de marcadores bioquímicos. Así, la resistencia a la insulina es un espectro, y aún no sabemos qué umbrales utilizar en niños para predecir el riesgo de enfermedad futura (88).

## **5. Inflamación y obesidad. Nuevos predictores del síndrome metabólico en niños: papel de las adipocitocinas**

Aunque la obesidad es la causa más frecuente de resistencia a la insulina en niños y adolescentes, algunos obesos podrían mostrar una relativa sensibilidad a la insulina y un riesgo menor para el desarrollo de complicaciones cardiovasculares y metabólicas asociadas a la insulinoresistencia. Así, a igual grado de adiposidad, los jóvenes obesos con intolerancia a la glucosa son más insulinoresistentes que aquéllos con tolerancia normal a la glucosa (89). La menor sensibilidad a la insulina ha sido atribuida a un mayor depósito de grasa en el compartimento visceral e intramiocelular. Estudios recientes indican que el depósito intramiocelular de lípidos ocurre de forma temprana en el niño con obesidad y que está directamente asociado con la sensibilidad periférica a la insulina. Es preciso destacar que no todos los niños obesos tienen un depósito intramiocelular de lípidos elevado y los que no lo tienen poseen mayor sensibilidad a la insulina (90). La tendencia a acumular lípidos en el compartimento intramiocelular puede venir determinada genéticamente, ser influenciada por la dieta y la actividad física y podría estar asociada a una función alterada de las mitocondrias miocelulares (91-94).

Parece que los dos compartimentos de grasa abdominal, el visceral y el subcutáneo, son diferentes no sólo metabólicamente, sino también en su función en la liberación de hormonas y citocinas que regulan la



sensibilidad a la insulina. Así, la elevada proporción de grasa visceral relativa a la grasa subcutánea en la región abdominal, parece estar asociada a la presencia de esteatosis hepática y marcada resistencia a la insulina, así como a un perfil metabólico más adverso con un riesgo cinco veces mayor de síndrome metabólico en dichos pacientes (95).

Considerando el aumento en la prevalencia de obesidad y el hecho de que los niños están relativamente libres de comorbilidades y habitualmente libres de tratamiento farmacológico, constituyen una población interesante en la que estudiar la secuencia de los eventos asociados a la obesidad. Particularmente, la investigación de los mecanismos y mediadores de las secuelas relacionadas con la obesidad se ha expandido enormemente durante los últimos años y, en este sentido, los factores liberados por el tejido adiposo parecen ser de especial importancia. Dichos factores, tales como los componentes inflamatorios, las citocinas, los ácidos grasos y, obviamente, las adipocitocinas, ejercen una acción biológica más allá del tejido adiposo, influenciando, muchos de ellos, directamente procesos metabólicos, vasculares y endocrinos (96, 97).

### **5.1 Citocinas inflamatorias**

En los últimos años, se ha descrito una inflamación de bajo grado, caracterizada por una infiltración macrofagocitaria del tejido adiposo y un aumento en las concentraciones circulantes de moléculas proinflamatorias, que podría subyacer, al menos en parte, bajo la agrupación de factores de riesgo cardiovascular asociados a la obesidad y a la disfunción metabólica (98). El tejido adiposo, a través de la producción y secreción de citocinas, podría así contribuir a dicho estado de inflamación de bajo grado. Disponemos de estudios prospectivos en adultos que han mostrado que este grado de inflamación puede contribuir en la patogénesis de arteriosclerosis (99), diabetes tipo 1 y 2 (100), cáncer (101), enfermedades degenerativas (102) y enfermedades autoinmunes (103).

Hoy en día se acepta que la arteriosclerosis es una enfermedad crónica inflamatoria que se inicia por una lesión vascular inducida por agentes como la LDL oxidada, reactivos oxidantes e infecciones (99). Aunque la enfermedad cardiovascular empieza a ser sintomática típicamente a partir de los 40 años de edad, los cambios arterioscleróticos en la pared arterial y el inicio en la infiltración grasa vascular, se inician en etapas precoces de la vida (104). La inflamación se ha asociado en fases iniciales a engrosamiento de la íntima media arterial en niños sanos y obesos (105), apoyando la hipótesis de que la inflamación también juega un papel en la patogénesis de la arteriosclerosis temprana. Además, el proceso arteriosclerótico se acelera en niños con múltiples factores de riesgo (79). En la actualidad se está intentando identificar y evaluar marcadores circulantes de alto riesgo fiables durante la larga fase asintomática de la enfermedad, cuando los cambios endoteliales podrían ser reversibles (106). Algunos parámetros inflamatorios pueden medirse en plasma. Entre los marcadores que se ha hipotetizado que podrían asociarse a la obesidad o síndrome metabólico en el joven se incluyen proteínas de fase aguda, citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión celular y adipocinas. Una cuestión importante por responder es cómo el tejido adiposo regula la inflamación en el niño y adolescente obesos. El debate continúa sobre si la inflamación causa lesión o es un mero marcador de adiposidad. Un estudio reciente en niños obesos muestra que la lesión elemental en la obesidad precoz es un microgranuloma con rasgos lipodegenerativos. Esto sería el resultado de la fragilidad adipocitaria y del consiguiente reclutamiento de macrófagos, que conduciría a una fibrosis moderada. Esta lesión podría ser una explicación del mecanismo por el que se mantiene el estado inflamatorio que caracteriza a la obesidad (107).

## **5.2 Proteínas de fase aguda.**

En adultos se conoce que la Proteína C Reactiva (PCR) determinada por técnicas de alta sensibilidad es un buen marcador de inflamación de

bajo grado y, que está elevada en obesidad en relación a los perfiles de riesgo cardiovascular (108). Así, un consenso del *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) categorizó el riesgo coronario en la población como alto riesgo si los niveles de PCR eran superiores a 3mg/L, riesgo intermedio si eran de 1-3mg/L y bajo riesgo si eran <1mg/L (109). En niños obesos muchos estudios muestran también una elevación de la PCR. En nuestro país el estudio AVENA (Alimentación y Valoración del Estado Nutricional en Adolescentes) realizado en 500 adolescentes de 13-18 años de edad mostró unas concentraciones circulantes elevadas de PCR entre los sujetos obesos respecto a los delgados (110). Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en adultos, la mayoría de estudios en niños no confirman que la PCR se correlacione de forma independiente con la resistencia a la insulina o riesgo metabólico, una vez corregida para el IMC, a excepción quizás del estado lipídico (111-113). Por otro lado, hay que tener en cuenta que los valores séricos de proteínas inflamatorias discutidos en los estudios epidemiológicos en niños y adolescentes se mantienen dentro del intervalo de referencia, lo que implica que estas poblaciones son sanas pero que los niveles crónicamente en el límite superior de la normalidad pueden tener significación clínica a largo plazo.

### **5.3 Citocinas proinflamatorias**

La situación es similar con otras adipocitocinas. El Factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la interleucina 6 (IL-6) y resistina son producidas por el tejido adiposo y alguna de ellas, como la IL-6, tienen concentraciones plasmáticas significativas (114). Se ha evidenciado una elevación de la citocina proinflamatoria IL-6 en niños obesos (115) (116).

Para TNF- $\alpha$  la situación no es tan clara. Existen estudios que muestran una asociación positiva con la grasa corporal, y otros muestran un descenso en niños obesos prepuberales (117, 118).

Las concentraciones séricas de resistina no parecen variar en el niño obeso (119).

#### **5.4 Moléculas de adhesión**

La expresión endotelial de moléculas de adhesión vascular como el *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), de adhesión intercelular como el *Inter-Cellular Adhesion Molecule 1* (ICAM-1) y la E-selectina se han usado como marcadores inflamatorios de infiltración celular de la pared vascular arterial. Parece que estos biomarcadores de disfunción endotelial, aumentarían en respuesta a citocinas inflamatorias y jugarían un papel importante en la formación de la placa arteriosclerótica (120). En un estudio con 216 niños y adolescentes de 8-19 años de edad, no hubo relación entre la sensibilidad a la insulina y las moléculas de adhesión celular ICAM-1 y E-selectina, tras controlar por tejido adiposo visceral (116).

#### **5.5 Adipocinas**

Hace años que se conoce que el tejido adiposo no es un mero almacén de energía, sino que funciona como un auténtico órgano endocrino que secreta diversas moléculas transportadoras de información.

##### **5.5.1 Leptina**

Fue la primera adipocitocina detectada (22). Fue muy prometedora inicialmente, al inducir una reducción en la ingesta y aumentar el gasto energético en roedores, provocando así una reducción de peso. En humanos, los efectos de leptina en pacientes obesos fueron decepcionantes (121). Es bien conocido que la leptinemia presenta una estrecha correlación con el IMC en niños y adultos (122). Además existen asociaciones entre leptina y parámetros metabólicos tales como índices de insulinoresistencia (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance* u HOMA-IR) o lípidos (123). Sin embargo, esto podría ser atribuible a una asociación subyacente con la masa grasa del

organismo. Parece que el sistema leptina sería más importante en estados de déficit energético más que un predictor de síndrome metabólico (124).

### **5.5.2 Adiponectina**

Constituye la adipocitocina más estudiada. Se expresa únicamente en los adipocitos y circula a elevadas concentraciones en el suero humano. A diferencia de otras muchas otras adipocitocinas ejerce acciones beneficiosas mediante efectos antiaterogénicos, antidiabetógenicos y antiinflamatorios, por lo que previene el desarrollo de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular (125, 126). Se conoce que los hombres tienen concentraciones circulantes de adiponectina significativamente inferiores a las mujeres (127) y que durante la pubertad existe un marcado descenso (128). Por lo tanto, hay que considerar el sexo y estadio puberal para comparar las concentraciones de adiponectina entre niños delgados y obesos (129).

Las concentraciones plasmáticas de adiponectina están marcadamente disminuidas en la obesidad, lo que se asocia con parámetros del síndrome metabólico en adultos (130) y niños (131, 132), como los de insulinoresistencia y dislipemia. De hecho, en varios estudios, las concentraciones de adiponectina por debajo de la media mostraron ser el predictor más fuerte de síndrome metabólico en niños, con una *odds ratio* de 10 (131, 133). Particularmente, el complejo de elevado peso molecular, más que el total, parece reflejar mejor las anomalías metabólicas asociadas a la obesidad infantil (134). Además, las concentraciones de adiponectina se asocian negativamente con el engrosamiento de la íntima media en niños, que es un indicador precoz de lesión vascular (135).

Considerando el importante papel de adiponectina, la regulación de su expresión es interesante. Se conoce que la obesidad resulta no sólo de hipertrofia, sino también de hiperplasia del tejido adiposo a través del

reclutamiento y diferenciación de preadipocitos (136). La expresión de adiponectina se induce en paralelo a la maduración del adipocito, así, los preadipocitos no la expresan y es máxima en los adipocitos maduros (137). La exposición de adipocitos a suero durante el curso de su diferenciación conduce a una profunda supresión en las concentraciones de adiponectina, indicando la presencia de factores humorales presentes en el suero humano que suprimen la expresión de adiponectina. Así, la expresión de adiponectina está controlada en condiciones de estrés metabólico (138) y por un número de hormonas y factores implicados en la regulación de funciones metabólicas e inmunes. La insulina disminuye los niveles de adiponectina *in vivo* e *in vitro* (139) y las tiazolidinedionas, unos potentes agonistas del *peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$*  (PPAR $\gamma$ ), aumentan su expresión (140). Muchos otros factores con impacto significativo en la regulación de adiponectina ejercen efectos inhibitorios, como las catecolaminas (139), glucocorticoides, citocinas (IL-6 y TNF- $\alpha$ ) (141), prolactina, hormona de crecimiento (142) y andrógenos (128).

### **5.5.3 Lipocalinas**

Las lipocalinas son una superfamilia de más de veinte pequeñas proteínas secretoras, que pueden unirse a ligandos hidrofóbicos como el retinol, ácidos grasos, ácido araquidónico, esteroides, feromonas y sideróforos (143).

#### **5.5.3.1 Retinol binding protein-4 (RBP-4)**

Estudios recientes en ratones y humanos han sugerido que la forma soluble de RBP-4, que inicialmente se creía que era sólo un transportador del retinol o vitamina A (144), es una adipocitocina circulante implicada en la insulinoresistencia (145). RBP-4 es una proteína pequeña de 21 kilodaltons (kDa), que circula ligada a la transtirretina como un complejo proteico de 80-kDa que no se filtra fácilmente en los riñones. RBP-4 se secreta principalmente en hígado y

en tejido adiposo. Se correlaciona negativamente con la producción del transportador de la glucosa 4 (GLUT4) en tejido adiposo. De esta forma conferiría resistencia a la insulina en músculo esquelético (disminuyendo la señal de la insulina) y en hígado (aumentando la expresión de la enzima fosfoenolpiruvatocinasa (PEPK) y por tanto favoreciendo la neoglucogénesis) (145-147). Se han observado aumentos en las concentraciones séricas de RBP-4 en adultos obesos con resistencia a la insulina y reducciones en los niveles circulantes al mejorar la acción de la insulina (146, 148, 149). Además, se ha observado un aumento de las concentraciones de RBP-4 en individuos delgados con resistencia a la insulina (150). Sin embargo, otros autores no han confirmado la presencia de concentraciones séricas aumentadas de RBP-4 en mujeres obesas postmenopáusicas respecto a mujeres con normopeso, ni disminución en RBP-4 al disminuir un 5% de peso (151), ni diferencias entre hombres delgados y obesos (152), ni correlación con la insulinoresistencia (153), ni relación con el metabolismo lipídico y la inflamación (154). Aunque aún no está claro si RBP-4 es la causa o la consecuencia de la resistencia a la insulina o si es un mero biomarcador del estado de insulinoresistencia (145, 146, 150, 151), parece ser una importante adipocitocina implicada en la interrelación entre obesidad e insulinoresistencia. Al igual que para la leptina y la adiponectina, algunos autores han encontrado diferencias entre sexos en las concentraciones de RBP-4, siendo inferiores en las mujeres (155), aunque otros autores no han encontrado dicha dicotomía sexual (156). Asimismo, parece que la edad podría influenciar la relación entre RBP-4 y los componentes del síndrome metabólico, existiendo una correlación positiva en los individuos jóvenes (20-50 años) pero no en los más mayores (60-83 años) (157). Dos estudios realizados con adolescentes obesos encontraron concentraciones circulantes elevadas de RBP-4 (158, 159), aunque las concentraciones de RBP-4 no mostraron una clara correlación con el índice de insulinoresistencia del modelo homeostático (HOMA-IR) en los adolescentes obesos (159). Sin embargo, un tercer

estudio en niñas adolescentes mostró que los niveles de RBP-4 y lipocalina-2 estaban disminuidos en el grupo de obesidad mórbida respecto al de obesas y controles, sin diferencias en los niveles de transtirretina entre grupos. Las concentraciones de RBP-4 y lipocalina-2 se correlacionaban negativamente con el IMC en SD, aunque RBP-4 sólo tras la menarquia. En este estudio tampoco existía correlación entre RBP-4 y el índice HOMA-IR. Los autores concluían que la falta de relación entre RBP-4 e insulinoresistencia en su muestra podía deberse a que RBP-4 se ligaba a insulinoresistencia tras un período crítico de tiempo que no se había alcanzado en estas pacientes (160). Reinehr y colaboradores evaluaron la evolución de RBP-4 tras un año de intervención en el estilo de vida en un grupo de 43 niños y adolescentes obesos (de los cuales 18 eran prepuberales) y 19 delgados. Observaron que los niños obesos tenían concentraciones mayores de RBP-4 respecto a los delgados, y que RBP-4 se correlacionaba en toda la muestra con el IMC, presión arterial, triglicéridos, insulina y HOMA-IR, pero no con glucemia o colesterolemia. Además, en 25 niños que perdieron peso ( $>0.5SD$  de IMC), se constató una disminución en los niveles de RBP-4 junto al descenso en insulinemia, HOMA-IR, presión arterial y trigliceridemia. Por otro lado, observaron diferencias significativas entre los niveles de RBP-4 de los niños prepuberales y los puberales. No hallaron diferencias en las concentraciones circulantes de RBP-4 entre sexos. Los autores sugieren que existe una relación entre RBP-4 y la patogénesis de obesidad e insulinoresistencia en los niños (161). Un estudio retrospectivo en adolescentes obesos de etnia negra mostró que el aumento de RBP-4 se asocia a un empeoramiento de la resistencia a la insulina a los 3 años de seguimiento, y que el efecto del cambio de RBP-4 en la resistencia a la insulina puede depender del nivel inicial de RBP-4. Los autores sugieren que la medición de RBP-4 podría ayudar a distinguir a los pacientes con sobrepeso en los que empeorará la resistencia a la insulina de los que tienen más probabilidad de permanecer estables metabólicamente. Además, la determinación de



RBP-4 no requiere ayunas y no está sometida a cambios bruscos en respuesta a una infección (162).

Permanece desconocido el mecanismo por el que la obesidad conduce a un aumento de las concentraciones circulantes de RBP-4 en humanos. Las discrepancias entre estudios puede deberse, en parte, al uso de diferentes métodos para medir el RBP-4. Así, aunque está aceptado que la medición cuantitativa por *western blotting* constituye el patrón oro para medir RBP-4, existen diferentes sistemas de enzimoimmunoanálisis (ELISA) comercializados para su determinación (163). Por otro lado, puesto que el hígado parece ser la fuente más importante de RBP-4, el incremento en las concentraciones circulantes de RBP-4 en sujetos insulinoresistentes podría no explicarse por un aumento de la producción en el tejido adiposo y ser la expresión de la relación entre obesidad y RBP-4 en un contexto de insulinoresistencia (151). Además, los diferentes tipos de distribución grasa podrían ofrecer otra explicación de los hallazgos controvertidos entre los diferentes estudios (164).

En resumen, carecemos de datos sólidos en lo que a las concentraciones de RBP-4 en niños y adolescentes se refiere. En concreto, sólo dos estudios incluyen niños obesos prepuberales y con una representación muy escasa de los mismos (16 y 18 pacientes respectivamente) (165) (161).

### **5.5.3.2 Lipocalina-2**

También conocida como 24p3 o siderocalina o *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. Lipocalina-2 es una proteína de 25-kDa, que fue identificada originalmente en las células renales de ratón y en los gránulos de los neutrófilos humanos. Dicha proteína ha sido implicada en diversas funciones tales como apoptosis e inmunidad innata (al parecer secuestra a los sideróforos privando a la bacteria de hierro, limitando así su crecimiento) (166). Varios estudios sugieren que podría ser un marcador sensible de lesión renal incipiente (167, 168). Además, se

expresa en hígado, pulmón, adipocitos y macrófagos (169, 170). Algunos estímulos inflamatorios, tales como los lipopolisacáridos y la interleucina IL1 $\beta$  pueden inducir su expresión y secreción celular (171). Lipocalina-2 pertenece a la misma familia de proteínas que RBP-4, y es un conocido biomarcador de inflamación. En un estudio se correlacionó positivamente con el índice de masa corporal (IMC) y otras variables del síndrome metabólico (172, 173). Asimismo, sus concentraciones circulantes parecen estar elevadas en pacientes con coronariopatía (174). En un estudio en ratones y humanos que evaluó si lipocalina-2 jugaba un papel en la patogénesis de las comorbilidades de la obesidad, se objetivó que, en ratas obesas diabéticas, sólo la expresión hepática y adipocitaria de lipocalina-2 estaba aumentada y que se normalizaba tras la administración de rosiglitazona. En humanos lipocalina-2 se expresaba más en obesos que en delgados, en fumadores que no fumadores, en hombres respecto a mujeres y en pacientes afectados de síndrome metabólico respecto a los no afectados. Existía una tendencia hacia una asociación positiva entre las concentraciones de lipocalina-2 y la edad. Lipocalina-2 tuvo correlación positiva, tras ajustar por IMC, con el perímetro de la cintura, presión arterial sistólica, trigliceridemia, insulinemia, glucemia y HOMA-IR. Además, presentaba correlación negativa con el cHDL (172). La falta de correlación de lipocalina-2 con la glucemia a los 120 minutos del TTOG podría indicar que existía asociación de lipocalina-2 con la sensibilidad a la insulina hepática, más que con la periférica (173). También se correlacionó con PCR (tras ajustar por edad, sexo y adiposidad), sugiriendo que lipocalina-2 se asociaba de forma independiente con la inflamación y con *Adipocyte-fatty acid-binding protein* (A-FABP), un nuevo marcador de adiposidad y síndrome metabólico (175). Por otro lado no hubo correlación con adiponectina. El tratamiento con rosiglitazona se asoció a una disminución en las concentraciones circulantes de lipocalina-2 y de PCR. Los autores concluyeron que lipocalina-2 podría considerarse un marcador de bajo grado de inflamación asociado a la obesidad en

humanos, pero que se precisan estudios longitudinales para concluir si el aumento de lipocalina-2 es causa o un epifenómeno de las anomalías metabólicas asociadas a la obesidad (172). Sin embargo, otro estudio en humanos no validó que lipocalina-2 fuese un marcador de síndrome metabólico ni de obesidad. Únicamente hallaron correlación con creatinina, transaminasas, colesterol total y PCR (176). Otro estudio en ratas mostró que la administración exógena de lipocalina-2 en cultivo de hepatocitos promueve la insulinoresistencia, que agentes inductores de insulinoresistencia como la dexametasona y el TNF $\alpha$  inducen la expresión de lipocalina-2 y que dicha expresión se reduce con tiazolidinedionas. El tejido adiposo blanco fue el máximo lugar de expresión de lipocalina-2, y las concentraciones séricas de lipocalina-2 estaban elevadas en tres modelos murinos diferentes de obesidad. Los autores concluyeron que lipocalina-2 es una adipocina mediadora de la insulinoresistencia asociada a la obesidad (177). Otro estudio en ratas sugirió que lipocalina-2 induce la expresión de PPAR $\gamma$  y protege contra el efecto inhibitorio de TNF $\alpha$  en la expresión de los preadipocitos, por lo que concluyeron que lipocalina-2 podría ser un mecanismo protector contra la sobreactivación de la inflamación asociado a la obesidad e insulinoresistencia (178).

No existen datos en la literatura acerca del comportamiento de lipocalina-2 en niños obesos.

### **5.5.3.3 Adipocyte-fatty acid-binding protein (A-FABP)**

Los ácidos grasos funcionan como fuente de energía y como señales para la regulación metabólica e inflamatoria mediante la modulación de la expresión génica (179) (180). Cuando la elevación de ácidos grasos es crónica, se acumulan en diversos tejidos dificultando sus funciones fisiológicas, proceso conocido como lipotoxicidad (181).

Los acompañantes de los lípidos intracelulares, conocidos como *fatty acid binding proteins* (FABPs), son un grupo de moléculas que coordinan las reacciones lipídicas en las células, y que además están fuertemente

asociadas a vías metabólicas e inflamatorias (182). Las FABPs son proteínas citosólicas de 14-15 kDa que se unen de forma reversible a ligandos hidrofóbicos como ácidos grasos, eicosanoides y otros lípidos (183). Se encuentran en todas las especies, desde los eucariotas a los humanos, demostrando una fuerte conservación evolutiva. Sin embargo, se conoce poco acerca de sus funciones biológicas exactas y sus mecanismos de acción. Desde su descubrimiento inicial en 1972 (184), se han descrito nueve miembros. Ninguna FABP es específica para un único tejido o tipo celular y la mayoría de tejidos expresan varias isoformas de FABP. La expresión de FABPs en un tipo celular concreto parece reflejar su capacidad de metabolizar lípidos. La exposición a ácidos grasos conduce a un aumento importante en la expresión de FABP en la mayoría de tipos celulares (185). Parece que existe un sistema adaptativo que responde al estado lipídico de las células diana, y regula la estequiometría de los lípidos mediante las FABPs.

Como proteínas pequeñas intracelulares que son, las FABPs parecen acceder al núcleo en ciertas condiciones y, potencialmente, dirigir los ácidos grasos hacia factores de transcripción como miembros del *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) (186).

El adipocito expresa dos tipos de FABP: A-FABP (también conocido como FABP-4 o como aP2) y en mucha menos proporción la forma E-FABP (o mal1). El FABP epidérmico (E-FABP) interactúa con PPAR- $\delta$  y A-FABP con PPAR- $\gamma$  (187).

Todas las FABPs conocidas comparten una estructura tridimensional casi idéntica. Es común a todas una  $\beta$ -estructura antiparalela en cuyo interior se localiza el "bolsillo de unión", que aloja a los ácidos grasos (188).

Las FABPs pueden facilitar el transporte activo de lípidos hacia determinados compartimentos celulares, tales como las gotas lipídicas para su almacenamiento; al retículo endoplasmático para la síntesis, tráfico y señales de membrana; a la mitocondria o peroxisoma para la oxidación; a otros enzimas citosólicos para regular su actividad; al

núcleo para regular la transcripción mediada por lípidos; o incluso fuera de la célula para funcionar de forma paracrina o autocrina (189).

La evidencia del impacto de las FABPs en biología celular y metabolismo lipídico ha surgido con los modelos de ratón FABP-deficiente. A-FABP, también conocida como FABP4 y adipocyte P2 (aP2), se detectó inicialmente en el citoplasma de adipocitos maduros y representa el 6% de las proteínas celulares (190). La expresión de A-FABP está regulada durante la diferenciación adipocitaria, y la transcripción de su ácido desoxirribonucleico mensajero (mRNA) controlada por ácidos grasos, agonistas del PPAR- $\gamma$  e insulina (182). El ratón deficitario en A-FABP tiene menos hiperinsulinemia e insulinoresistencia en el contexto de obesidad genética o dietética, pero el efecto de A-FABP en la sensibilidad a la insulina no se observó en ratones delgados (191). En adipocitos, la pérdida de A-FABP fue compensada por una sobreexpresión de E-FABP (=FABP5 o mal1), que está presente en el adipocito normal sólo en pequeñas cantidades. Los adipocitos obtenidos de los ratones deficitarios en A-FABP tenían una lipólisis reducida *in vivo* e *in vitro* (192). A-FABP parece interactuar con la lipasa sensible a hormona (HSL) y estimular su actividad promoviendo la lipólisis en el tejido adiposo (193). Los ratones que combinaban una deficiencia de A-FABP y E-FABP, en el contexto de obesidad genética o dietética, no desarrollaban resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 ni esteatosis hepática (194). Además, desarrollaron un 88% menos de lesión vascular (195). También se encontró una protección frente a la inflamación de la vía aérea en los ratones ap2 deficientes (196), aportando un posible rol en la patogénesis del asma y su relación con la obesidad. Los ácidos grasos plasmáticos estaban elevados en dichos modelos murinos deficitarios, indicando que la distribución y disponibilidad de ácidos grasos intracelulares, más que su cantidad absoluta, puede ser crítica en condiciones patológicas. Así, se conoce que un aumento de ácidos grasos de cadena corta (C14) y un descenso en los de cadena larga (C18 o C20) en el tejido adiposo y músculo de

estos ratones deficitarios, conduce a un aumento en la captación de glucosa estimulada por la insulina, y a un aumento de la actividad de la proteincinasa monofosfato y de la oxidación de ácidos grasos (194). En el hígado se veía favorecida la movilización de lípidos con reducción de la esteatosis hepática.

A-FABP también se expresa en macrófagos maduros, aunque en cantidades mucho menores que en el adipocito. En los macrófagos, A-FABP modula la respuesta inflamatoria y la acumulación de ésteres de colesterol. Así, el déficit total de A-FABP confiere una protección contra la arteriosclerosis en ratones deficientes en apolipoproteína-E (195). Parece que varias respuestas inflamatorias estarían inhibidas, incluyendo la producción de citocinas como TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL6 y la *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP1). En dichos ratones no se observa el efecto compensador de E-FABP que se observa en adipocitos. Los estudios en transplantados de médula ósea han demostrado que este efecto aterogénico de A-FABP está relacionado predominantemente con sus acciones en el macrófago (195). Parece que A-FABP juega un papel central en el desarrollo de los componentes del síndrome metabólico a través de sus diferentes acciones en adipocitos y macrófagos, y su capacidad de integrar respuestas metabólicas e inflamatorias en ratones.

En humanos, la expresión de A-FABP se hace evidente en adipocitos y macrófagos diferenciados (197). A-FABP se libera desde los adipocitos y está presente de forma abundante en el suero humano. Se conoce que la concentración sérica de A-FABP puede asociarse a obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular (175, 198) (199, 200). A-FABP predijo la aparición de diabetes tipo 2 a los 10 años en una cohorte china (198) y de síndrome metabólico a los 5 años en otra (201). También se ha encontrado asociación entre A-FABP y el síndrome metabólico en población caucásica (202). En una cohorte de mujeres con obesidad mórbida sometidas a cirugía de la obesidad, A-FABP contribuía a la

resistencia a la insulina medida por HOMA-IR, independientemente del perfil de citocinas inflamatorias. Los autores sugieren que en obesos, A-FABP actuaría sobre todo en la homeostasis de la glucosa más que en vías inflamatorias (203).

Se ha identificado una variante genética del gen de A-FABP humano (T-87C) con una reducción significativa en la transcripción de A-FABP, resultando en una menor expresión de A-FABP en el tejido adiposo de los portadores de dicho alelo. Los individuos con dicha variante muestran menor trigliceridemia, menor riesgo cardiovascular y parecen estar protegidos frente a la diabetes tipo 2 inducida por la obesidad (204).

Las funciones fisiológicas del A-FABP circulante permanecen aún por determinar. Recientemente se han identificado una serie de inhibidores de A-FABP. En concreto BMS 309403 reduce la extensión de la lesión arteriosclerótica en ratones deficientes en ApoE (205). Los estudios celulares revelan una reducción en la formación de células espumosas con disminución en la acumulación de ésteres de colesterol, aumento en el flujo de colesterol y disminución en la producción de mediadores inflamatorios con dicho fármaco. Además, aumenta la sensibilidad a la insulina en modelos murinos de diabetes y de obesidad genética y dietética. El papel de A-FABP como conexión para la interacción entre macrófagos y adipocitos podría ser uno de los mecanismos para explicar la acción de esta molécula en el metabolismo de la glucosa e inflamación. En un estudio reciente de Furuhashi la delección adipocitaria de A-FABP reducía la expresión de citocinas inflamatorias en macrófagos, mientras que la misma delección en macrófagos conducía a un aumento en la señal insulínica y captación de glucosa en adipocitos, sugiriendo que la interacción entre estas dos células afecta la sensibilidad sistémica a la insulina y el metabolismo de la glucosa (206).

En un estudio con 30 niños obesos (12 prepuberales), la A-FABP sérica estaba aumentada en obesos y disminuía si se perdía peso tras un año

de intervención dietética, pero no correlacionaba con los marcadores del síndrome metabólico ni con el estadio puberal (207).

Los genes de FABPs podrían representar un ejemplo de la hipótesis de genes "ahorradores" (208), que serían beneficiosos en situación de hambruna e infecciones frecuentes, pero que en situación de ingesta excesiva y disminución de gasto energético favorecerían la obesidad, diabetes, dislipemia, arteriosclerosis e inapropiada respuesta inmune.

#### **5.5.4 Otras adipocinas**

En los últimos años se han ido describiendo en modelos animales nuevas adipocinas que parecen intervenir en la homeostasis de la glucosa y del gasto energético (209). *Chemerin*, *Omentin* y *Vaspin* parecen aumentar la sensibilidad a la insulina. Los estudios en humanos aún son escasos y muestran resultados controvertidos sobre el papel fisiológico de dichas proteínas (210) (211).

#### **5.6 Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)**

Recientemente se ha considerado a las neurotrofinas como potenciales adipocitocinas que intervienen en el síndrome metabólico y otras enfermedades asociadas a procesos inflamatorios (212). Entre ellas, BDNF se ha relacionado con la obesidad y la resistencia a la insulina.

El BDNF es una proteína de 13,6 kDa miembro de la familia de las neurotrofinas cuyo gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 11 (11p14.1). Tiene un receptor específico, la quinasa B relacionada con la tropomiosina (*tropomyosin-related kinase B* o TrKB). BDNF y su receptor están claramente implicados en el desarrollo y la plasticidad neuronal, contribuyendo a la memoria y al aprendizaje. Se conoce por modelos animales que ambos se expresan en el hipotálamo (213), específicamente en los núcleos asociados a la función motora y a la saciedad. Metabólicamente BDNF actuaría como anorexígeno, hipoglucemiante y activador de la termogénesis (214). El BDNF hipotalámico parece estar regulado por el receptor de la melanocortina-



4 (MCR4) en el hipotálamo ventromedial, y podría ser una importante señal efectora por la que MCR4 controlaría el balance energético y el comportamiento alimentario (215). Sin embargo, en ratones, la administración de BDNF en el núcleo paraventricular hipotalámico reduce la ingesta y el aumento de peso pasadas 4-24h, mientras que la inhibición de la ingesta a través de MCR4 es inmediata (1-12 horas de su administración), sugiriendo diferentes mecanismos en la supresión inducida por BDNF y por las melanocortinas (216). BDNF podría disminuir la ingesta disminuyendo el efecto de NPY y sin inducir aversión alimentaria. Además, BDNF y su receptor TrkB se sintetizan y expresan en las células endoteliales, músculo liso, músculo esquelético y páncreas (217-219).

Los ratones con una mutación en el gen de BDNF o TrkB tienen hiperactividad motora e hiperfagia, con exceso de grasa corporal y obesidad asociadas (220). La administración subcutánea de BDNF en ratones db/db disminuye la glucemia plasmática, aumenta la termogénesis y disminuye la ingesta en ratones obesos hiperfágicos (214). BDNF parece regular el metabolismo de la glucosa a través del sistema nervioso central (221). La infusión central de BDNF en el ventrículo lateral induce pérdida de peso, y la infusión directa en el hipotálamo, disminución en la ingesta (222). Además, en modelos animales de obesidad genética, así como de insulinoresistencia y de resistencia a la leptina, la inyección periférica de BDNF disminuye el peso y el apetito y mejora los niveles plasmáticos de glucemia, colesterol y ácidos grasos libres (223). Experimentalmente se ha demostrado que la dieta puede modular la expresión central de BDNF, reduciéndose en el hipocampo en casos de dieta rica en grasas y azúcar refinado (224). En animales con una mutación en el gen del BDNF, una dieta elevada en grasa puede inducir hiperfagia, obesidad precoz y descenso en la saciedad; la hiperfagia ocurrirá en ratones maduros, pero no en jóvenes, alimentados con dieta equilibrada (225). Por contra, la restricción calórica puede aumentar la expresión cerebral de BDNF

(226) y disminuir la obesidad, ansiedad y agresión en el ratón BDNF heterocigoto (227). La administración periférica del agonista de TrkB NT4 en ratas suprime el apetito y disminuye el peso en forma dosis-dependiente (228).

En humanos, algunos autores han comunicado concentraciones plasmáticas y séricas disminuidas en sujetos obesos comparando con sujetos con normopeso (229), mientras que otros autores han encontrado concentraciones plasmáticas inferiores en obesos sin diferencia en las concentraciones séricas (230), e incluso concentraciones superiores en obesos con diabetes respecto a controles (231). En algunas cohortes se ha asociado BDNF con trastornos de la conducta alimentaria tales como la anorexia nerviosa restrictiva (232). Por otro lado, también se han estudiado mutaciones en BDNF y TrkB en pacientes con obesidad, y no se puede excluir un papel del alelo I2 en la etiología de la obesidad (233) (234). Estudios recientes muestran que las concentraciones de BDNF se correlacionan negativamente con la glucemia en ayunas y con el índice HOMA en pacientes con diabetes tipo 2, sugiriendo que los niveles elevados de glucemia plasmática inhiben la producción cerebral de BDNF (235) (236). En un estudio con 199 pacientes con diabetes tipo 2, los que presentaban síndrome metabólico tenían una disminución de BDNF y BDNF se asociaba a IMC, HbA1c, colesterolemia HDL y trigliceridemia siendo la colesterolemia HDL el factor más importante en la determinación de las concentraciones plasmáticas de BDNF (236), mientras que otro estudio en mujeres no mostró diferencias en los niveles de BDNF en relación a la presencia de síndrome metabólico (237). BDNF se ha encontrado más elevado en pacientes obesos con insulinoresistencia tras 3 meses de dieta hipocalórica y sus concentraciones finales se han correlacionado negativamente con el peso final (238). En 532 mujeres obesas el alelo Val66Met para BDNF se ha asociado a un mayor riesgo de obesidad (OR 1,38;  $p=0,031$ ) y las homocigotas para Val66Met presentan un IMC mayor que las heterocigotas (37,1 vs 33,4 Kg/m<sup>2</sup>), sugiriendo una

importante función de BDNF en la patogénesis de la obesidad y el carácter recesivo de dicho alelo en su efecto sobre el IMC (239).

En un estudio realizado en 328 niños de 3-19 años de edad (de los cuales 27 eran obesos prepuberales) las concentraciones plasmáticas de BDNF se asociaron positivamente al recuento de plaquetas (ya que BDNF parece almacenarse y liberarse desde las plaquetas (240)) y negativamente con la edad; además las concentraciones de BDNF tras 1 hora de ingerir un batido hipercalórico no variaron (229). No existen otros estudios que evalúen las concentraciones circulantes de BDNF en niños obesos prepuberales.

En definitiva, las medidas preventivas contra la inflamación en el individuo joven se basan en modificar el estilo de vida, como los hábitos dietéticos y los niveles de actividad física. La grasa corporal parece ser el principal determinante de la inflamación. La modulación de la inflamación procesada por la dieta y el ejercicio físico es motivo de investigación actual en niños y adolescentes (241, 242) . El uso de los marcadores de inflamación de bajo grado podría permitir el cribado de riesgo cardiovascular de los niños obesos durante la fase presintomática y reversible de la enfermedad (243). En niños prepuberales obesos, apenas se conocen las concentraciones plasmáticas de RBP-4, lipocalina-2, A-FABP y BDNF, así como el efecto producido a largo plazo por la pérdida de peso mediante una intervención dietética y en el estilo de vida sobre dichos marcadores, que parecen estar involucrados en las complicaciones de la obesidad.



**HIPÓTESIS:** en los niños obesos prepuberales los rasgos del síndrome metabólico (SM) están ya presentes, y las concentraciones plasmáticas de RBP-4, lipocalina-2 y A-FABP están aumentadas, mientras que las de BDNF están disminuidas. Los niños con una pérdida significativa de peso tras dos años de intervención dietética, presentarán un descenso significativo de los componentes del SM, RBP-4, lipocalina-2, A-FABP y un aumento de BDNF.



## **OBJETIVOS:**

- **Objetivo principal:** evaluar, en un grupo de niños prepuberales obesos, las concentraciones plasmáticas de RBP-4, lipocalina-2, A-FABP y BDNF en situación basal y a los dos años de intervención dietética y en el estilo de vida, en función de la pérdida de peso, y su correlación con los rasgos del SM.
- **Objetivos secundarios**
  - analizar la prevalencia de rasgos del SM en el niño obeso prepuberal según 5 definiciones, y el impacto de la obesidad sobre los rasgos del SM;
  - comparar la dieta y el estilo de vida con el niño con normopeso.





# **PACIENTES Y MÉTODOS**

## **1. Diseño del estudio**

Estudio de casos y controles con seguimiento prospectivo de los casos durante una intervención dietética.

## **2. Casos**

Niños obesos (IMC > 2 desviaciones estándar según las gráficas españolas de referencia) (244), de 6-10 años de edad, prepuberales y de etnia caucásica, derivados a la Unidad de Endocrinología Pediátrica del Hospital de Sabadell por obesidad (no por sus comorbilidades), entre Enero 2004 y Diciembre de 2006. Se trata de una población urbana.

Para detectar diferencias en el nivel de lipocalinas y BDNF asociado a una variación de peso significativa (>0.5SD), con nivel de significación del 5% y potencia del 90%, asumiendo que la media del grupo de referencia es de 20 unidades, la del grupo postintervención es de 15 unidades y la desviación típica de la variable diferencia es de 10 unidades, era necesario incluir 32 pacientes con pérdida de peso >0.5SD en el estudio.

## **3. Controles**

Niños que se realizaron analítica preoperatoria por cirugía menor en nuestro hospital. Aceptando riesgo  $\alpha=0.05$  y riesgo  $\beta<0.2$  en contraste unilateral, se necesitaban 35 controles para detectar una diferencia  $\geq$  a 20 unidades porcentuales entre ambos.

## **4. Criterios exclusión**

- endocrinopatía o síndrome asociado a obesidad;
- toma de medicación que afecte peso, metabolismo lipídico o presión arterial.

## **5. Reclutamiento. Consentimiento informado**

Se obtuvo el consentimiento informado parental por escrito en todos los pacientes y todas las investigaciones fueron llevadas a cabo según los principios de la Declaración de Helsinki.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de nuestra Institución (código de referencia 2004104).

## **6. Evaluación de los pacientes**

### **6.1 Anamnesis**

Se obtuvo una detallada historia médica personal incluyendo peso y longitud al nacer para la edad gestacional, antecedentes parentales de los componentes del síndrome metabólico, cuestionario de frecuencia alimentaria (CFA) de 96 ítems adaptada y validada para edad y sexo (245, 246), y de actividad física en todos los sujetos.

Las encuestas fueron realizadas por dos enfermeras especializadas en educación dietética y entrenadas en el uso de dicho cuestionario. Los CFA contenían preguntas de la frecuencia de consumo habitual de 96 alimentos durante el año previo a la inclusión en el estudio. Se utilizaron fotografías en color para estimar el tamaño de la porción en los ítems que lo precisaban. Los datos del consumo alimentario fueron convertidos en macro y micronutrientes usando una versión actualizada de la tabla de composición de los alimentos ([www.senba.es](http://www.senba.es)). El ajuste de la ingesta energética fue calculado usando el método de densidad del nutriente (247). A continuación se muestra el CFA.

**CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA Y ACTIVIDAD FISICA en NIÑOS**  
(Jesús Vioque. Dpto. Salud Pública. Universidad Miguel Hernández)

**CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA N° 3**

IDNUM | | | | |

*Estimada Sra., esta parte de la encuesta es para conocer la dieta que ha seguido su hijo/a a lo largo de todo el último año. Con ello tratamos de averiguar el papel que puede jugar la dieta en relación a su crecimiento y desarrollo. Sus respuestas serán muy útiles, y por ello, le agradecemos sinceramente que preste su máxima atención y colaboración. Cuando un alimento no se adapte plenamente a su consumo habitual, trate de aproximar su respuesta a las cantidades indicadas, con la ayuda de los ejemplos e indicaciones que se le den.*

Para cada alimento, señalar **cuantas veces como media** ha tomado la cantidad que se indica durante el último año. Debe tener en cuenta las veces que toma el alimento solo y cuando lo añade a otro alimento o plato. Por ejemplo, en el caso del huevo, considere cuando lo toma solo (Ej. frito o cocido) y cuando lo toma añadido o mezclado con otros platos. Si este en este año ha venido comiendo una tortilla de 2 huevos cada 2 días, deberá marcar "1 por día". No debe considerar el huevo que va con los productos de bollería o dulces.

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
<b>I. LACTEOS</b>									
1. Leche entera (1 vaso o taza, 200 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
2. Leche semi-desnatada (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
3. Leche desnatada (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
4. Leche energía y crecimiento (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
5. Leche enriquecida con calcio (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
6. Leche enriquecida con Vitamina A + D (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
7. Leche condensada (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
8. Yogur entero (uno, 125 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
9. Yogur desnatado (uno, 125 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
10. Batidos de leche o bebidas lácteas tipo Dan-up (Una botellita pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
11. Petit suisse (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
12. Requesón, queso blanco o fresco (una porción o ración, 30 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
13. Queso curado, semicurado, o cremoso (un trozo, 30 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
14. Crema o nata montada (1 cucharada, 7,5 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
15. Natillas, flan, puding (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
16. Helados (1 cucurucho, vasito o bola)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
<b>II. HUEVOS, CARNES, PESCADOS</b>									
17. Huevos de gallina (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
18. Pollo CON piel (1 plato mediano o pieza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
19. Pollo SIN piel (1 plato mediano o pieza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
20. Carne de ternera, cerdo, cordero como plato principal (1 plato mediano o pieza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
21. Hígado de ternera, cerdo, pollo (1 plato, ración o pieza mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
22. Embutidos: jamón, salchichón, salami, mortadela, (1 ración de unos 50 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
23. Salchichas y similares (2 pequeñas o una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
24. Patés, foie-gras (media ración, 25 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
25. Hamburguesa (una mediana, 100 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
26. Tocino, beicon, panceta (2 tiras o lonchas, 50 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
27. Pescado frito o rebozado variado (1 plato mediano o ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
28. Pescado hervido o plancha BLANCO: merluza, lenguado, dorada (1 plato o ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
29. Pescado hervido o plancha AZUL: atún, emperador, bonito, boquerón, salmón (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
30. Una lata pequeña de conserva de atún, bonito, sardina o caballa en aceite	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
31. Almejas, mejillones, berberechos (1 ración o lata pequeña, 50 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
32. Calamares, chipirones, sepia, choco, pulpo (1 ración pequeña, 50 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
33. Marisco: gambas, cangrejo, langostino, langosta (1 ración pequeña 50 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

Si no se especifica, los platos para carne, pescado, verdura, legumbres o frutas son de tamaño pequeño-mediano

## CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA Y ACTIVIDAD FISICA en NIÑOS (Jesús Vioque. Dpto. Salud Pública. Universidad Miguel Hernández)

Para alimentos que se consumen por temporadas (ej. frutas, helados), calcular el consumo medio para todo el año. Por ejemplo, si para un alimento como la sandía o el melón se comen 2 tajadas diarias durante todo el verano (3 meses), entonces el consumo medio al año de una tajada se marcaría en la casilla 4 "2-4 por sem"

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
<b>III. VERDURAS, LEGUMBRES.</b>									
34. Espinacas o acelgas cocinadas (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
35. Col, coliflor, brócolis cocinadas (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
36. Lechuga, endibias, escarola (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
37. Tomate (uno mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
38. Zanahoria (una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
39. Calabaza cocinada (ej plato de puré pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
40. Judías verdes cocinadas (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
41. Berenjenas, calabacín, pepino (uno mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
42. Maíz hervido (mazorca o lata pequeña, 82 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
43. Legumbres: lentejas, garbanzos, judías pintas o blancas (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
<b>IV. FRUTAS</b>									
44. Naranjas, mandarinas (Una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
45. Zumo de naranja natural (un vaso pequeño, 125 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
46. Plátano (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
47. Manzana, pera (una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
48. Melocotón, nectarina, albaricoque (uno mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
49. Sandía, melón (1 tajada mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
50. Uvas (un racimo mediano o plato de postre)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
51. Fresas (plato pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
52. Cerezas, ciruelas, higos-brevas frescos (plato pequeño o dos unidades)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
53. Kiwi (una unidad)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
54. Fruta en almíbar: melocotón, piña, pera (2 mitades o rodajas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
55. Aceitunas (un platito o tapa de unas 15 unidades pequeñas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
56. Frutos secos: almendras, cacahuetes, piñones, avellanas (1 platito o bolsita, 30g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
<b>V. PAN, CEREALES Y SIMILARES</b>									
57. Pan blanco (Una pieza pequeña o 3 rodajas de pan de molde, 60 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
58. Pan integral (Pieza pequeña o 3 rodajas de pan de molde)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
59. Cereales desayuno (30 g en seco)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
60. Patatas fritas (1 ración o plato, 100 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
61. Patatas cocidas, asadas (1 patata mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
62. Bolsa de patatas fritas (1 bolsa pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
63. Bolsa de cortezas de maíz, conos y similares -chips, doritos- (1 bolsa pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
64. Arroz cocinado (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
65. Pastas: espaguetis, fideos, macarrones y similares (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
66. Pizza (1 porción o ración, 200 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
<b>VI. BOLLERÍA Y DULCES</b>									
67. Galletas tipo María (1 galleta)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
68. Galletas con chocolate (1 galleta doble)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
69. Magdalenas o bizcochos comerciales (uno mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
70. Croissant, ensaimada, donuts u otra bollería comercial sin relleno (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
71. Bollicao u otra bollería comercial con relleno de crema o chocolate (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
72. Bollería o repostería casera o panadería tradicional (una unidad mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
73. Pasteles, tarta (unidad o trozo mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
74. Chocolate, bombones y similares (1 barra o 2 bombones, 30 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
75. Chocolate en polvo, Cola-cao y similares (1 cucharada colmada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

**CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA Y ACTIVIDAD FISICA en NIÑOS**  
(Jesús Vioque. Dpto. Salud Pública. Universidad Miguel Hernández)

VII. ACEITES Y GRASAS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
76. Aceite de oliva añadido en la mesa a ensalada, pan y a platos (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
77. Otros aceites vegetales (idem): girasol, maíz, soja (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
78. Mantequilla añadida al pan o comida (1 cucharada o untada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
79. Margarina añadida al pan/comida (1 untada) <i>marca</i> _____	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

VIII. BEBIDAS Y MISCELANEAS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
80. Refrescos normales de cola, naranja, limón (ej. <i>coca-cola, fanta</i> ) (Uno, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
81. Refrescos sin azúcar cola, naranja, limón (ej. <i>coca-cola o pepsí light</i> ) (Uno, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
82. Agua del grifo (1 vaso, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
83. Agua embotellada sin gas (1 vaso, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
84. Agua embotellada con gas (1 vaso, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
85. Zumo de frutas envasado (1 vaso o envase tipo brick pequeño, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
86. Croquetas de pollo, jamón (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
87. Croquetas, palitos o delicias de pescado fritos (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
88. Sopa, crema o puré de verduras (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
89. Mayonesa (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
90. Salsa de tomate (media taza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
91. Ketchup ó catchup (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
92. Sal añadida a los platos en la mesa (1 pizca del salero o pellizco con dos dedos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
93. Caramelos y otras chucherías (2 ó 3 unidades)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
94. Mermeladas, miel (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
95. Azúcar (ej. en la leche, postres, etc.) (1 cucharadita)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

¿Consume algún otro alimento al menos una vez a la semana?

----- ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨

**SUPLEMENTOS Y OTROS HáBITOS DIETÉTICOS**

1. Durante los 2 últimos años, ¿ha tomado suplementos de vitaminas o minerales?	Marca y presentación	Dosis semanal (unidad/sem)
a. Preparados de Calcio      ① No ② Estacionalmente (3-6meses) ③ Regularmente	-----	-----
b. Suplementos ricos en fibra      ① No ② Estacionalmente (3-6meses) ③ Regularmente	-----	-----
c. Multivitaminas      ① No ② Estacionalmente (3-6meses) ③ Regularmente	-----	-----
d. Otros suplementos      ① No ② Estacionalmente (3-6meses) ③ Regularmente	-----	-----

2. ¿Ha seguido su hijo/a algún tipo de dieta en el último año? (Si responde NO pasar a pregunta 4) ① No    ② Sí    ③ No sabe/No contesta	7. ¿Cómo suele comer la carne																																								
3. ¿Podría indicar el motivo de seguir esta dieta? Puede marcar más de una respuesta ① para controlar su peso ② por razones médicas ¿cual? -----	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="4">Veces al</th> <th rowspan="2">Ns/Nc</th> </tr> <tr> <th>Nunca</th> <th>Mes</th> <th>Semana</th> <th>Día</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>a. A la plancha</td> <td>___</td><td>___</td><td>___</td><td>___</td> <td>___</td> </tr> <tr> <td>b. A la parrilla (grill)</td> <td>___</td><td>___</td><td>___</td><td>___</td> <td>___</td> </tr> <tr> <td>c. Asada (horno)</td> <td>___</td><td>___</td><td>___</td><td>___</td> <td>___</td> </tr> <tr> <td>d. Frita en aceite</td> <td>___</td><td>___</td><td>___</td><td>___</td> <td>___</td> </tr> <tr> <td>e. Guisada</td> <td>___</td><td>___</td><td>___</td><td>___</td> <td>___</td> </tr> </tbody> </table>		Veces al				Ns/Nc	Nunca	Mes	Semana	Día	a. A la plancha	___	___	___	___	___	b. A la parrilla (grill)	___	___	___	___	___	c. Asada (horno)	___	___	___	___	___	d. Frita en aceite	___	___	___	___	___	e. Guisada	___	___	___	___	___
	Veces al				Ns/Nc																																				
	Nunca	Mes	Semana	Día																																					
a. A la plancha	___	___	___	___	___																																				
b. A la parrilla (grill)	___	___	___	___	___																																				
c. Asada (horno)	___	___	___	___	___																																				
d. Frita en aceite	___	___	___	___	___																																				
e. Guisada	___	___	___	___	___																																				
4. ¿Con qué frecuencia come comidas fritas? ① A diario. ② 5-6 veces por semana. ③ 2-4 veces por semana. ④ 1 vez por semana. ⑤ Menos de 1 vez por semana.      ⑥ Ns/Nc	8. ¿Qué clase de grasa o aceite suele usar para: Mantequilla    Margarina    Ac. oliva    Ac.0.virgen    Maiz/Girasol    Mezcla Aceites																																								
5. ¿Cuándo come carne, cómo de hecha le gusta comerla? ① No come carne (pasar a pregunta 9) ② Cruda ③ Poco hecha ④ Hecha ⑤ Muy hecha.      ⑥ Ns/Nc	ALIÑAR    ___    ___    ___    ___    ___ COCINAR    ___    ___    ___    ___    ___ FREIR        ___    ___    ___    ___    ___																																								
6. ¿Cuándo come carne, qué hace Vd. con la grasa visible? ① La quita toda. ② Quita la mayoría. ③ Quita un poco. ④ No quita nada.      ⑤ Ns/Nc	9. ¿Ha acudido su hijo al comedor escolar en el último año? ① Nunca    ② <1 vez/sem    ③ 1-3 veces/sem    ④ 4-5 veces/sem    ⑤ Ns/Nc																																								
	10. Habitualmente, ¿cuántas veces a la semana... ① Desayuna    ___    ___    veces/sem      ⑥ Merienda    ___    ___    veces/sem ② Almuerzo    ___    ___    veces/sem      ⑦ Cena        ___    ___    veces/sem ③ Come        ___    ___    veces/sem      ⑧ "Pica algo" ___    ___    veces/sem																																								

## **6.2 Medidas antropométricas y clínicas**

El peso corporal se midió con una báscula romana ajustando con intervalos de 0,1 Kilogramo y la altura con un estadiómetro de pared de Harpenden ajustando en intervalos de 0,1 cm. El IMC (Índice de Masa Corporal) se calculó según la fórmula: peso (en kilogramos) dividido por el cuadrado de la talla (en metros). El estadio puberal se obtuvo por exploración física directa según los criterios de Tanner (estadio 1= prepuberal) (248, 249) . El perímetro de la cintura (medido en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca superior) y el brazo (medido en el tercio medio) se midieron ajustando en intervalos de 0,1 cm mediante una cinta métrica. Los pliegues se tomaron en el lado izquierdo del cuerpo, con un plicómetro de Holtain con precisión de 0,2 mm: el tricipital en el punto medio entre el acromion y el olecranon; el subescapular 2 cm bajo la punta de la escápula. Las mediciones se realizaron por duplicado, por el mismo observador, con el paciente en ropa interior y sin zapatos. Se utilizó la media de las dos determinaciones. La presión arterial se determinó por triplicado mediante el sistema automático de medida Critikon Dinamap ajustando la medida del manguito a la circunferencia del brazo derecho del niño, después de haber situado al niño en reposo y en decúbito supino durante al menos 10 minutos. Se eligió la presión arterial más baja y se evaluó utilizando los percentiles del International Task Force para presión arterial (250).

Se definió obesidad si IMC para edad y sexo  $>2$  desviaciones estándar según las curvas de crecimiento para población española (244). Se concretó el grado de obesidad por z-score utilizando el método LMS (251). Para explorar el impacto de la definición de obesidad usada por otros estudios internacionales en la frecuencia de los rasgos del síndrome metabólico también aplicamos los criterios de obesidad según Cole (International Obesity Task Force) a nuestros datos de IMC (6).

Se evaluaron los perímetros de cintura y brazo así como los pliegues cutáneos según los percentiles de la población de referencia ajustado para edad y sexo (15).

Se prestó especial atención a la existencia de acantosis nigricans. También se evaluó la presencia de bocio.

### **6.3 Estudio bioquímico. Test de tolerancia oral a la glucosa: realización e interpretación**

Se realizó el test solamente a los pacientes obesos, previo a la instauración de las normas dietéticas y del programa personal adaptado de ejercicio físico. Tres días antes del test los pacientes obesos ingirieron con cada comida 3 terrones de azúcar para mantener los depósitos de glucógeno hepáticos estables. El día del test ingirieron, tras 12 horas de ayuno, 1,75 gr de glucosa por kilogramo de peso corporal (máximo 75 gramos) realizando 5 extracciones sanguíneas a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos para determinar glucemia e insulinemia en plasma. Mientras se realizó la prueba el niño permaneció estirado en reposo. La intolerancia oral a la glucosa se definió, según los criterios de la ADA como la glucemia en ayunas comprendida entre 100-125 mg/dL (5,6-7 mmol/l) o a las 2 horas de 140-199 mg/dL (7,8-11 mmol/l); la diabetes como la glucemia en ayunas mayor o igual a 126 mg/dL (7 mmol/l) o mayor o igual a 200 mg/dL (11,1 mmol/l) a las 2 horas del test (58).

La sensibilidad a la insulina medida por el clamp euglicémico hiperinsulinémico presenta una estrecha correlación con el índice HOMA-IR en niños y adolescentes (252). Además la secreción de insulina en la primera y segunda fase se correlaciona con la insulinemia basal en ayunas y con el HOMA. Por tanto, la glucemia e insulinemia en ayunas son útiles para evaluar la sensibilidad a la insulina y su secreción en niños y adolescentes no diabéticos (253). Se evaluó la insulinoresistencia según el modelo homeostático mediante el índice  $HOMA-IR = \text{insulina ayunas } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosa plasmática en ayunas}$

(mmol/L)/22.5 <sup>(254)</sup> y según la insulina basal, definiendo insulinoresistencia si el índice HOMA-IR o la insulina en ayunas eran superior al percentil 95 de la población control. Dicha definición se ha utilizado en otros estudios <sup>(255)</sup> <sup>(76)</sup>, dada la ausencia de unos puntos de corte bien definidos para insulina basal y HOMA en niños <sup>(88)</sup>.

Asimismo, el mismo día del test, se obtuvo sangre en el momento basal para evaluar lípidos, hormonas tiroideas, enzimas hepáticas y ácido úrico.

#### **6.4 Definición de síndrome metabólico**

Se ha calculado la prevalencia de síndrome metabólico según 5 definiciones publicadas previamente. Hemos usado las definiciones de Weiss, Cook, Ford, Cruz y la IDF en todos los pacientes. Para todas las definiciones se consideró que el síndrome estaba presente si un sujeto presentaba 3 o más de los componentes mencionados en la tabla 1.



Tabla 1. Definiciones de síndrome metabólico

**Componentes del síndrome metabólico**

<b>Definición</b>	<b>Obesidad</b>	<b>Presión arterial</b>	<b>Triglicéridos</b>	<b>cHDL</b>	<b>Intolerancia glucosa</b>
Weiss et al (2004)	z-IMC $\geq$ 2*	>percentil 95* (NHBPEP)	>percentil 95* (NGHS)	<percentil 5* (NGHS)	Intolerancia a glucosa (criterios ADA)**
Cook et al (2003)	Perímetro cintura $\geq$ percentil 90* (NHANES III)	>percentil 90* (NHBPEP)	$\geq$ 110 mg/dL (NCEP)	$\leq$ 40 mg/dL (NCEP)	Glucemia ayunas $\geq$ 110 mg/dL o intolerancia a glucosa en TTOG**
Ford et al (2005)	Perímetro cintura $\geq$ percentil 90* (NHANES III)	>percentil 90* (NHBPEP)	$\geq$ 110 mg/dL (NCEP)	$\leq$ 40 mg/dL (NCEP)	Glucemia ayunas $\geq$ 100 mg/dL o intolerancia a glucosa en TTOG**
Cruz et al (2004)	Perímetro cintura $\geq$ percentil 90* (NHANES III)	>percentil 90* (NHBPEP)	>percentil 90* (NHANES III)	<percentil 10* (NHANES III)	Intolerancia a glucosa (criterios ADA)**
IDF (2007)	Perímetro cintura $\geq$ percentil 90* específico para etnia	Presión arterial sistólica $\geq$ 130 o diastólica $\geq$ 85 mmHg	$\geq$ 150 mg/dL	$\leq$ 40 mg/dL	Glucemia ayunas $\geq$ 100 mg/dL o diabetes tipo 2 conocida

\*Específico para edad y sexo. ADA, *American Diabetes Association*; IMC, índice de masa corporal; cHDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; NCEP, *National Cholesterol Education Program*; NGHS, *National Growth and Health Study*; NHBPEP, *National High Blood Pressure Education Program*

\*\* Se considera que todos los pacientes afectados de diabetes tipo 2 tienen el componente de intolerancia a la glucosa

Se definió obesidad si IMC para edad y sexo  $>2$  desviaciones estándar según las curvas de crecimiento para población española (244). Se evaluó la presencia de hipertensión arterial utilizando los percentiles del International Task Force para presión arterial (250). Las concentraciones plasmáticas de lípidos en ayunas, expresadas en percentiles, se ajustaron para edad y sexo según la población pediátrica española (256). La intolerancia oral a la glucosa se definió según los criterios de la ADA (58).

## **6.5 Intervención y reevaluación**

A los pacientes obesos se les proporcionaron unas normas de dieta equilibrada normocalórica para edad y sexo (orales y escritas) y se pactó un programa personal adaptado de ejercicio físico. El consejo nutricional se basó en el concepto de dieta mixta optimizada, trasladando las recomendaciones científicas a una guía basada en alimentos, considerando los hábitos alimentarios de los niños y familias en Cataluña (257). La dieta contenía un 30% de grasas, un 15% de proteínas y un 55% de carbohidratos (5% azúcar). Los padres y niños seguían el sistema del semáforo para seleccionar los alimentos. En dicho sistema los alimentos y bebidas se separaban según su contenido en grasa y azúcar en rojo ("evitar"), amarillo ("considerar la cantidad") y verde ("tomar la cantidad deseada según sed y apetito"). Se proporcionaron instrucciones para realizar ejercicio físico como parte de la vida diaria, y se insistió en la reducción en la cantidad de tiempo invertido en televisión y videojuegos (en ningún caso superar las 2 horas al día). Se programaron visitas cada 4 meses durante 2 años reincidiendo en los consejos oportunos para alcanzar una dieta equilibrada y evitar el sedentarismo.

A los dos años se reevaluaron las mismas variables obtenidas en el momento inicial. Se consideró que había existido pérdida de peso en aquellos pacientes cuyo z-IMC había descendido al menos 0,5 puntos. Este descenso parece ser el necesario para poder objetivar cambios en el perfil aterogénico en relación a la pérdida de peso (258).

## **7. Análisis laboratorio**

Las muestras de sangre fueron obtenidas tras 12 horas de ayuno de la vena antecubital en dos ocasiones en los pacientes obesos (al inicio y a los dos años) y en una sola ocasión en los sujetos control. El plasma se separó del paquete celular por centrifugación a 2500 rpm durante 10 minutos inmediatamente tras la extracción. Las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta su análisis.

## **7.1 Estudio bioquímico**

La glucosa plasmática fue medida por el método de la glucosa hexoquinasa, la insulina por electroquimioluminiscencia, el colesterol y sus fracciones por la colesterol esterasa/oxidasa y los triglicéridos por la lipasa/glicerol kinasa (Roche Diagnostics Mannheim). Los coeficientes de variación interserie de la insulina eran de 2,6-2,8% y los de la glucosa de 1,9-2,1%. Las enzimas hepáticas se midieron con la L-aspartato (la AST) y con la L-alanina (la ALT) ambas sin piridoxal fosfato. La existencia de hígado graso se diagnosticó por ecografía. Se diagnosticó EHNA tras descartar otras hepatopatías como hepatitis viral (B,C) o autoinmune, defecto de la  $\alpha$ -1 antitripsina o enfermedad de Wilson.

## **7.2 Estudio parámetros inflamatorios**

Las concentraciones circulantes de lipocalinas y BDNF se determinaron mediante enzimoimmunoanálisis (ELISA) en el Laboratorio de *l'Institut d'Investigacions Sanitàries Pere Virgili* de Tarragona. RBP-4 mediante *Human RBP4 Competitive* ELISA (Cat. No. RC05H3TP, AdipoGen) con una sensibilidad de la técnica de 1 ng/ml y unos coeficientes de variación interensayo <11% e intraensayo <10%. Lipocalina-2 con *Human Lipocalin-2/NGAL* ELISA (Cat. No. RD191102200R, BioVendor) con una sensibilidad del ensayo de 0.02 ng/ml y unos coeficientes de variación interensayo <10% e intraensayo <9%. A-FABP con *Human Adipocyte FABP4* ELISA (Cat. No. RD191036200R, BioVendor) con una sensibilidad de 0.1 ng/ml y unos coeficientes de variación interensayo <6% e intraensayo <7%. BDNF con *Human BDNF* ELISA (Cat. No. ELH-BDNF-001, RayBiotech) con una sensibilidad de 0.3 ng/ml y unos coeficientes de variación interensayo <12% e intraensayo <10%.

## **8. Análisis estadístico**

Los resultados se expresan como  $\text{media} \pm \text{SD}$  para variables cuantitativas y como porcentajes para variables categóricas si no se indica lo contrario. Cuando las variables no presentaban distribución normal se transformaron logarítmicamente previo a su análisis. Se calculó la tasa de variación a los dos años de evolución como  $\text{tasa} = (\text{valor final} - \text{valor inicial} / \text{valor inicial}) \times 100$ . Para variables continuas, las diferencias entre grupos se compararon mediante la t de Student o la U de Mann-Whitney en variables que no seguían una distribución normal. La evolución de las variables cuantitativas a los 2 años se analizaron con el T-test y con pruebas no paramétricas para datos apareados. El test de chi-cuadrado y el test exacto de Fisher permitió comparar las variables categóricas entre grupos. Para evaluar la correlación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de Pearson y el de Spearman cuando fue preciso. Se utilizó un modelo de regresión logística para calcular el impacto de la obesidad sobre los diferentes componentes del SM y para calcular el riesgo de SM, ajustando para edad, sexo e IMC. El área bajo la curva permitió establecer el punto de corte óptimo de la insulina y de lipocalina-2 para identificar los pacientes con SM. Un modelo lineal general univariante permitió evaluar la influencia de edad, sexo, IMC y HOMA en las lipocalinas y BDNF. Se fijó un nivel de significación de 0,05. Todos los análisis fueron realizados con la versión 17.0 de SPSS (SPSS, Chicago, USA).

## RESULTADOS

Un total de 73 pacientes obesos (50,6% niñas) y 47 controles (34% niñas) fueron incluidos en el estudio. Las características de los sujetos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Características de los sujetos del estudio

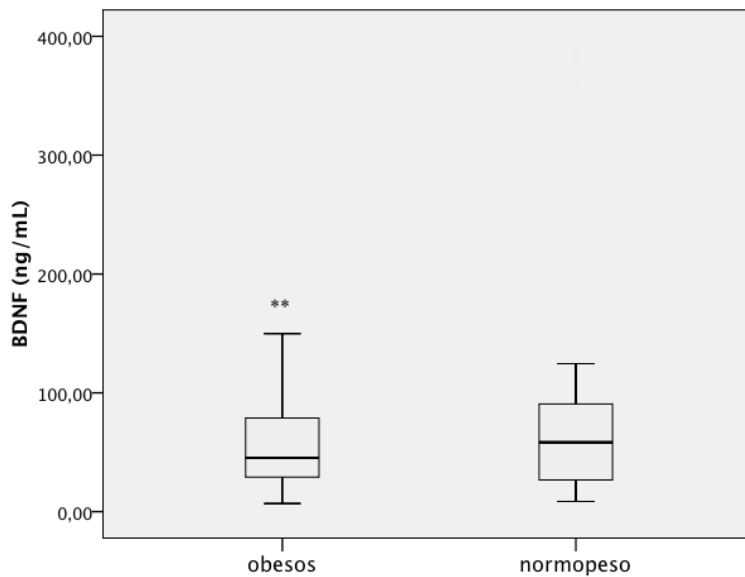
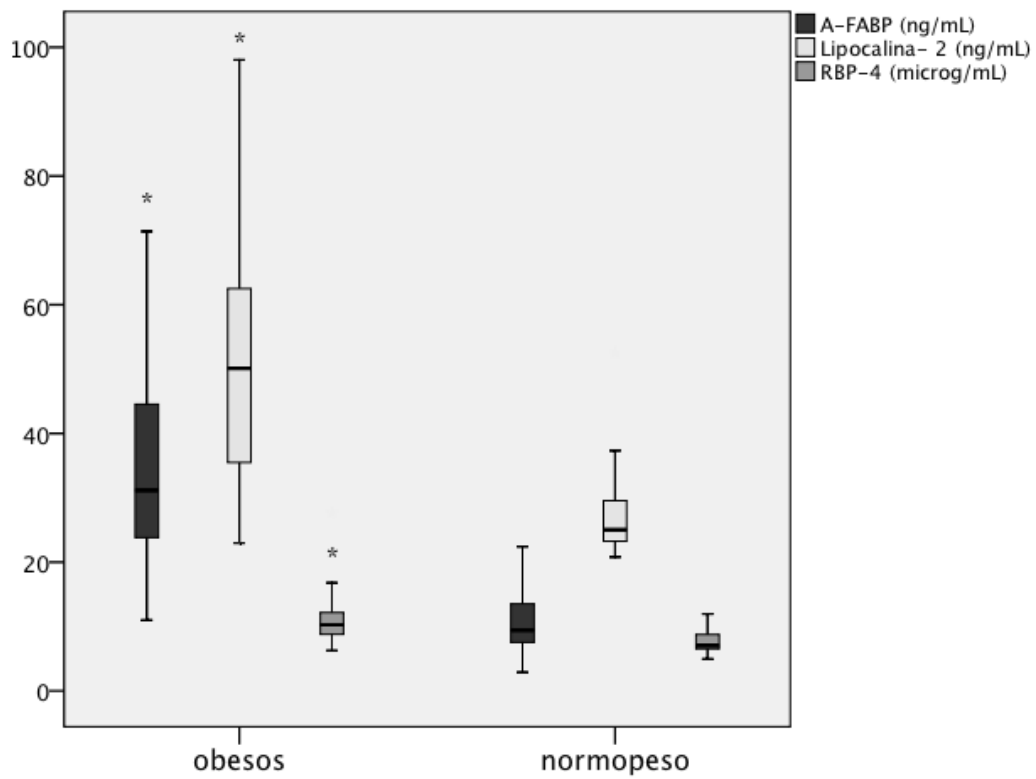
	<b>Obesos</b>	<b>Normopeso</b>	<b>p</b>
N	73	47	
Sexo	36 niños/37 niñas	31 niños/16 niñas	0,073
Edad (años)	8,03±1,08	7,74±1,35	0,22
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,59±3,07	16,21±1,41	<0,001
z-IMC (SD)	4,76±1,67	-0,27±0,74	<0,001
Peso nacer (gr)	3337±599,57	3194±539,95	0,28
Longitud nacer (cm)	50,07±2,61	50,10±1,60	0,3
Antecedentes DM2	35 (47%)	11 (23%)	0,01
IMC padre (Kg/m <sup>2</sup> )	28,66±3,93	25,27±2,31	0,003
IMC madre (Kg/m <sup>2</sup> )	29,15±7,83	23,16±3,22	0,001
Acantosis	23 (31%)	0 (0%)	<0,001
Cintura (cm)	81,31±8,5	57,59±6,05	0,035
PAS (mmHg)	109,20±14,56	104,13±9,6	0,026
PAD (mmHg)	63,43±8,32	64,13±9,25	0,672
Glucosa (mg/dL)	83,79±7,78	83,36±5,04	0,804
Insulina (µU/mL)	11,26±8,35	3,58±2,36	<0,001
HOMA-IR	2,4±1,9	0,77±0,51	<0,001
Colesterol (mg/dL)	155,5±27,97	157,82±31,45	0,621
Triglicéridos (mg/dL)	78,67±43,72	50,41±21,20	0,001
cLDL (mg/dL)	93,51±24,17	82,66±24,74	0,032
cHDL (mg/dL)	51,33±12,84	65,54±14,72	<0,001
Ácido úrico (mg/dL)	4,126±0,85	3,41±0,626	<0,001
AST (U/L)	24±5,48	31,1±8,05	<0,001
ALT (U/L)	20,14±6,68	19,2±6,97	0,479
A-FABP (ng/mL)	35,2±14,6	10,4±4,54	<0,001
RBP-4 (µg/mL)	10,68±3,4	7,56±1,69	<0,001
Lipocalina-2 (ng/mL)	50,7±18,4	28,0±7,75	<0,001
BDNF (ng/mL)	57,7±40,7	78,5±85,0	0,076
Prevalencia SM			
Weiss et al (49)	16,4%	0%	<0,001
Cook et al (259)	15,1%	0%	<0,001
Ford et al (260)	15,1%	0%	<0,001
Cruz et al (261)	17,8%	0%	<0,001
IDF (62)	11%	0%	<0,001

## 1. Comparación entre casos y controles

No observamos dicotomía sexual en talla, peso, perímetro de la cintura, *z-score* de la cintura, edad ni IMC en los niños obesos. Los niños obesos tenían mayor *z-score* de IMC que las niñas obesas ( $5,35 \pm 1,83$  vs  $4,18 \pm 1,27$ ;  $p=0,002$ ). En el grupo control, los niños tenían mayor perímetro de la cintura que las niñas ( $58,9 \pm 6,64$  cm vs  $54,9 \pm 3,54$  respectivamente ( $p=0,027$ ), no encontrándose diferencias por sexo para el resto de variables mencionadas anteriormente.

Los pacientes obesos tenían más antecedentes familiares de diabetes tipo 2 y padres con IMC superiores. No había diferencias en el peso y longitud al nacer. A la exploración física los obesos presentaban un mayor perímetro de la cintura y mayor presencia de acantosis nigricans que los controles. Los niños obesos tenían mayor presión arterial sistólica, insulina en ayunas, HOMA-IR, trigliceridemia, colesterol-LDL y ácido úrico y menor colesterol-HDL (tabla 2). Los niños obesos tenían un riesgo 24 veces mayor de presentar resistencia a la insulina respecto a los niños con normopeso ( $OR=24,3$ ;  $IC_{OR95\%}= 5,46-108,8$ ), 9,85 veces más riesgo de tener los triglicéridos elevados ( $OR=9,85$ ;  $IC_{OR95\%}= 1,23-78,4$ ), 3,75 veces hipertensión arterial ( $OR=3,750$ ;  $IC_{OR95\%}= 1,008-13,98$ ), y una tendencia a mostrar menores cHDL ( $OR=7,89$ ;  $IC_{OR95\%}= 0,976-63,8$ ). Por otro lado no hallamos mayor riesgo de tener el colesterol total elevado. Además, presentaban concentraciones plasmáticas superiores de A-FABP, lipocalina-2, RBP-4 y una tendencia a mostrar concentraciones inferiores de BDNF respecto al grupo control, como se muestra en la figura 3.

Figura 3. Diagrama de cajas de las concentraciones plasmáticas de lipocalinas y BDNF en pacientes obesos versus con normopeso. \* $p < 0,001$  para lipocalinas (A-FABP, lipocalina-2, RBP-4) y \*\* $p = 0,076$  para BDNF.



Los niños con normopeso presentaban unas concentraciones plasmáticas de AST mayores que los obesos, aunque en ningún caso doblaba los valores de referencia. Las concentraciones de ALT no fueron diferentes entre grupos.

## **2. Correlaciones de lipocalinas y BDNF con parámetros del SM y grado de adiposidad**

En los obesos, el índice de resistencia a la insulina HOMA-IR se correlacionó de forma positiva con el IMC, perímetro de la cintura, presión arterial sistólica, concentraciones plasmáticas de glucemia en ayunas, glucemia en el minuto 120 del TTOG, insulina en ayunas, triglicéridos, ALT y de forma negativa con cHDL. Además hemos hallado correlación positiva entre el índice HOMA y A-FABP, pero no con lipocalina-2, RBP-4 ni BDNF. A su vez A-FABP se correlacionó positivamente con el IMC, perímetro de la cintura, presión arterial diastólica, insulina en ayunas, ácido úrico y negativamente con cHDL. Por otro lado, A-FABP tenía tendencia a correlacionarse de forma positiva con RBP-4 ( $r=0,223$ ,  $p=0,059$ ), pero no con lipocalina-2 ni BDNF. Lipocalina-2 no se correlacionó con ningún parámetro de síndrome metabólico. RBP-4 se correlacionó de forma positiva con ALT y A-FABP y de forma negativa con BDNF. BDNF no mostró correlación con el HOMA, A-FABP ni lipocalina-2, aunque sí presentó una débil correlación negativa con RBP-4 (tabla 3).

En el grupo control, HOMA se correlacionó de forma positiva con presión arterial sistólica y diastólica, glucemia basal, insulina y cHDL, pero no con IMC, perímetro de la cintura, lipocalinas ni BDNF. A-FABP sólo se correlacionó de forma positiva con IMC. Lipocalina-2 y RBP-4 se correlacionaron positivamente entre sí y negativamente con glucemia basal. BDNF se correlacionó de forma positiva con los triglicéridos y negativamente con la presión arterial diastólica (datos no mostrados).

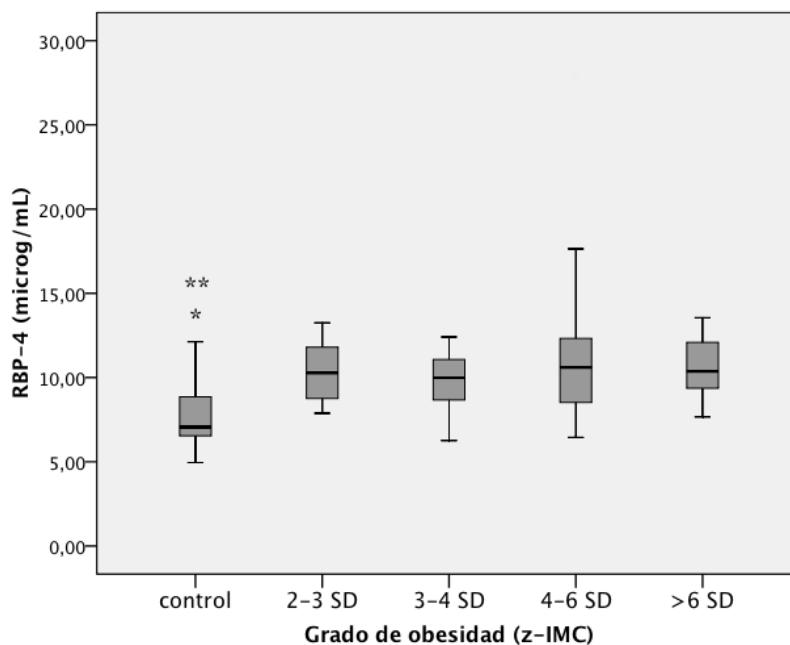
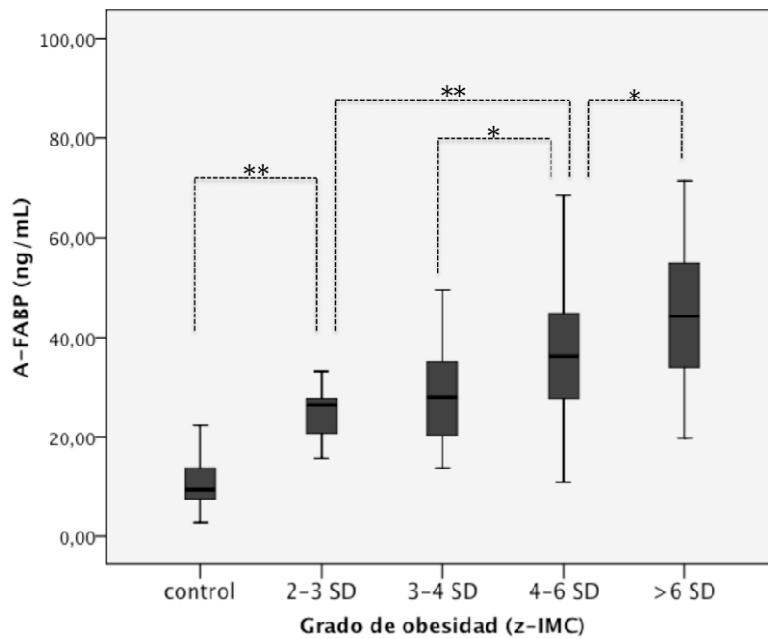


Tabla 3. Coeficiente de correlación de Pearson en los niños obesos entre HOMA, A-FABP, lipocalina-2, RBP-4 y BDNF entre sí y con los diferentes parámetros de obesidad y síndrome metabólico.\*p<0,05, \*\*p<0,01

	<b>HOMA</b>	<b>A-FABP</b>	<b>Lipocalina-2</b>	<b>RBP-4</b>	<b>BDNF</b>
IMC	0,598**	0,499**	0,002	0,029	-0,03
Cintura	0,603**	0,406**	0,05	0,068	-0,137
PAS	0,26*	0,01	0,12	-0,082	-0,182
PAD	0,137	0,244*	-0,081	-0,082	-0,10
Glucosa	0,567**	0,15	-0,026	0,188	-0,004
Glucosa 120'	0,424**	0,03	0,141	0,081	-0,141
Insulina	0,992**	0,254	0,07	0,079	-0,12
Colesterol	-0,01	0,086	-0,04	0,091	0,011
Tg	0,449**	0,166	0,09	0,134	-0,11
c-HDL	-0,357**	-0,268*	-0,085	-0,14	-0,075
c-LDL	-0,007	0,165	-0,100	0,104	0,092
Ácido Úrico	0,119	0,264*	0,047	0,105	-0,19
ALT	0,271*	0,196	0,117	0,274*	-0,14
HOMA	1	0,255*	0,078	0,104	-0,09
A-FABP	0,255*	1	0,03	0,223	0,09
Lipocalina-2	0,078	0,03	1	-0,075	-0,04
RBP-4	0,104	0,223	-0,075	1	-0,26*
BDNF	-0,09	0,09	-0,04	-0,26*	1

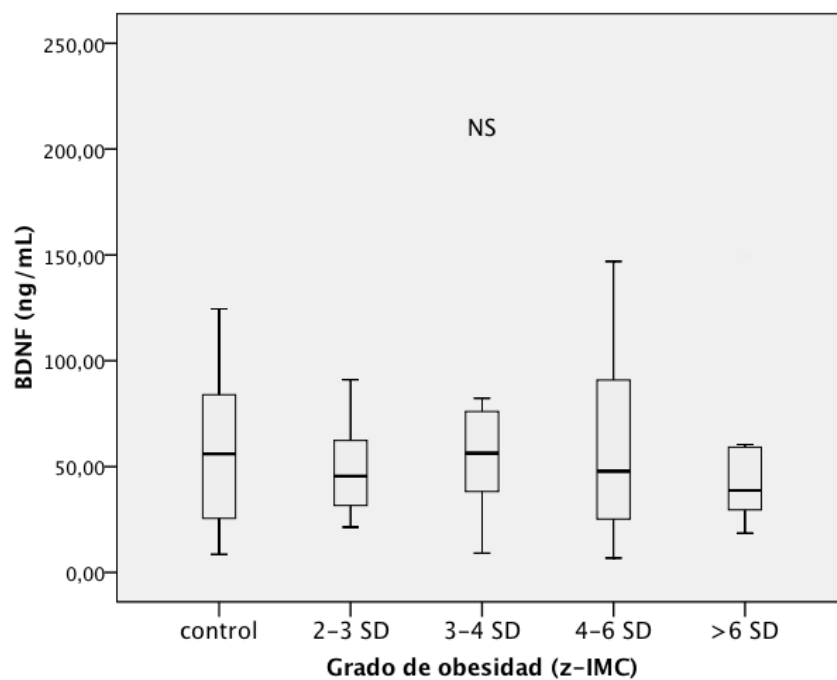
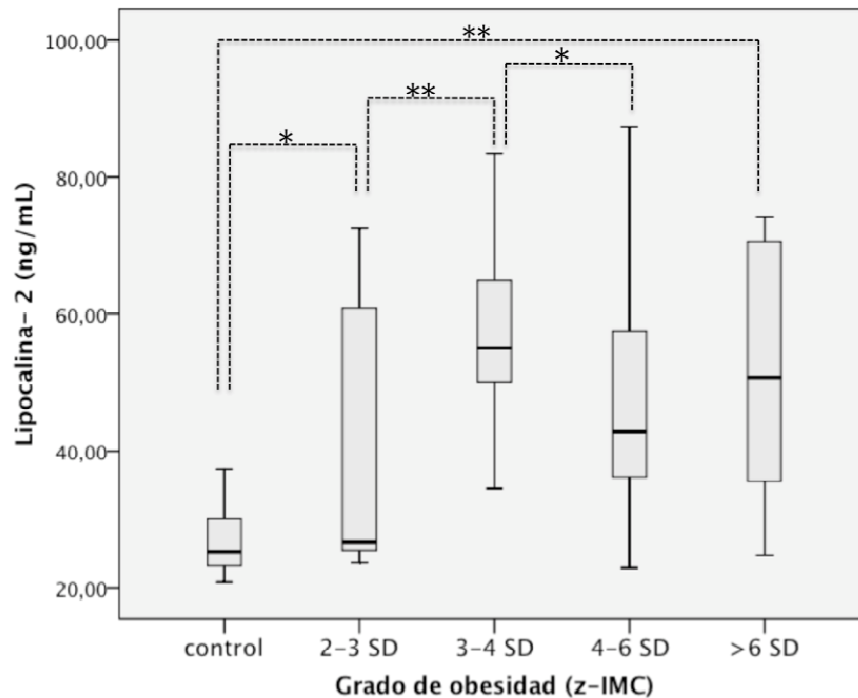
El análisis de la varianza (ANOVA) mostró que al aumentar el grado de obesidad aumentaban las concentraciones plasmáticas de A-FABP progresivamente. Las concentraciones de lipocalina-2 y RBP-4 aumentaban del grado 1 (IMC<2SD) al 2 (IMC 2-3SD) y de forma menos acusada posteriormente. BDNF no mostró un descenso progresivo a medida que aumentaba el grado de obesidad (figuras 4a y 4b).

Figura 4a. Concentraciones plasmáticas de A-FABP y RBP-4 según el grado de obesidad definido en desviaciones estándar del IMC en la población de estudio, \*p<0,05; \*\* p<0,001.



\*p<0,05 controles vs obesos con z-IMC 2-4 SD. \*\*p<0,01 controles vs obesos con z-IMC>4 SD

Figura 4b. Concentraciones plasmáticas de Lipocalina-2 y BDNF según el grado de obesidad definido en desviaciones estándar del IMC en la población de estudio, \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ . NS= no significativo.



El modelo lineal general utilizando sexo, edad, grupo control, IMC y HOMA como variables independientes y las adipocinas como dependientes mostró que las concentraciones plasmáticas de A-FABP se modificaban por el sexo (varón  $\beta = -5,77$  (IC 95%:  $-9,7;-1,84$ )) e IMC ( $\beta = 2,7$  (IC 95%:  $1,77-3,62$ )). En cambio, el HOMA, la edad y el ser del grupo control no modificaban las concentraciones de A-FABP. En obesos, las correlaciones del A-FABP con otros parámetros del síndrome metabólico (cHDL y presión arterial diastólica) se perdían al ajustar por el IMC, manteniéndose la relación con el ácido úrico ( $\beta = 3,12$  (IC 95%:  $0,68-5,56$ )). A-FABP también se modificaba por RBP-4, aunque tenía poca relevancia clínicamente ( $\beta = 0,001$  (IC95%:  $0,000-0,002$ )). RBP-4 se modificaba por el sexo (varones  $\beta = 1,47$  (IC95%:  $0,376-2,56$ )) y por pertenecer al grupo de obesos ( $\beta = 4,36$  (IC95%:  $1,75-6,96$ )). No se modificaba por la edad ni por HOMA. También se modificaba discretamente por A-FABP ( $\beta = 0,086$  (IC95%:  $0,036-0,137$ )). Al ajustar por el grupo control RBP-4 no se modificaba por BDNF.

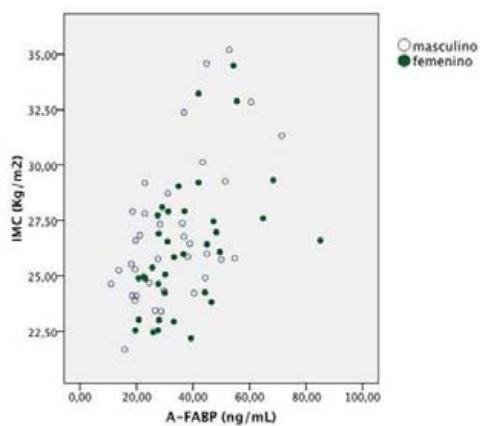
Lipocalina-2 no mostró diferencias entre sexos y era diferente en casos y en controles (obesos  $\beta = 21,91$  (IC95%:  $8,93-34,9$ )). No se modificaba por glucemia basal ni RBP-4.

BDNF no se veía influenciada por sexo, grupo control, edad, IMC ni HOMA.

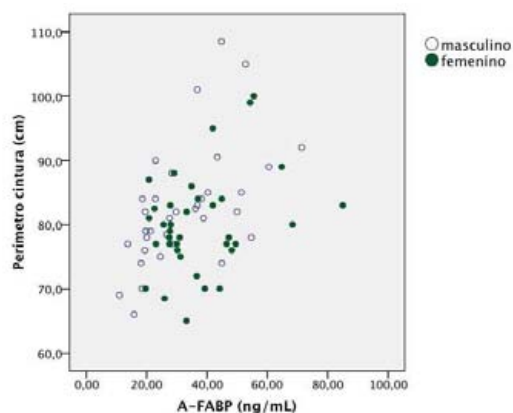
El análisis tras transformación logarítmica de los valores de las proteínas no mostraron resultados diferentes a los mencionados.

La figura 5 muestra la correlación de las diferentes lipocalinas con el IMC y el perímetro de la cintura en los niños obesos.

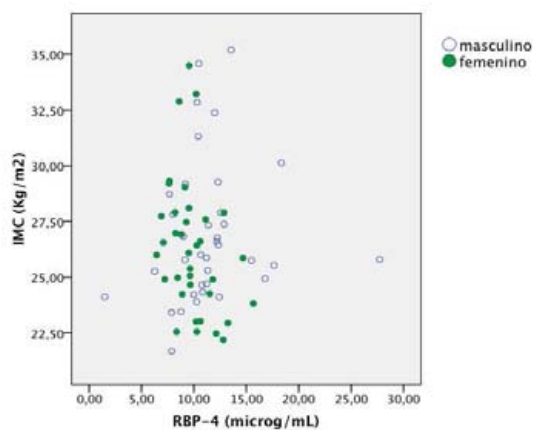
Figura 5. Correlación de A-FABP, RBP-4 y lipocalina-2 con IMC y perímetro de la cintura en niños y niñas obesos. Se muestra el coeficiente de correlación de Pearson r.



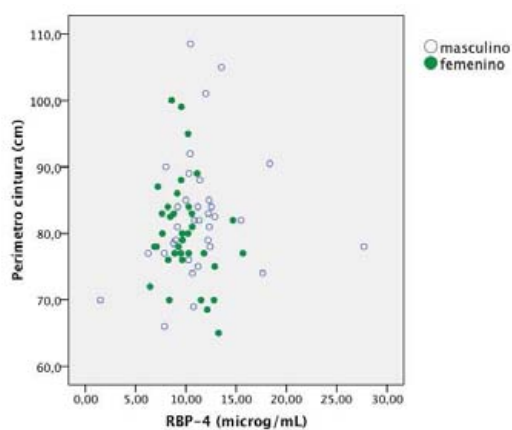
Niños  $r=0,575$ ;  $p<0,001$   
Niñas  $r=0,472$ ;  $p<0,001$



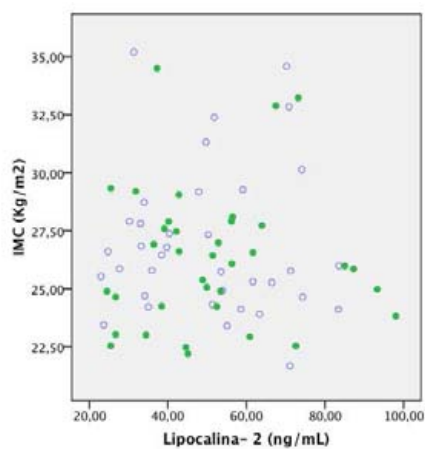
Niños  $r=0,557$ ;  $p<0,001$ .  
Niñas  $r=0,315$ ;  $p=0,06$



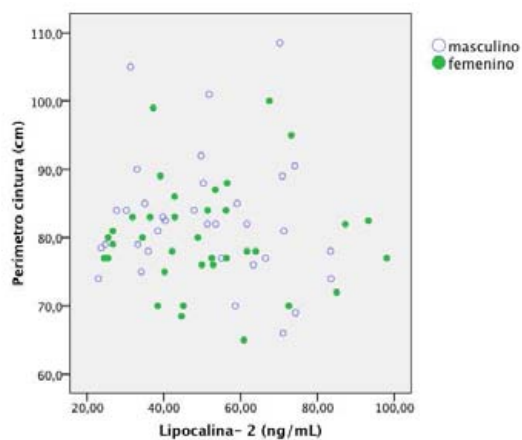
Niños  $r=0,12$ ;  $p=0,46$   
Niñas  $r=-0,32$ ;  $p=0,08$



Niños  $r=0,14$ ;  $p=0,41$   
Niñas  $r=-0,24$ ;  $p=0,15$



Niños  $r=-0,02$ ;  $p=0,907$   
Niñas  $r=0,022$ ;  $p=0,900$



Niños  $r=-0,090$ ;  $p=0,588$   
Niñas  $r=-0,020$ ;  $p=0,907$

### **3. Prevalencia de síndrome metabólico**

La prevalencia global de síndrome metabólico en nuestra población de estudio varía dependiendo de la definición utilizada (tabla 1). Así, fue del 16,4% según los criterios de Weiss, 15,1% según los de Cook, 15,1% según los de Ford, 17,8% según los de Cruz y del 11% según los de la IDF (tabla 2). Independientemente de la definición usada, la prevalencia de síndrome metabólico fue mayor en los niños obesos que en los controles ( $p < 0,001$ ).

Según las gráficas de Cole el 4,1% ( $n=3$ ) de nuestros pacientes obesos serían clasificados como sobrepeso. Cuando comparamos los valores de los diferentes componentes del síndrome metabólico en pacientes con sobrepeso versus obesos según los criterios del IOTF, no encontramos diferencias significativas con respecto a perímetro de la cintura ( $p=0,14$ ), presión arterial ( $p=0,32$ ), trigliceridemia ( $p=0,57$ ), concentraciones plasmáticas de cHDL ( $p=0,53$ ), o intolerancia a la glucosa ( $p=0,34$ ). Tampoco mostraban diferencias en las concentraciones circulantes de insulina ( $p=0,9$ ).

Las características clínicas de nuestra población de obesos según la presencia o no de síndrome metabólico, usando las diferentes definiciones, se comparan en la tabla 4.

Tabla 4. Características clínicas de los pacientes obesos según la presencia o no de síndrome metabólico. Los resultados se expresan en medias y desviaciones estándar o en frecuencias. AntecDM2= antecedentes familiares de diabetes tipo 2, P y L nacer= peso y longitud al nacer respectivamente, gluc120: glucosa en el minuto 120 del TTOG, Lipocal-2=lipocalina-2. \*p<0,05 \*\*p<0,01 .

	<b>Weiss</b>		<b>Cook/Ford</b>		<b>Cruz</b>		<b>IDF</b>	
	<b>no</b>	<b>sí</b>	<b>no</b>	<b>sí</b>	<b>no</b>	<b>sí</b>	<b>no</b>	<b>sí</b>
n	61	12	62	11	60	13	65	8
Sexo (H/M)	32/29	4/8	32/30	4/7	32/28	4/9	33/32	4/4
Edad (años)	7,93±1,05	8,55±1,1	7,92±1,06	8,68±0,96*	7,9±1,04	8,63±1,09*	7,96±1,06	8,6±1,09
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,2±2,72	28,4±4,16	26,4±2,89	27,6±3,97	26,2±2,73	28,1±4,11	26,5±2,94	27,3±4,18
z-IMC (SD)	4,64±1,56	5,33±2,14	4,72±1,57	4,97±2,25	4,67±1,55	5,14±2,16	4,72±1,55	5,05±2,58
P nacer (gr)	3353±604	3259±595	3335±603	3350±605	3350±608	3277±573	3327±605	3418±580
L nacer (cm)	50,8±2,6	50±2,8	49,9±2,57	50,6±2,95	50±2,59	50,2±2,8	49,8±2,62	51,7±1,97
AntecDM2	28/61	7/12	29/62	6/11	28/60	7/13	31/65	4/8
IMC padre	28,5±3,7	29,3±5,16	28,5±3,70	29,6±5,25	28,5±3,73	29,2±4,95	28,4±3,64	30,6±6
IMC madre	29,0±7,90	29,4±7,75	28,8±7,69	30,7±8,73	29,1±7,96	29,1±7,5	29,4±8,05	26,6±5,5
Acantosis	17/61	6/12	16/62	7/11*	17/60	6/13	18/65	5/8*
Cintura (cm)	79,7±7,42	88,7±9,88**	80,1±7,76	87,5±10,1**	79,8±7,48	88±9,84**	80,6±8,05	86,3±10,9
PAS (mmHg)	107±14,2	116±14,6	107±14,2	115±15,4	107±13,9	117±14,8*	108±13,8	118±17,6
PAD (mmHg)	63,4±8,28	63,4±8,89	63,2±8,06	64,5±9,95	63,2±8,25	64,1±8,92	63,3±8,05	63,8±10,8
Glucosa (mg/dL)	83,1±7,31	87,2±9,42	83,6±7,38	84,3±10,1	83,0±7,37	87±9,04	83,3±7,54	87,6±9,19
Gluc120 (mg/dL)	106±15,5	129±22,9**	107±16,4	125±24,4**	106±15,6	128±22,3**	107±16,3	134±21,4**
Insulina (µU/mL)	9,2±6,27	21,4±10 **	10,1±7,6	17,6±9,71**	9,24±6,32	20,3±10,4**	10,0±7,62	20,7±8,2**
AST (U/L)	24,2±5,28	22,9±6,51	23,9±5,45	24,3±5,88	24,2±5,32	22,8±6,24	23,8±5,53	25,1±5,19
ALT (U/L)	19,2±5,81	24,9±8,87*	19,0±5,61	26,3±8,9*	19,0±5,79	25±8,50**	19,1±5,61	28,3±9,18**
HOMA	1,92±1,38	4,75±2,40**	2,14±1,71	3,83±2,32**	1,93±1,39	4,50±2,47**	2,12±1,71	4,57±2,05**
Ct (mg/dL)	155±29,3	167±27,1	154±27,8	162±29,1	153±27,8	165±27,4	155±27,8	158±30,5
Tg (mg/dL)	59,2±26,1	146±48,1**	66,7±28,5	145±54,1**	65,2±27,9	140±50,5**	69,3±31,0	154±59,5**
cLDL (mg/dL)	88,1±24,4	103±23,9	92,7±23,9	97,5±26,3	91,9±23,9	100±24,8	93,6±24,0	92,6±26,5
cHDL (mg/dL)	58,4±14,6	40±7,99**	53,5±12,3	39,0±7,8**	53,7±12,4	39,9±7,66**	52,6±12,6	40,5±8,6**
Úrico (mg/dL)	4,11±0,89	4,17±0,62	4,12±0,88	4,16±0,63	4,13±0,89	4,1±0,64	4,13±0,87	4,05±0,67
<i>A-FABP</i> (ng/mL)	34,7±15,1	37,8±12,6	34,7±14,7	37,9±14,7	34,8±15,2	37±12,3	35,3±15,1	34,3±10,7
<i>RBP-4</i> (µg/mL)	10,5±3,57	11,1±2,42	10,5±3,54	11,3±2,45	10,6±3,6	11,03±2,35	10,4±3,47	12,1±2,36
<i>Lipocal-2</i> (ng/mL)	48,5±17,2	61,5±21,2*	49,0±16,9	59,9±24,3	48,9±17,1	58,8±22,5	49,8±17,6	57,4±24,7
<i>BDNF</i> (ng/mL)	60,2±41,5	45,2±35,3	60,9±42,2	40,1±24,5	60,8±41,6	43,4±34,4	60,1±41,8	38,4±24,

Para cualquier definición, los pacientes con SM tienen tendencia a ser algo más mayores ( $p=0,027-0,1$ ), tienen mayor perímetro de la cintura ( $p<0,001$ ) y tienen unas concentraciones plasmáticas superiores de glucosa en el minuto 120 del TTOG, insulina basal ( $p<0,001$ ), triglicéridos ( $p<0,001$ ), ALT ( $p<0,05$ ) e inferiores de cHDL ( $p<0,001$ ). Tienen tendencia a mostrar una presión arterial sistólica superior ( $p=0,022-0,069$ ) y unas concentraciones plasmáticas mayores de lipocalina-2 ( $p=0,025-0,19$ ). No había diferencias significativas en el IMC entre los pacientes obesos con SM y sin él. Tampoco se objetivaron diferencias significativas en el sexo, antecedentes familiares de diabetes tipo 2, IMC de los padres ni en las concentraciones plasmáticas de A-FABP, RBP-4 ni de BDNF en función de la presencia o no de SM.

El análisis de regresión logística con síndrome metabólico según Weiss como variable dependiente, mostró que los niños obesos con acantosis tenían más riesgo de presentar SM (OR=11,09; IC<sub>OR</sub>95%:1,21-101,2). No se evidenció diferencia de riesgo por sexo. Por cada unidad que aumentaba el HOMA tenían un riesgo 3,84 veces mayor de tener SM (OR=3,84; IC<sub>OR</sub>95%= 1,41-10,46) y por cada unidad que aumentaba la lipocalina-2 aumentaba el riesgo en un 6,6% (OR=1,066; IC<sub>OR</sub>95%= 1,004-1,131); así, al aumentar de cuartil la lipocalina-2, aumentaba el riesgo 2,96 veces (IC<sub>OR</sub>95%= 1,07-8,21). Al estratificar a los pacientes según el número de componentes de SM, las concentraciones plasmáticas de lipocalina-2 expresadas en media (SD) para aquéllos con 0, 1, 2, 3 y 4 componentes del SM fueron 27,6(7,5); 47,7(17,6); 46,5(16,6); 58,8(19,6) y 75,2(32,2) respectivamente.

Al analizar el riesgo de SM con la definición de Cook, se observó que por cada año que aumentaba la edad del niño, aumentaba el riesgo en 2,62 veces (OR=2,62; IC<sub>OR</sub>95%= 1,012-6,81).

El perímetro de la cintura era un factor predictor de presión arterial sistólica (beta 1,17 (IC 95%: 0,31-2,03)) independiente del IMC, pero



no del resto de componentes de SM, HOMA o de ALT (datos no mostrados). El IMC tampoco era predictor de SM.

Las concentraciones plasmáticas de ALT eran superiores en los pacientes con SM (OR=1,14; IC<sub>OR</sub>95%:1,02-1,28).

La prevalencia de SM en los pacientes obesos, independientemente de la definición utilizada, fue mayor en el cuartil superior de perímetro de la cintura ( $p < 0,05$ ), triglicéridos ( $p < 0,001$ ), insulina ( $p < 0,001$ ) y en el inferior de c-HDL ( $p < 0,05$ ) (figura 6a). Además fue mayor a partir del tercer cuartil de lipocalina-2 ( $p < 0,05$ ) (figura 6b).

Figura 6a. Prevalencia de síndrome metabólico (en tanto por 1), por cuartiles de perímetro de la cintura, triglicéridos, colesterol-HDL e insulina, utilizando diferentes definiciones (ver tabla 1) en nuestra población de estudio. sm=síndrome metabólico.

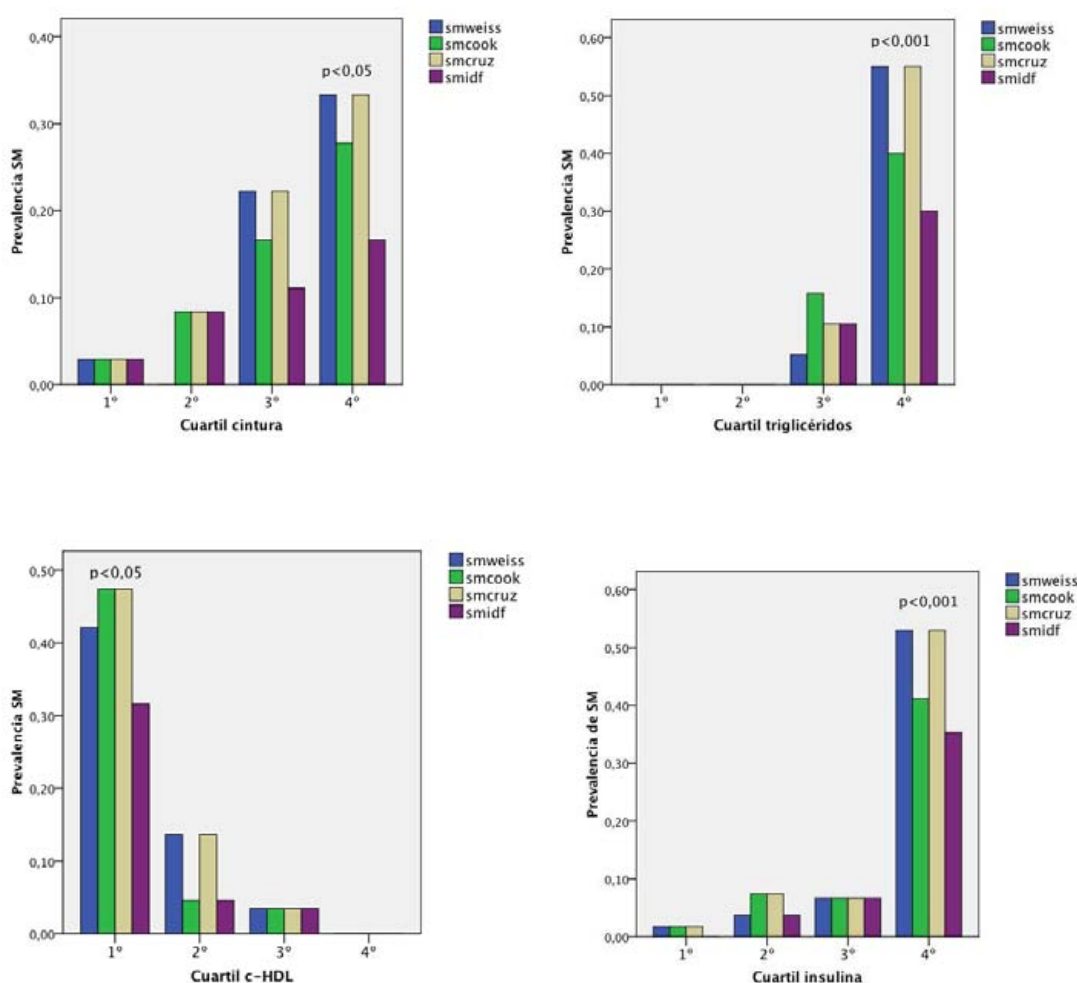
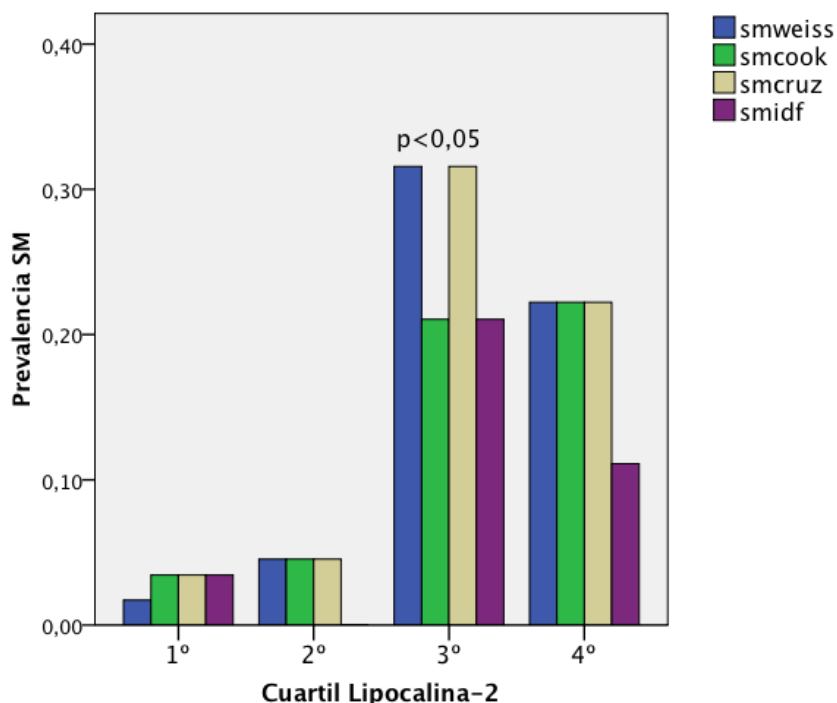


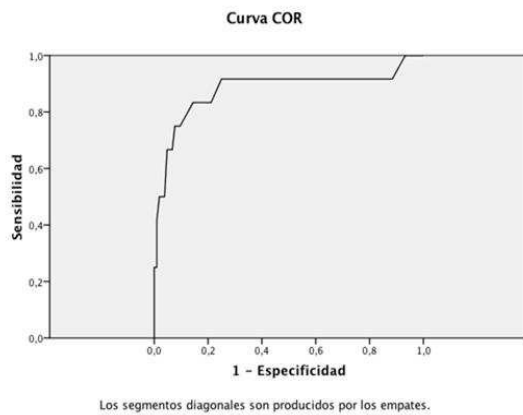
Figura 6b. Prevalencia de síndrome metabólico (en tanto por 1), por cuartiles de lipocalina-2, utilizando diferentes definiciones (ver tabla 1) en nuestra población de estudio. sm=síndrome metabólico.



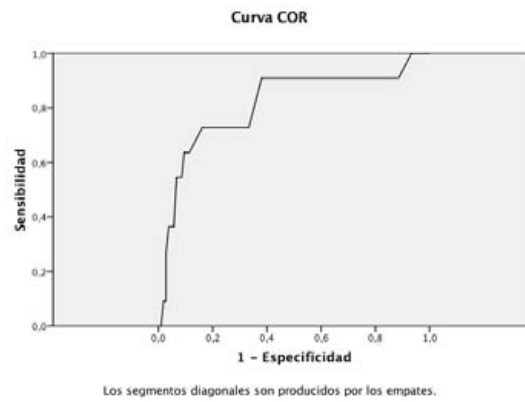
Al comparar el grupo de pacientes obesos sin SM con el grupo control se observaba que los obesos tenían mayor IMC y perímetro de la cintura, mayores concentraciones plasmáticas de insulina, triglicéridos, ácido úrico, A-FABP, lipocalina-2 y RBP-4 y menores de cHDL. Además los niños obesos sin SM mostraban acantosis con más frecuencia que los controles (27,8 vs 0%,  $p < 0,001$ ), tenían padres y madres con IMC superiores ( $p < 0,001$ ) y tenían tendencia a presentar más antecedentes familiares de diabetes tipo 2 (45,9 vs 22,7%,  $p = 0,086$ ).

La Figura 7 muestra la utilidad de la insulina en ayunas en identificar aquellos sujetos con síndrome metabólico. El área bajo la curva para insulina basal fue 0,811-0,90. El punto de corte 9,5  $\mu\text{U}/\text{mL}$  tiene una sensibilidad del 72,7-91,7% y una especificidad del 72,2-75% para detectar la presencia de síndrome metabólico, según la definición utilizada de SM.

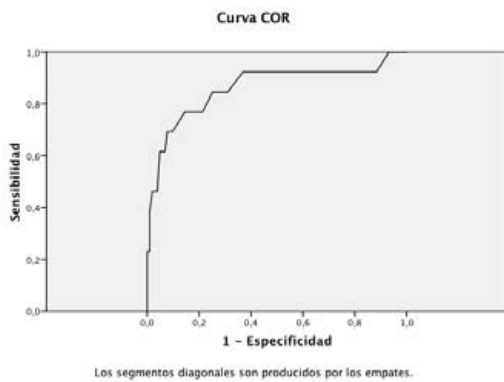
Figura 7. Área bajo la curva para síndrome metabólico por insulina basal aplicando diferentes definiciones de SM a nuestra población de estudio. Sens=sensibilidad, espec=especificidad. Los puntos de corte óptimos se ofrecen entre paréntesis.



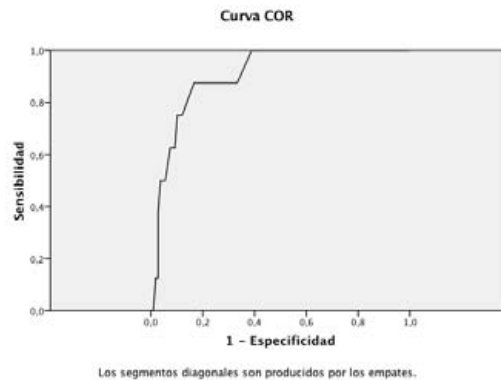
SMWeiss. AUC para insulina basal: 0,879  
(9,5  $\mu$ U/mL, sens 91,7%,espec 75%)



SMCook. AUC para insulina basal: 0,811  
(9,5  $\mu$ U/mL, sens 72,7%,espec 72,4%)



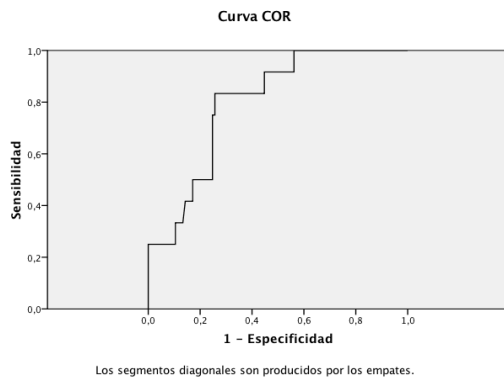
SMCruz. AUC para insulina basal: 0,862  
(9,5  $\mu$ U/mL, sens 84,6%,espec 74,8%)



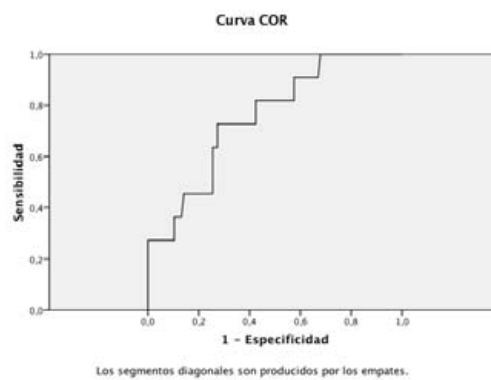
SMIDF. AUC para insulina basal: 0,904  
(9,5  $\mu$ U/mL, sens 87,5%,espec 72,2%)

La Figura 8 muestra la utilidad de lipocalina-2 en ayunas en identificar aquellos sujetos con síndrome metabólico. El área bajo la curva para lipocalina-2 basal fue 0,719-0,798 . El punto de corte óptimo varía de 38 a 49,8 ng/mL según la definición de SM utilizada.

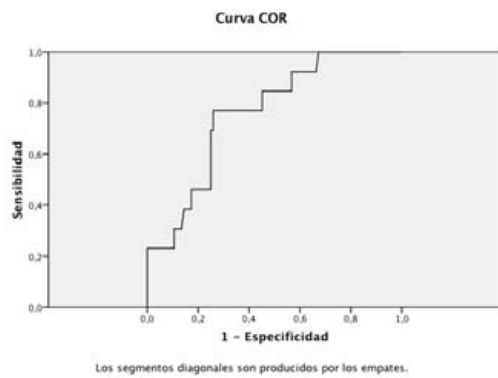
Figura 8. Área bajo la curva para síndrome metabólico por Lipocalina-2. Sens=sensibilidad, spec=especificidad. Los puntos de corte óptimos se ofrecen entre paréntesis.



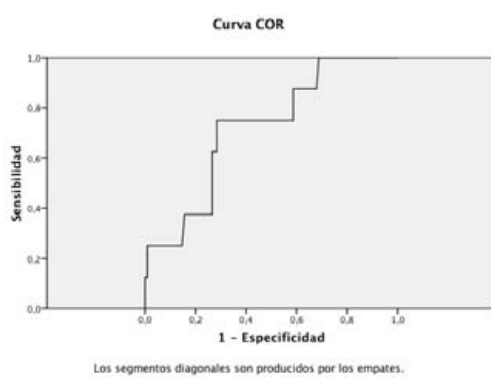
SMWeiss. AUC para lipocalina-2 basal: 0,798 (48,5 ng/mL, sens 83,3%, espec 71,4%)



SMCook. AUC para lipocalina-2 basal: 0,755 (38,7 ng/mL, sens 81,8%, espec 57,5%)



SMCruz. AUC para lipocalina-2 basal: 0,760 (48,03 ng/mL, sens 76,9%, espec 70,2%)



SMIDF. AUC para lipocalina-2 basal: 0,719 (49,8 ng/mL, sens 75%, espec 70,6%)

Uno de los pacientes presentó esteatosis hepática no alcohólica. Se trataba de un varón de padres delgados, con antecedentes de diabetes tipo 2 en un abuelo, que presentaba acantosis y cumplía criterios de SM (obesidad con  $z\text{-IMC}=3,6\text{SD}$ , hipertrigliceridemia y disminución de cHDL) para todas las definiciones descritas previamente. Tenía resistencia a la insulina (HOMA 2,47), no presentaba alteración del metabolismo de la glucosa y sus concentraciones de lipocalina-2 y de insulina estaban en el tercer cuartil (61ng/mL y 13  $\mu\text{U/mL}$  respectivamente). Con la intervención dietética y en el estilo de vida este paciente presentó una pérdida significativa de peso (de 3,64 a 3 SD de IMC), dejó de tener hipertrigliceridemia y disminución de cHDL y mostró una reducción en las concentraciones plasmáticas de RBP-4, lipocalina-2 y A-FABP. Los controles ecográficos seriados han mostrado una reducción en la EHNA y mantiene transaminasas normales. Este paciente refiere una disminución en el tiempo invertido cada día en ver la televisión (de 4 a 1,5 horas) y un aumento en el tiempo dedicado a caminar (de 20 a 45 minutos al día) y en el ejercicio extraescolar (de 0 a 2 horas a la semana).

De los pacientes con normopeso, 5 (10,6%) presentaban un factor de síndrome metabólico según Weiss, 14 (29,7%) según Cook, Ford y Cruz y 3 (6,3%) según la IDF. Ningún paciente con normopeso presentaba 2 o más factores de síndrome metabólico. La tabla 5 muestra el número de pacientes según el número de factores de síndrome metabólico para las distintas definiciones de SM.

Tabla 5. Número de pacientes según el número de factores de síndrome metabólico para las 5 definiciones usadas. PA: presión arterial, Tg: triglicéridos, cHDL: colesterol de lipoproteínas de alta densidad, AMG: alteración metabolismo de la glucosa.

		<b>Número de factores de SM</b>				
		<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Weiss</b>	obesos	0	73	22 12PA 5Tg 4chdl 1AMG	10 3PA 9Tg 6chdl 2AMG	2 1PA 2Tg 1chdl 2AMG
	controles	42	5 (3PA,1tg,1hdl)	0	0	0
<b>Cook/Ford</b>	obesos	3	70	28 18PA 2Tg 7chdl 1AMG	8 4PA 5Tg 6chdl 1AMG	3 2PA 3Tg 2chdl 2AMG
	controles	33	14 (1cintura, 11 PA, 1tg,1chdl)	0	0	0
<b>Cruz</b>	obesos	3	70	32 16PA 8Tg 8chdl 1AMG	9 3PA 7Tg 6chdl 2AMG	4 3PA 4Tg 3chdl 2AMG
	controles	33	14 (1 cintura, 9 PA,3tg,1chdl)	0	0	0
<b>IDF</b>	obesos	3	70	16 3PA 11chdl 2AMG	7 4PA 4Tg 2AMG	1 1Tg 1chdl 1AMG
	controles	44	3 (1 cintura, 1 Tg, 1chdl)	0	0	0

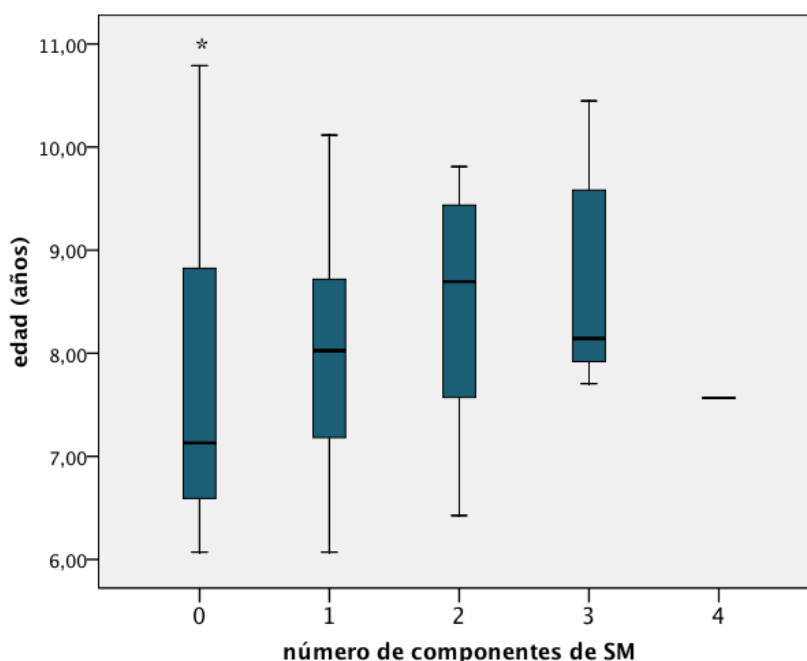
Una de las niñas presentaba un IMC +2SD según la población de referencia, pero sólo era catalogada de obesa con una de las definiciones de SM utilizadas. Esta paciente presentaba hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina y disminución de c-HDL.

La tabla 6 muestra la edad, sexo y grado de obesidad (z-IMC) según el número de factores de síndrome metabólico evaluado según la IDF. Los niños con 0 factores de riesgo son menores respecto a los que tienen 1 factor de riesgo ( $p=0,007$ ) (figura 9) y tienen un z-IMC menor ( $p<0,001$ ). No hubo diferencia de sexo significativa (Test exacto de Fisher =0,14 al comparar sexo entre grupo 0 y 1 e igual a 0,158 al comparar entre grupo 1 y 2).

Tabla 6. Edad, sexo y grado de obesidad (z-IMC) según el número de factores de síndrome metabólico evaluado según la IDF (los datos se presentan como mediana y rango intercuartil o porcentaje).

Número de factores de síndrome metabólico					
	0	1	2	3	4 o 5
<b>n</b>	45	49	16	7	1
<b>edad</b>	7,5 (7-9)	8,5 (7,5-9)	9 (8-9,87)	8,5 (8-10)	8
<b>sexo</b>	31,1% niñas	46,9% niñas	68,8% niñas	42,9% niñas	niña
<b>z-IMC</b>	-0,23 (-0,71-0,16)	4,33 (3,21-5,27)	4,68 (3,85-5,7)	4,27 (3,49-8,38)	3,29

Figura 9. Diagrama de cajas de la edad y el número de factores de síndrome metabólico según la IDF. \* $p<0,01$  entre 0 y 1 factor de SM.



#### 4. Riesgo cardiovascular: relación con el sexo, edad y grado de obesidad

El modelo lineal general no mostró correlación significativa entre el colesterol total con edad, sexo o grado de obesidad. Los triglicéridos eran menores en los varones y se correlacionaron positivamente con la edad y el grado de obesidad. El cLDL era menor en varones. El cHDL era mayor en varones y tenía correlación negativa con el grado de obesidad. La presión arterial sistólica aumentaba con el grado de obesidad. El índice de resistencia a la insulina HOMA aumentaba con la edad y con el grado de obesidad. (tabla 7)

Tabla 7. Modelo lineal general tomando colesterol total, triglicéridos, cLDL, cHDL, PAS, PAD y HOMA como variables dependientes y edad, sexo e IMC en z-score como variables independientes en cada modelo. Sexo femenino=referencia.

	<b>Sexo</b>		<b>Edad</b>		<b>z-IMC</b>	
	B(IC 95%)	p	B(IC95%)	p	B(IC95%)	p
Colesterol	-6,48(-17,3-4,39)	0,24	-0,72(-5,2-3,7)	0,75	-1,14(-3-0,78)	0,24
c-LDL	-9,9(-18,9- -0,86)	0,032	-1,51(-5,2-2,23)	0,42	0,97(-0,62-2,58)	0,22
c-HDL	6,43(147-11,4)	0,012	-1,32(-3,3-0,73)	0,2	-2,3(-3,1;-1,43)	<0,001
Tg	-14,47(-27,9- -1)	0,035	5,87(0,28-1,14)	0,04	4,52(2,14-6,9)	<0,001
PAS	-3,34(-8-1,37)	0,16	1,16(-0,79-3,11)	0,24	1,01(0,16-1,86)	0,02
PAD	-1,81(-5-1,41)	0,26	-0,03(-1,37-1,3)	0,96	0,21(-0,36-0,8)	0,46
HOMA	-0,30(-0,9-0,1)	0,119	0,276 (0,1-0,47)	0,015	0,37(0,28-0,46)	<0,001



## 5. Hábitos nutricionales y de actividad física

El consumo calórico medio y la distribución por macronutrientes de la dieta de nuestros pacientes se presenta en la tabla 8 y se ilustra en las figuras 10a y 10b.

Tabla 8. Cuantificación calórica y de macronutrientes en la población de estudio. Los datos se expresan en media±SD o en porcentaje de las calorías totales diarias.

\*p<0,05, \*\* p<0,01

	Niños		Niñas	
	Obesos	Controles	Obesos	Controles
Calorías (Kcal/día)	1818±320	2146±485*	1775±396	1854±309
Carbohidratos (gr/d)	193±49	230±51,6*	187±51,6	184±37,8
Carbohidratos (%)	42±6,24	43±4,10	42±4,87	40±5,85
Grasas (gr/d)	89,3±15,5	101±28,1	87,7±19,5	92,2±20,6
Grasas (%)	44,6±5,63	42,3±3,8	44,6±4,31	44,5±5,71
Saturadas (%)	11,5±1,8	12,7±1,41*	11,0±1,44	12,0±1,33*
Monoinsaturadas (%)	23,3±4,14	20,6±2,77*	23,2±3,61	22,7±4,84
Poliinsaturadas (%)	6,78±1,76	6,1±1,81*	7,49±2,74	6,76±1,85
Proteínas (gr/d)	64±12,5	83,1±17,7**	62,6±14,4	74,9±14,4*
Proteínas (%)	14,1±1,88	15,6±1,78*	14,1±1,56	16,2±2,03*
Colesterol (mg/día)	222±50	284±63,2**	205±42,6	256±34,9**
Fibra (gramos/día)	10,7±2,88	13,5±3,24**	10,8±2,85	12,7±2,3*

Figura 10a. Distribución del porcentaje de las calorías totales diarias de los tres grupos principales de macronutrientes.\*p<0,05 y \*\*p<0,01 entre obesos vs normopeso

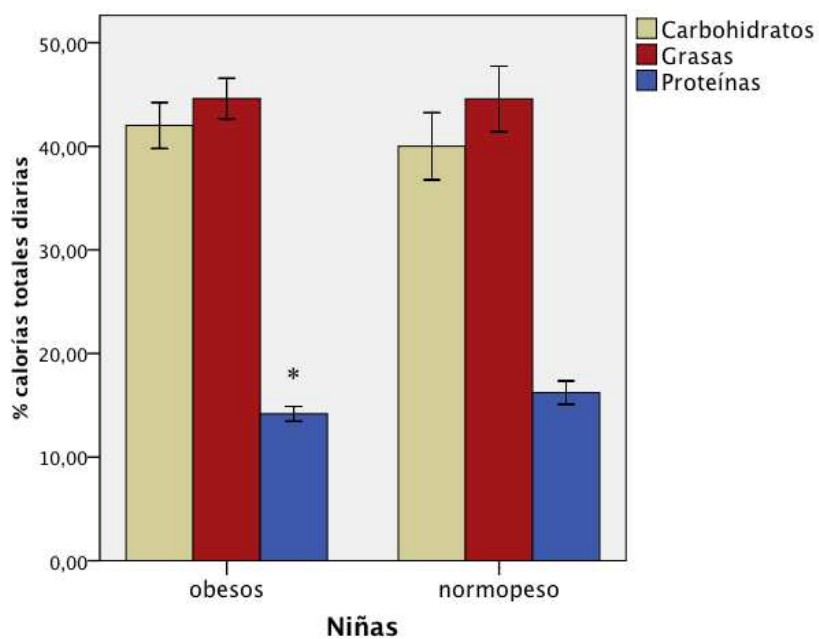
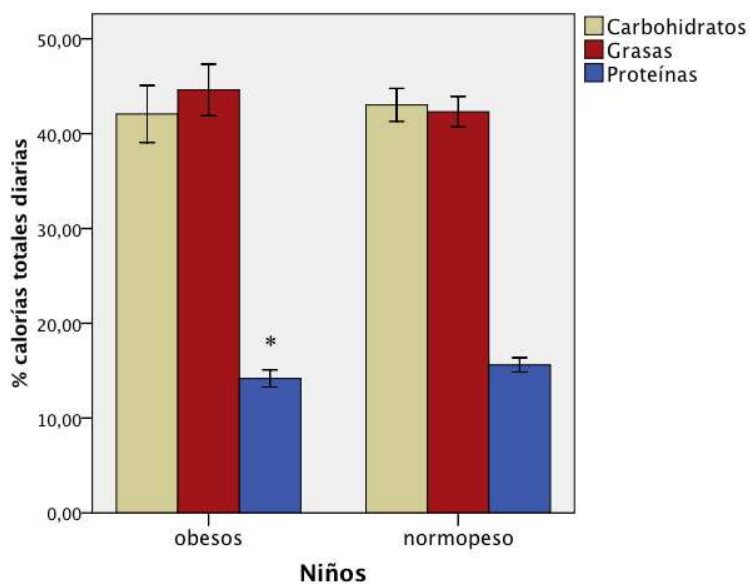
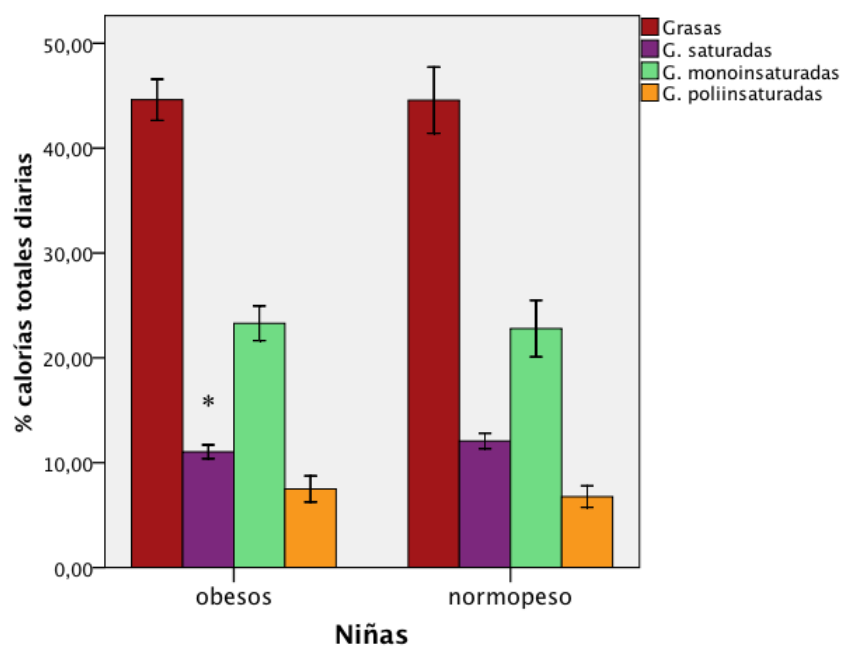
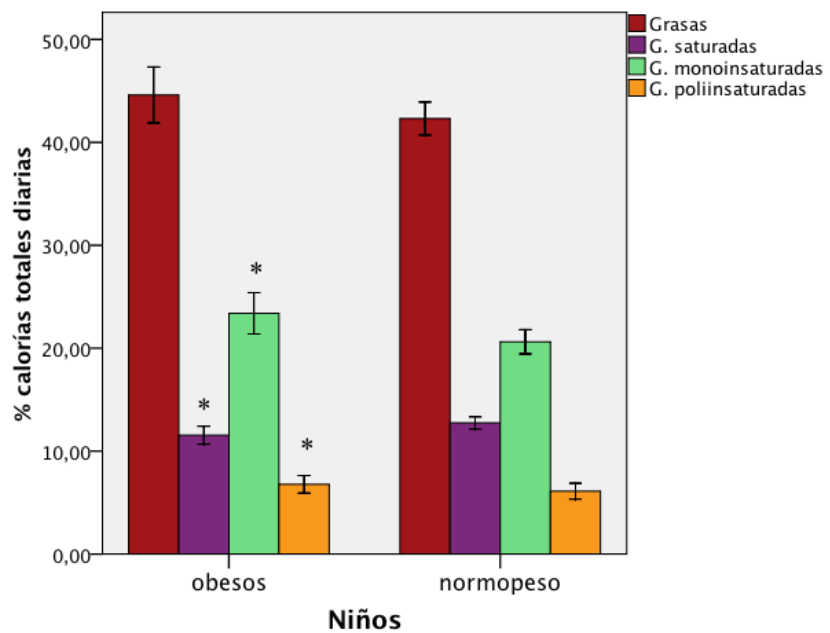


Figura 10b. Distribución del porcentaje de grasas de las calorías totales. \* $p < 0,05$  y \*\* $p < 0,01$  entre obesos vs normopeso



Las encuestas realizadas a los familiares mostraron una menor ingesta calórica en los niños obesos, con menor ingesta proteica y de colesterol respecto al grupo control. No hubo diferencias en el porcentaje de la ingesta de grasas totales. Los niños del grupo control comunicaban una mayor ingesta de grasas saturadas y una menor ingesta de grasas mono y poliinsaturadas, respecto a los niños obesos. Las niñas del grupo control referían una mayor ingesta de grasas saturadas, sin diferencias en las mono y poliinsaturadas, respecto a las niñas obesas. Los niños con normopeso consumían mayor cantidad de carbohidratos que los niños obesos, pero no las niñas. Los niños y niñas obesos consumían menos fibra que los controles con normopeso. En los niños obesos no había diferencia en el consumo calórico entre sexos, mientras que en los controles los niños consumían 300 Kcal/día más de media que las niñas ( $p=0,045$ ).

Tomando toda la muestra, la ingesta de grasas totales se correlacionó positivamente con la presencia de hipertensión arterial ( $\rho$  de Spearman=0,223,  $p=0,041$ ) y tenía tendencia a correlacionarse con resistencia a la insulina ( $\rho=0,20$ ,  $p=0,056$ ). Al tomar el grupo de obesos la correlación entre grasas totales y resistencia a la insulina fue ( $r=0,41$ ,  $p=0,008$ ) y desaparecía la correlación con la presión arterial. En el análisis de ingesta de vitaminas antioxidantes observamos que los niños obesos tenían tendencia a ingerir menos cantidad de carotenos ( $175\pm 93,7$  vs  $225\pm 151$ ;  $p=0,065$ ), sin mostrar diferencia en la ingesta de vitamina C ni E. No hallamos correlación entre la ingesta de vitamina A y RBP-4.

No hemos hallado correlación entre la ingesta de macronutrientes ni subtipos de grasas con las concentraciones de A-FABP, RBP-4 ni lipocalina-2 en los varones obesos de nuestro estudio.

En las niñas obesas se objetivó una correlación positiva medida con la rho de spearman, entre A-FABP y la ingesta de calorías totales ( $r=0,49$ ), grasas totales ( $r=0,43$ ), grasas saturadas ( $r=0,49$ ), omega-3 ( $r=0,52$ ) y proteínas ( $r=0,53$ ). Además en niñas obesas la ingesta de grasas saturadas se correlacionaba de forma positiva con RBP-4 ( $r=0,437$ ) y la de fibra de forma negativa con BDNF ( $r=-0,45$ ). Todas las correlaciones eran a un nivel de significación  $<0,05$ .

En los varones del grupo control tan sólo se halló correlación entre la ingesta de grasas monoinsaturadas y RBP-4 ( $r=0,371$ ;  $p=0,04$ ).

En las niñas del grupo control no existía correlación entre las lipocalinas y BDNF con ninguno de los macronutrientes.

En cuanto a la forma de comer, los niños obesos comen más rápido tanto subjetivamente (el 81,9% de los obesos comen rápido vs 25,5% de controles según la valoración paterna) ( $p<0,001$ ) como objetivamente ( $16,1\pm 9,44$  vs  $32,1\pm 14,2$  minutos), comiendo en el 50% del tiempo que los niños del grupo control ( $p<0,001$ ). El 72,6% de los niños obesos referían comer delante de la TV frente al 55,3% de los controles ( $p=0,089$ ). No encontramos diferencias en el lugar en que comen al mediodía ( $p=0,096$ ).

Los hábitos de actividad física y de sedentarismo se presentan en la tabla 9.

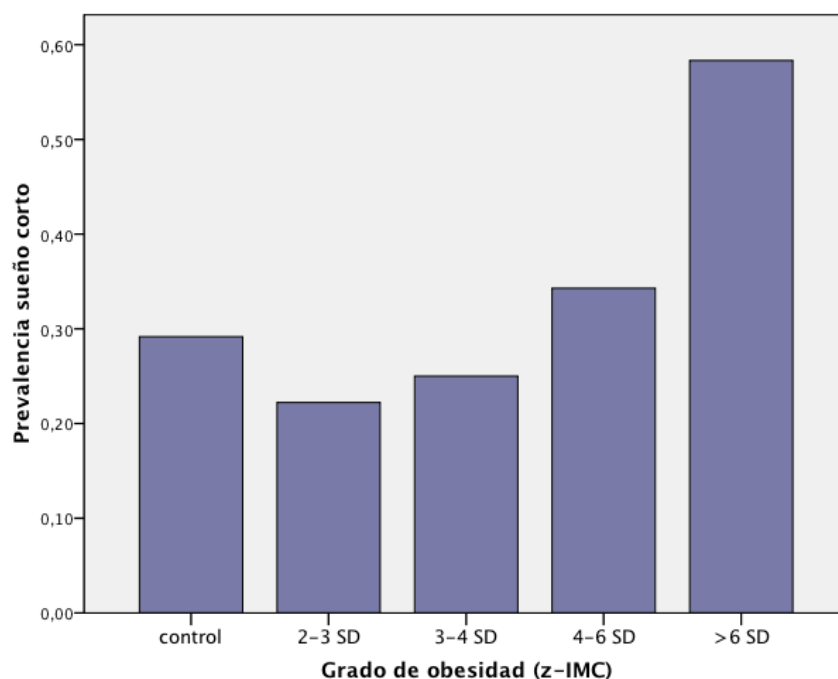
Tabla 9. Actividad física y sedentarismo. \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$

	Niños		Niñas	
	Obesos	Controles	Obesas	Controles
TV/día (horas)	1,94±1,04	1,47±0,67*	1,95±0,98	1,07±0,59**
Videojuego/día (horas)	0,57±0,74	0,57±0,34	0,26±0,34	0,22±0,26
Deporte extraescolar (horas/s)	1,87±1,58	2,62±2,07	1,78±1,39	1,9±1,12
Caminar (minutos/día)	24,2±17,3	28,0±18,1	33,3±18,5	24,06±12,8

Los niños del grupo control tienen tendencia a realizar más ejercicio extraescolar ( $p=0,072$ ). No hallamos diferencias en cuanto al tiempo de deporte escolar ni en el dedicado a caminar. En lo que refiere a parámetros de sedentarismo, constatamos que los niños obesos invierten 45-90 minutos más al día en ver la TV respecto al grupo control ( $p<0,001$ ). No hemos observado diferencias en el tiempo diario dedicado a consolas.

En referencia a hábito de descanso, no observamos diferencias en las horas de sueño diarias cotidianas comparando a los obesos con los controles. Si estratificábamos por grado de obesidad observamos que aquellos pacientes con mayor grado de obesidad ( $z\text{-IMC} >6\text{SD}$ ) tenían tendencia a presentar más frecuentemente sueño corto (definido como  $<10$  horas al día) que el grupo control ( $p= 0,056$ ), y que los obesos con  $z\text{-IMC}$  en 2-3SD ( $p=0,083$ ), o 3-4SD ( $p= 0,065$ ) (figura 11).

Figura 11. Prevalencia de sueño corto en función del grado de obesidad.



## 6. Evolución a los dos años de los pacientes obesos

De los 73 pacientes obesos, 6 abandonaron el estudio, 2 iniciaron tratamientos con psicotropos y otros 3 se trasladaron fuera de Cataluña. De los que continuaron hasta el final (n=62), 31 presentaron una reducción del z-IMC en al menos 0,5SD. De ellos, sólo uno pasó a normopeso. De los que perdieron peso, el 62% (n=18) siguieron teniendo obesidad según los criterios de Cole y el 37,9% (n=12) pasaron a tener sobrepeso.

En la tabla 10 se presentan las características de los pacientes en el momento basal y a los dos años de seguimiento.

Tabla 10. Características de los pacientes obesos en el momento basal y a los 2 años de seguimiento. ns= no significativo.

	<b>Basal</b>	<b>A los 2 años</b>	<b>Cambio</b>	<b>p</b>
N	73	62		
Sexo	36 niños/37 niñas	30 niños/32 niñas		
Edad (años)	8,04±1,08	10,09±1,15	2,04±0,24	<0,001
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,6±3,09	27,4±3,65	1,07±2,44	0,001
z-IMC (SD)	4,77±1,68	4,19±1,75	-0,44±1,05	0,002
Cintura (cm)	81,3±8,5	85,6±9,64	5,68±8,98	<0,001
z-cintura	2,57±1,00	2,35±1,12	-0,086±1,0	0,51
PAS (mmHg)	108±14,46	109±10,3	-0,38±14,2	0,85
z-PAS	0,50±1,41	0,23±0,95	-0,32±1,35	0,10
PAD (mmHg)	63,3±8,35	65±10,0	2,12±13,04	0,25
z-PAD	-0,01±1,11	-0,03±1,27	0,04±1,67	0,86
Glucosa (mg/dL)	83,8±7,83	88,5±7,92	4,77±8,86	<0,001
Glucosa 120 min	110±18,8	111±15,6	0,23±23,7	0,94
Insulina (µU/mL)	11,3±8,41	14,7±8,37	4,26±8,9	<0,001
HOMA	2,41±1,92	3,32±2,08	1,13±2,16	<0,001
Colesterol (mg/dL)	155,6±28,1	161,1±29,0	4,56±23,0	0,125
z-colesterol	-0,78±0,85	-0,59±0,87	0,16±0,71	0,078
Triglicéridos (mg/dL)	79,0±43,9	87,5±42,7	10,3±42,7	0,06
z-triglicéridos	0,9±1,71	0,92±1,39	0,11±1,59	0,57
cLDL (mg/dL)	93,5±24,3	93,6±24,4	-0,48±17,5	0,82
z-cLDL	-0,39±0,68	-0,36±0,70	0,008±0,49	0,89
cHDL (mg/dL)	51,3±12,9	51,7±14,05	-0,39±11,5	0,79
z-cHDL	-0,57±1,10	-0,49±1,22	0,003±1,07	0,97
Ácido úrico (mg/dL)	4,12±0,85	4,42±0,86	0,35±0,75	0,001
A-FABP (ng/mL)	35,2±14,6	27,56±12,6	-7,26±13,3	<0,001
RBP-4 (µg/mL)	10,46±3,49	8,24±2,15	-2,21±3,95	<0,001
Lipocalina-2 (ng/mL)	50,7±18,4	51,6±19,5	1,09±26,9	0,754
BDNF (ng/mL)	57,7±40,7	77,1±70,56	18,5±71,0	0,048
Prevalencia de SM				
Weiss et al (49)	12/73 (16,4%)	9/62 (14,5%)		ns
Cook et al (259)	11/73 (15%)	9/62 (14,5%)		ns
Ford et al (260)	11/73 (15%)	9/62 (14,5%)		ns
Cruz et al (261)	13/73 (17,8%)	13/62 (20,9%)		ns
IDF (62)	8/73 (10,9%)	4/62 (6,4%)		ns

Al analizar el grupo de pacientes obesos en su conjunto observamos que a los dos años de seguimiento el z-IMC había disminuido en 0,44 unidades sin modificarse el z-score del perímetro de la cintura. La glucemia basal había ascendido 4,8 mg/dL de media , sin modificarse la glucosa a los 120 minutos del TTOG. La insulina era mayor y también el HOMA. Los triglicéridos tenían tendencia a aumentar y el ácido úrico era mayor.

No observamos un cambio significativo en la prevalencia de SM en los niños de nuestra cohorte, a los dos años de seguimiento, para ninguna de las definiciones.

Las concentraciones plasmáticas de A-FABP y RBP-4 habían descendido a los dos años de la intervención y el BDNF había aumentado. Lipocalina-2 no se modificó.

La tabla 11 muestra las características de los pacientes obesos en función de la pérdida de peso ( $>0,5SD$  de z-IMC) a los dos años de la intervención. Se muestra la tasa de variación para cada variable evaluada.



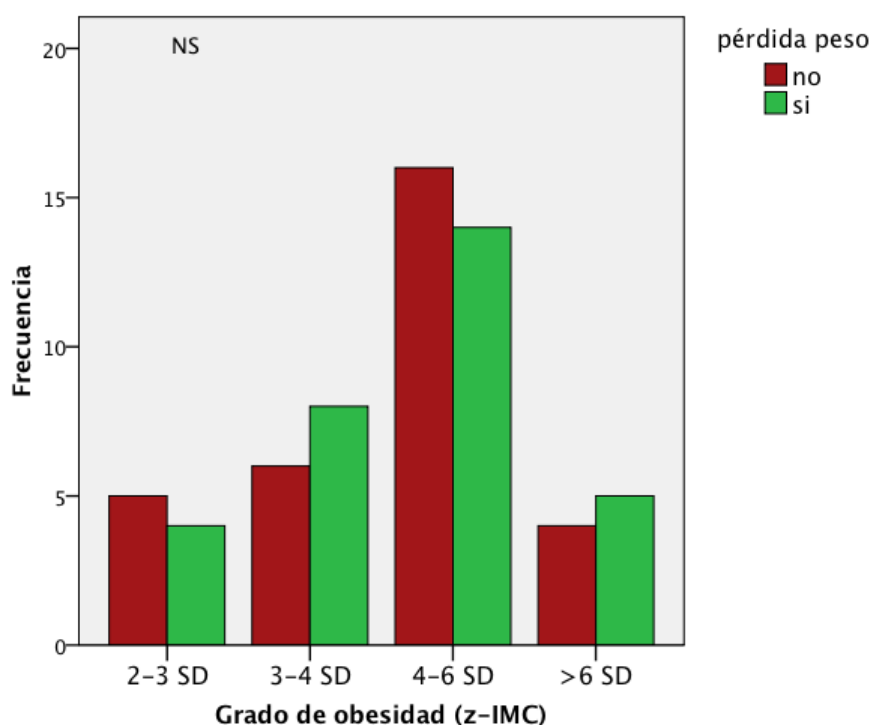
Tabla 11. Características de los pacientes obesos a los 2 años de seguimiento según la pérdida de peso.

	Sin ↓ peso			Con ↓ peso			p de la variable Tasa
	Basal	2 años	Tasa (%)	Basal	2 años	Tasa (%)	
N	31	31		31	31		
Sexo	15 niños/16niñas			15 niños/16 niñas			
Edad (años)	7,6±1,01	9,91±1,11 <sup>&amp;&amp;</sup>		8,4±1,03**	10,42±1,08 <sup>&amp;&amp;</sup>		
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,09±2,7	28,8±3,35 <sup>&amp;&amp;</sup>	10,58±7,71	26,55±2,78	25,9±3,34 <sup>&amp;</sup>	-2,35±6,13	<0,001
z-IMC (SD)	4,68±1,63	5,02±1,72 <sup>&amp;</sup>	9,52±24,79	4,57±1,32	3,35±1,31 <sup>&amp;&amp;</sup>	-27,9±14,8	<0,001
Cintura (cm)	78,4±7,1	87,5±10,6 <sup>&amp;&amp;</sup>	11,7±11,5	81,5±6,44*	83,6±8,26	3,06±9,17	0,002
z-cintura	2,43±0,9	2,69±1,19	17,09±45,2	2,52±0,9	2,04±0,9 <sup>&amp;&amp;</sup>	-15,6±31,6	0,002
PAS (mmHg)	111,8±16,1	111±8,8	0,63±15,9	107±12,4	108±11,4	1,79±12,6	0,773
PAD (mmHg)	64,1±8,58	69,5±9,61	9,5±21,2	61,9±8,77	61,7±9,14	2,05±23,8	0,252
Glucosa (mg/dL)	83,9±6,72	88,5±7,16 <sup>&amp;&amp;</sup>	6,06±10,67	84,2±7,57	88,4±8,87 <sup>&amp;</sup>	5,47±10,5	0,829
Glucosa 120min	110±21,5	112±16,7	5,46±26,1	112±16,7	110±14,9	0,39±18,6	0,394
Insulina (μU/mL)	10,1±6,43	15,3±6,51 <sup>&amp;&amp;</sup>	124±216	10,5±8,35	14,03±9,89	450±1947	0,374
HOMA	2,13±1,37	3,40±1,52 <sup>&amp;&amp;</sup>	152±284	2,24±1,97	3,23±2,51 <sup>&amp;</sup>	547±2340	0,371
Colesterol (mg/dL)	155±32,1	160±30,1	4,47±13,6	157±25,5	161±28,1	4,02±16,5	0,907
Triglicéridos (mg/dL)	66,1±20,6	85,6±38,0 <sup>&amp;&amp;</sup>	35,2±56,8	83,4±48,3	86±44,4	20,9±83,8	0,437
cLDL (mg/dL)	92,1±29,1	92,2±28,6	2,24±18,8	95,8±19,6	94,8±20,3	0,36±17,5	0,685
cHDL (mg/dL)	55,1±12,4	53,2±12,9	-0,76±22,4	49,8±13,5	50,7±15,2	3,36±26,0	0,506
Ácido úrico (mg/dL)	4,26±0,80	4,68±0,87 <sup>&amp;&amp;</sup>	10,7±14,9	3,83±0,82*	4,12±0,75	11,2±27,3	0,932
A-FABP (ng/mL)	32,3±10,5	31,2±10,3	-0,5±27,8	37,3±18,4	24,4±13,9 <sup>&amp;&amp;</sup>	-29,5±24,3	<0,001
RBP-4 (μg/mL)	10,21±3,46	8,12±2,18 <sup>&amp;&amp;</sup>	0,13±102	10,6±3,60	8,48±2,04 <sup>&amp;&amp;</sup>	-16,04±22,83	0,397
Lipocalina-2 (ng/mL)	52,8±19,4	52,7±15,1	16,1±64,6	48,4±18,4	50,7±23,4	18,7±63,07	0,875
BDNF (ng/mL)	56,8±39,3	74,3±33,1	98,6±181	61,4±46,8	83,1±94,7	70,8±143	0,537
Prevalencia de SM							
Weiss et al (49)	2/31	3/31		7/31	6/31		
Cook et al (259)	3/31	3/31		5/31	6/31		
Ford et al (260)	3/31	3/31		5/31	6/31		
Cruz et al (261)	3/31	5/31		7/31	8/31		
IDF (62)	3/31	1/31		3/31	3/31		

Basal con pérdida de peso vs sin pérdida de peso (t-test muestras independientes) (\*p<0,05 ,\*\*p<0,01). T-test para datos apareados a los dos años (&p<0,05, && p<0,01

En el momento basal, el grado de obesidad no era diferente entre los que perdieron peso y los que no (figura 12).

Figura 12. Grado de obesidad en el momento basal en los pacientes que perdieron peso vs los que no.



Los pacientes que perdieron peso eran más mayores al iniciar el estudio ( $8,4 \pm 1,03$  vs  $7,6 \pm 1,01$  años,  $p = 0,033$ ), tenían un perímetro de la cintura mayor ( $p = 0,044$ ) pero no del z-score de la cintura y unas concentraciones plasmáticas de ácido úrico menores ( $p = 0,033$ ). Tenían tendencia a mostrar unas concentraciones plasmáticas mayores de triglicéridos ( $p = 0,066$ ). No había diferencias en el peso y longitud al nacer, ni en el IMC de los padres ( $28,74 \pm 3,38$  vs  $28,63 \pm 4,01$ ,  $p = 0,913$ ) o de las madres ( $30,03 \pm 9,5$  vs  $28,26 \pm 5,71$ ,  $p = 0,381$ ) ni en las concentraciones plasmáticas de A-FABP, lipocalina-2, RBP-4 ni BDNF en el momento basal. Tampoco hubo diferencias en el número de pacientes que habían iniciado la pubertad durante el período de

seguimiento: de 27 pacientes que habían entrado en pubertad 13 no perdieron peso y 14 sí.

El test exacto de Fisher no evidenció diferencias en la prevalencia de SM en el momento basal ni a los dos años según la pérdida de peso.

Además observamos que los pacientes que no habían perdido peso tenían unas concentraciones plasmáticas de glucosa en ayunas, triglicéridos, ácido úrico y HOMA superiores, así como una tendencia a tener mayor presión arterial diastólica a los dos años ( $p=0,06$ ). En cambio, los pacientes que habían perdido peso no mostraron un aumento significativo en la insulina, triglicéridos, ácido úrico ni presión arterial diastólica aunque sí se apreciaba un aumento de la glucosa basal y del HOMA. Por otro lado los pacientes que habían perdido peso mostraron una disminución de la cintura medida en z-score y de las concentraciones circulantes de A-FABP. RBP-4 disminuyó en ambos grupos y BDNF tenía tendencia a aumentar también en los dos grupos, aunque no alcanzaba la significación estadística. Lipocalina-2 no se modificó.

Al analizar la tasa de variación observamos que una pérdida de peso del 2% de IMC asoció una reducción en el z-IMC del 27%, en z-cintura del 15,6% y en A-FABP del 29%.

Las figuras 13a y 13b muestran las lipocalinas y BDNF en el momento basal y a los dos años de evolución.

Figura 13a. A-FABP y RBP-4 medias en el momento basal y a los dos años de intervención en función de la pérdida de peso.

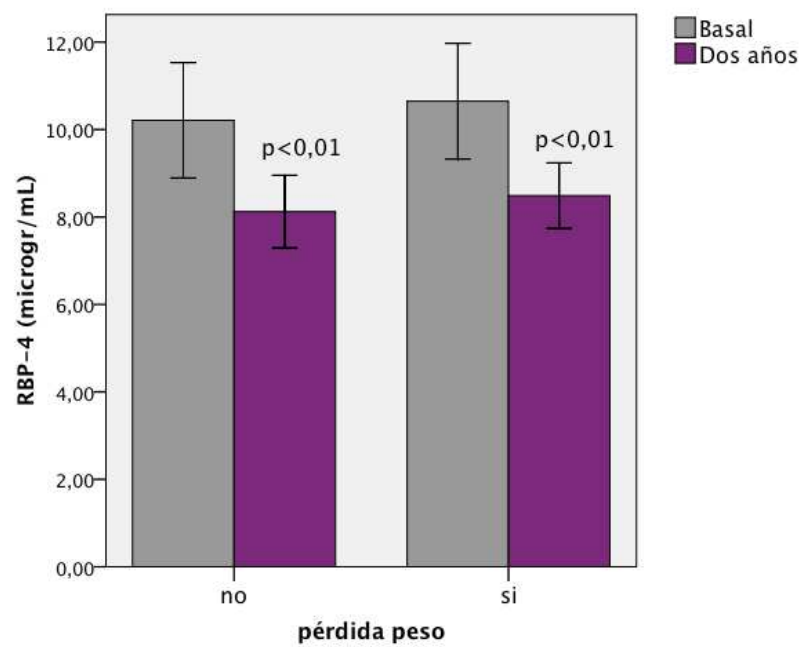
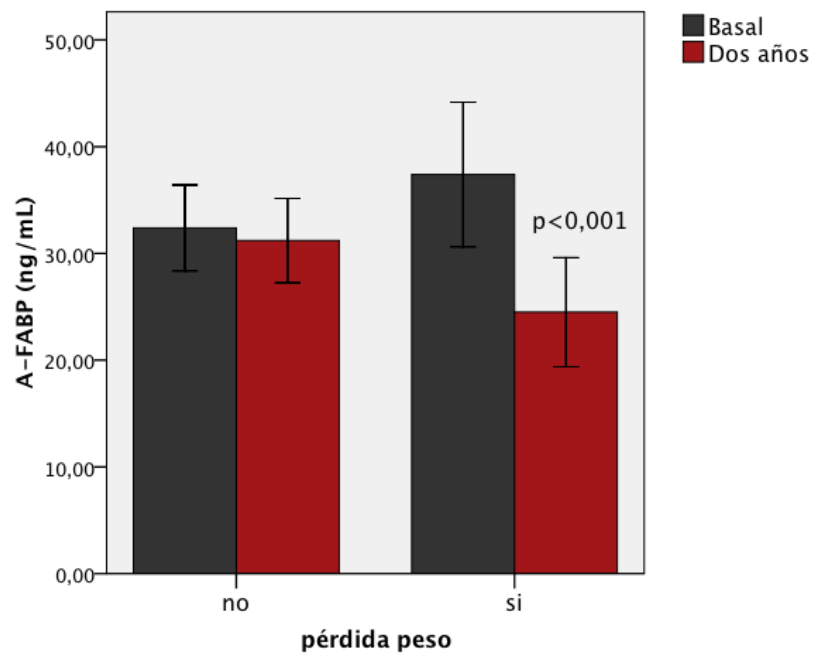
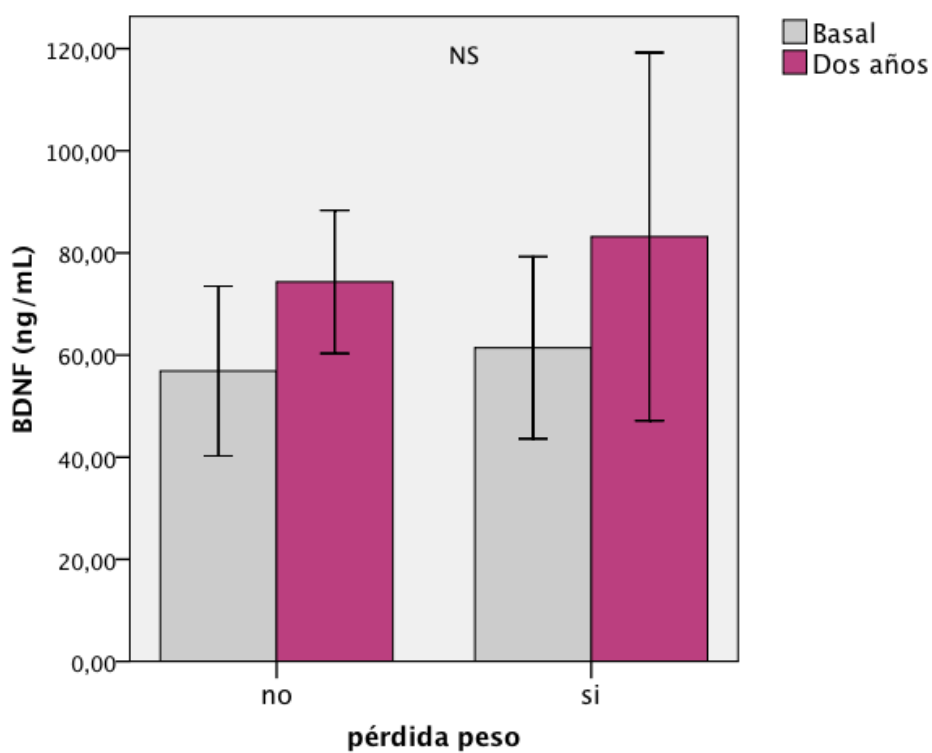
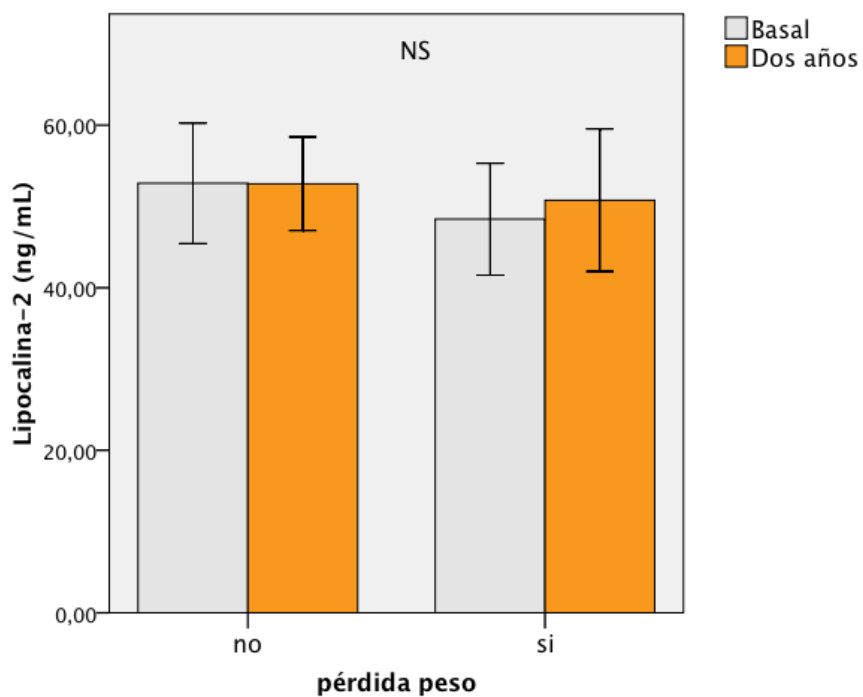


Figura 13b. Lipocalina-2 y BDNF medias en el momento basal y a los dos años de intervención en función de la pérdida de peso.



De los 5 pacientes que presentaban alteración en el metabolismo de la glucosa (AMG) al iniciar el estudio, ésta se normalizó en los 4 que tenían intolerancia a la glucosa en el TTOG (ITG) y persistió en el que sólo tenía alteración de la glucosa en ayunas (AGA). En 3 pacientes que inicialmente no mostraban AMG, apareció ITG en 2 de ellos y AGA en 1 de ellos (tabla 12).

Tabla 12. Evolución de la alteración del metabolismo de la glucosa en nuestra población de estudio. Gluc0 y Gluc120=glucosa en el minuto 0 y 120 del TTOG respectivamente.

Paciente	Basal			Dos años		
	z-IMC	Gluc0	Gluc120	z-IMC	Gluc0	Gluc120
Id 13	4,27	92	150	3,84	96	112
Id 48	4,62	101	110	3,23	116	138
Id 49	7,42	98	151	6,34	99	91
Id 54	3,3	101	160	2,73	86	111
Id 72	3,5	74	164	3,11	84	109
Id 3	5,26	95	106	4,89	89	142
Id 28	5,94	81	123	5,8	96	144
Id 32	4,11	75	95	5,21	101	104

A los dos años de seguimiento el HOMA seguía manteniendo correlación con todos los parámetros de síndrome metabólico, con BDNF ( $r=0,377$ ,  $p=0,006$ ) y con A-FABP ( $r=0,25$ ,  $p=0,053$ ). No se correlacionaba con lipocalina-2 ni RBP-4.

BDNF se correlacionó con HOMA ( $r=0,377$ ,  $p=0,006$ ), insulina basal ( $r=0,335$ ,  $p=0,014$ ), glucosa basal ( $r=0,282$ ,  $p=0,041$ ) y RBP-4 ( $r=0,27$ ,  $p=0,047$ ).

A-FABP se correlacionó con el IMC ( $r=0,437$ ,  $p<0,001$ ), perímetro de la cintura ( $r= 0,272$ ,  $p=0,036$ ), insulina basal ( $r=0,285$ ,  $p=0,026$ ) y HOMA.

El modelo de regresión logística con SM a los dos años como variable dependiente y sexo, edad, presencia de SM en el momento basal y HOMA como variables independientes, mostró que para la definición de Weiss y la de Cruz, el tener SM en el momento inicial confería un riesgo 9,95 y 7,51 veces mayor de tener SM a los 2 años (OR=9,95; IC<sub>OR</sub>95%:1,23-80,0) y (OR=7,51;IC<sub>OR</sub>95%:1,04-54,1) respectivamente. Para la definición de Cook cada año de edad tendía a doblar el riesgo (OR=2,22; IC<sub>OR</sub>95%:0,93-4,35) sin verse afectado por la presencia de SM en el momento basal. Ninguno de los parámetros predecía la presencia de SM según la IDF a los 2 años.

El modelo lineal general tomando edad, IMC, HOMA y proteína en el momento basal como variables independientes, y sexo y reducción de peso como factores fijos, mostró que A-FABP se modificaba en función de A-FABP inicial (beta=0,48 (IC95%: 0,25-0,7)), era mayor en los que no habían perdido peso (beta=6,81 (IC95%: 0,096-13,5)) y tenía tendencia a modificarse con el IMC (beta=0,91 (IC 95%: -0,08-1,91)). RBP-4 y lipocalina-2 no se modificaban. BDNF tenía tendencia a modificarse por el HOMA (beta=10,60 (IC95%: -0,84-22)), independientemente del IMC.

La valoración a los dos años de los cambios en actividad física y hábitos sedentarios de los pacientes que perdieron peso vs los que no se muestra en la tabla 13.

Tabla 13. Hábitos de actividad física y sedentarismo en el momento basal y a los dos años de intervención.\*p<0,05

	Sin pérdida peso		Con pérdida peso	
	Basal	Dos años	Basal	Dos años
TV/ día (horas)	1,87±0,89	1,56±0,92	1,94±1,05	1,59±0,88
Videojuego/ día (horas)	0,29±0,33	0,46±0,44*	0,46±0,54	0,46±0,44
Deporte extraescolar (horas/s)	2,14±1,45	2,31±2,65	1,73±1,46	2,65±1,93*

El análisis de muestras apareadas mostró que los pacientes que no habían perdido peso habían aumentado el tiempo invertido en videojuegos, mientras que los que habían perdido peso habían incrementado las horas de deporte extraescolar sin aumentar el tiempo de TV ni de videojuegos. No hubo cambio en las horas de sueño en el día cotidiano, en los minutos invertidos en caminar al día, en las horas de deporte en horario escolar ni en el tiempo dedicado a comer (datos no mostrados). La prevalencia de sueño corto entre los pacientes que perdieron peso tendía a ser superior a la de aquéllos que no perdieron peso (58,6% vs 33,3% respectivamente,  $p=0,058$ ).



## DISCUSIÓN

Este estudio se ha realizado en una población infantil muy homogénea. Todos son pacientes de etnia caucásica, de 6-10 años de edad y prepuberales, controlados en la Unidad de Endocrinología Pediátrica de nuestro hospital. Diseñamos el estudio en base a una población prepuberal para evitar la influencia de la pubertad en los parámetros de resistencia a la insulina (262) y por ser el grupo de edad menos explorado en estudios previos. También por tratarse de una población *naïve* en cuanto a otros factores de riesgo cardiovascular (como el tabaquismo) o a medicación concomitante. Debido a que la aparición de las lesiones ateroscleróticas se inicia ya en edades muy precoces de la vida (104), nos pareció un grupo de edad muy interesante en el que evaluar marcadores circulantes de alto riesgo durante esta fase asintomática de la enfermedad, cuando los cambios endoteliales podrían aún ser reversibles.

Este estudio es, según nuestro conocimiento, el primer estudio longitudinal de dos años de duración, que evalúa la asociación entre lipocalinas (RBP-4, lipocalina-2, A-FABP) y BDNF con parámetros del síndrome metabólico en un grupo de niños prepuberales tras una intervención dietética y en el estilo de vida.

La pérdida de pacientes a lo largo del estudio fue tan sólo de un 15%, lo que se considera un éxito en un estudio longitudinal de dos años de duración.

### 1. Síndrome Metabólico

En nuestra población de 120 niños, hemos aplicado y comparado 5 definiciones pediátricas de síndrome metabólico, usadas previamente en evaluar las relaciones entre resistencia a la insulina, obesidad abdominal y biomarcadores inflamatorios de enfermedad cardiovascular (49, 62, 259-261).

Nuestros hallazgos muestran que la **obesidad** es la fuerza conductora del síndrome metabólico, ya que la prevalencia de SM fue

sustancialmente mayor en los niños obesos (11-17,8%) respecto a los niños con normopeso (0%), independientemente de la definición utilizada, en concordancia con estudios previos (49, 132). Además, el componente de obesidad, ya sea evaluado por IMC o por perímetro de la cintura, fue el rasgo de SM más frecuente.

Los pacientes obesos tenían mayor carga genética de diabetes tipo 2 y mayor obesidad parental que los controles, lo que empeora el pronóstico de su obesidad. La acantosis confería un riesgo mayor de tener SM, aunque también era mucho más frecuente en aquellos obesos sin SM, por lo que no puede utilizarse como único marcador predictor de SM. Los niños obesos tenían un riesgo 24 veces mayor de presentar resistencia a la insulina respecto a los niños con normopeso, 9,85 veces más riesgo de tener los triglicéridos elevados, 3,75 veces hipertensión arterial y una tendencia a mostrar concentraciones plasmáticas menores de cHDL. Por otro lado no hallamos mayor riesgo de tener el colesterol total elevado en los niños obesos. Además, no pudimos calcular la OR de tener un c-LDL elevado en el grupo de obesos porque ningún niño del grupo control lo tenía elevado. De todas formas, nuestros resultados confirman que los niños obesos tienen mayor riesgo cardiovascular respecto a los niños con normopeso.

Al igual que en adultos (69), es conocida la importancia de evaluar la **obesidad abdominal**, además de la global, para evaluar los riesgos de salud en niños y adolescentes (66). En nuestra cohorte de niños obesos, el perímetro de la cintura se correlacionó con todos los parámetros de SM, con el HOMA-IR y con el A-FABP. Además, la prevalencia de SM fue mayor en el cuartil superior de perímetro de la cintura. Sin embargo, la obesidad, evaluada por IMC o por perímetro de la cintura no era un buen predictor de SM. Este es un hallazgo clínicamente relevante que está en la línea de otros estudios realizados (263) y que implica la necesidad de evaluar los diferentes factores de riesgo metabólico para definir una categoría de riesgo en los niños obesos.

La **prevalencia** global de síndrome metabólico (11-17,8%) coincide con lo identificado por otros autores españoles (76) y en otros países europeos (264, 265), aunque es menor que la prevalencia en niños obesos norteamericanos (259). En Europa, algunos estudios que han utilizado la definición de la OMS de SM adaptada para niños, han mostrado prevalencias del 33% en niños ingleses y del 27% en niños turcos (266), mientras que sólo el 8,9% de los niños húngaros obesos presentaban SM (74). En EEUU, el *National Health and Nutrition Examination Survey* comunicó la presencia de SM en el 30% de adolescentes obesos usando los criterios del ATPIII para definir el síndrome (259). De forma similar, Cruz halló una prevalencia de SM del 30% en niños obesos hispanos (261). Sin embargo, la comparación directa de las prevalencias de SM en niños y adolescentes entre diferentes países es difícil. La principal razón es que no existe una única definición aceptada internacionalmente de SM pediátrico. Las discrepancias en la definición de cada uno de los componentes del síndrome puede tener impacto en la prevalencia global identificada. Otros factores a tener en cuenta son las características de la población de estudio, incluyendo etnia, rango de edad y estadio puberal. Por otro lado, el grado de obesidad puede influenciar la prevalencia de SM, tal y como sugiere el estudio de Weiss, en el que el 50% de los niños con obesidad severa presentan SM (49).

Recientemente, la Federación Internacional de Diabetes sugirió que no se puede explorar la presencia del síndrome en niños entre 6-10 años de edad (62). Aunque los parámetros del SM se desarrollan progresivamente con la edad (267), nuestro estudio demuestra que no es despreciable el porcentaje de niños obesos que presenta el síndrome completo antes de los 10 años de edad. Además, según la definición de SM utilizada, la presencia de SM en niños de 6-10 años de edad era el único predictor de SM a los 2 años de evolución. Por tanto, parece necesaria una definición internacional de SM aceptada para niños y

adolescentes, para su aplicación uniforme en todo el mundo, que incluya este grupo de edad.

En nuestro estudio hemos comparado la **prevalencia de SM con cinco definiciones**. Con las definiciones de Weiss, Cook y Ford hemos encontrado prevalencias de SM muy similares. Con la de Cruz la prevalencia es algo mayor, probablemente por incluir unos puntos de corte en cada componente del SM más amplios y con la de la IDF menor por utilizar puntos de corte más parecidos a los de adultos. Es bien conocido que al aplicar las definiciones de adultos a niños la prevalencia de SM es menor (263, 268). Para definir obesidad hemos utilizado el punto de corte de  $>2SD$  de  $z$ -IMC de las tablas de crecimiento para población española, disponibles en España desde 1988 (244). Para explorar la posible implicación del uso de valores de referencia internacionales de peso en la prevalencia de SM, además aplicamos los criterios de obesidad de la IOTF (6) a los datos de IMC de nuestros pacientes. Según la IOTF, tres de nuestros pacientes obesos serían clasificados como sobrepeso. Cuando comparamos los valores de los diferentes componentes del síndrome metabólico en nuestros pacientes con sobrepeso versus obesos según los criterios del IOTF, no encontramos diferencias significativas. Tampoco mostraban diferencias en las concentraciones circulantes de insulina. Estos resultados coinciden con las publicaciones que muestran que la discriminación entre sobrepeso y obesidad según los criterios del IOTF en niños puede no ser un buen marcador para la predicción de resistencia a la insulina y, consecuentemente, para la predicción del riesgo metabólico (269). Además, la media de  $z$ -IMC de nuestros pacientes obesos con SM no fue significativamente diferente de aquéllos sin SM, sugiriendo que la severidad de la obesidad no ha jugado un papel en el desarrollo de SM en nuestra cohorte. Por otro lado no se evidenciaron diferencias en la prevalencia de SM en el momento basal ni a los dos años según la pérdida de peso. Este hecho subraya la importancia de factores

adicionales a la adiposidad, por ejemplo factores genéticos, en el desarrollo de SM (270).

Los niños con SM eran algo mayores en **edad** a los niños sin SM. La aparición de los diferentes componentes del SM con la edad, indica la progresión del riesgo cardiometabólico si no se revierte la obesidad, como ya se había comunicado previamente (271). Mientras que la presión arterial sistólica, las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y de cHDL se correlacionaban con el grado de obesidad, el colesterol total y el cLDL no se modificaban con la edad ni el grado de obesidad. Estos hallazgos están en concordancia con lo descrito previamente (255) (271). Así, la presión arterial se afectaría antes que los lípidos por la obesidad, valorada en grado de obesidad. Por otro lado, el colesterol total y el cLDL muestran una importante predisposición genética (272), que seguramente encubre el efecto del grado de obesidad. Además, la resistencia a la insulina está fuertemente asociada a las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y de cHDL, influenciando a estos parámetros, probablemente más que el grado de obesidad. En nuestra población de estudio se observó un incremento progresivo del número de factores de riesgo cardiometabólico con la edad. La falta de significación estadística entre aquéllos con 3 o más factores de riesgo pudo venir dada por el escaso número de pacientes en estos dos grupos. Para la definición de Cook, la edad tenía tendencia a predecir el SM a los dos años de evolución. Otra vez observamos la necesidad de aplicar una única definición de forma universal, para no hallar resultados discordantes.

Los pacientes que perdieron peso eran más mayores al iniciar el estudio, a diferencia de otros estudios (273). Una explicación podría ser la mayor preocupación por el exceso de peso en los padres y el propio niño a medida que va creciendo, condicionando mayor motivación para modificar la dieta y el estilo de vida. Además presentaban un mayor perímetro de la cintura, lo que condicionaría mayor alteración de la imagen corporal y, de nuevo, mayor motivación para el cambio.

La **alteración en el metabolismo de la glucosa** (AMG) es un rasgo importante entre los trastornos metabólicos del SM y ha sido estudiado en la población pediátrica obesa (50). La prevalencia de AMG en nuestra cohorte fue del 6,8%, en forma de intolerancia a la glucosa (IGT) en el TTOG (5,4%) o de alteración en la glucemia en ayunas (AGA) (1,4%). No identificamos ningún individuo con diabetes tipo 2. Debemos enfatizar la presencia de IGT en mayor medida que la AGA, como ya ha sido descrito previamente en los niños obesos (50, 51). Esto se debe probablemente a que los niños obesos con intolerancia a la glucosa, tienen una marcada resistencia a la insulina periférica, especialmente a nivel muscular, estando la sensibilidad hepática a la insulina preservada en estos estadíos iniciales.

La prevalencia de AMG encontrada en nuestra cohorte es menor a la de otros estudios (261, 274) pero se encuentra dentro del rango de prevalencias comunicadas en diferentes países europeos que va del 4,5% (77) en Italia al 21% en Turquía (266). Además, concuerda con otros dos estudios realizados en población española (76) (275). La variabilidad de la prevalencia de AMG entre estudios puede estar influenciada por las características de las diferentes cohortes, reflejando probablemente el distinto grado de resistencia a la insulina encontrado en esas muestras poblacionales. La distribución de la grasa corporal, en concreto la proporción de grasa visceral intraabdominal, es uno de los componentes a tener en cuenta en la intolerancia a la glucosa (89). La glucosa en ayunas varió mínimamente con el aumento de peso, tal y como se ha descrito en otros estudios (49) (276). Parece que la IGT sería más válida que la AGA en identificar a aquellos pacientes con riesgo cardiovascular (277).

A los dos años de seguimiento de nuestra cohorte, de los 5 pacientes que mostraron AMG, ésta se normalizó en los 4 que presentaban IGT y persistió en el que tenía AGA. Por otro lado, 3 pacientes que inicialmente no mostraban AMG pasaron a presentarla: dos IGT y uno AGA. En aquéllos que mejoraron se observó un descenso de peso de al

menos 0,39SD en el z-IMC. El paciente que inicialmente mostraba AGA y en el que persiste a los 2 años, tuvo una pérdida de peso de 1,39SD de z-IMC, pero aún persistía con IMC superior a 3SD. Además su HOMA aumentó de 2,74 a 10 coincidiendo con el inicio de la pubertad. Los 3 pacientes en los que apareció la AMG, tenían un grado de obesidad muy importante ( $>4$  SD de IMC), que se mantuvo a los 2 años. En nuestra cohorte, la transición entre categorías relacionadas con AMG es reversible y parece estar condicionada a la pérdida de peso y al grado de obesidad, tal y como se había descrito previamente (278).

La **resistencia a la insulina** parece constituir la base fisiopatológica del síndrome metabólico (54) (279). Se define como una condición en la que la insulina plasmática a concentraciones normales es incapaz de promover de forma adecuada la captación periférica de glucosa, de suprimir la neoglucogénesis hepática y de inhibir la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (280). La resistencia a la insulina tiene una patogénesis multifactorial: una predisposición genética que interactúa con factores ambientales. La obesidad conduce a un depósito de grasa en células hepáticas y musculares, además de en los adipocitos, conduciendo a resistencia a la insulina en estos órganos (281). La hiperinsulinemia sirve para compensar la resistencia a la insulina y mantener la homeostasis de la glucosa. Sin embargo, los pacientes con hiperinsulinemia sin alteraciones en el metabolismo de la glucosa son más proclives a desarrollar otros problemas de salud como arteriosclerosis precoz, hipertensión, acantosis, dislipidemia, esteatosis hepática, hipercoagulación, síndrome de ovario poliquístico y algunos tipos de neoplasias (282) (283).

Por otro lado, es muy importante tener en cuenta el método utilizado en la determinación plasmática de insulina para interpretar los resultados (284).

El índice medio de resistencia a la insulina HOMA-IR en nuestros pacientes obesos fue 2,4 (5,16 en aquellos con AMG). En la cohorte de Yeste (285) y Sinha (50) fue de 3,95 (5,85 en aquéllos con AMG) y 5 (7,2

en aquellos con AMG) respectivamente. Estos datos enfatizan la importancia de la resistencia a la insulina como factor contribuyente en la expresión de AMG.

El HOMA-IR fue mayor en los obesos, mayor en aquellos pacientes con SM y se correlacionó con todos los componentes del SM. En los últimos años se ha enfatizado la elevada correlación entre HOMA e insulina en ayunas, ya que la glucemia basal (medida en mmol/L) presenta un intervalo de variación muy estrecho y actúa prácticamente como una constante. Así parece que es indistinto hablar de HOMA o de insulinemia basal. La elevación de la insulinemia en ayunas parece fundamental en definir el SM en niños. El 51% de nuestros pacientes obesos mostraban resistencia a la insulina (HOMA o insulina basal > p95 de la población control) y fue el trastorno metabólico observado con más frecuencia en nuestra cohorte. Aquellos factores de riesgo cardiovasculares que tendían a ser anormales, aunque todavía estuvieran dentro de los límites de referencia recomendados por edad, se asociaban con insulinemias mayores. La insulina en ayunas se mostró útil en identificar aquellos sujetos con síndrome metabólico. Así, en el área bajo la curva para insulina basal, el punto de corte 9,5  $\mu\text{U}/\text{mL}$  tuvo una sensibilidad del 72,7-91,7% y una especificidad del 72,2-75% en detectar la presencia de síndrome metabólico, según la definición utilizada de SM. Por otro lado, en el análisis de regresión logística multivariable ajustada para edad, sexo e IMC, la acantosis, el HOMA-IR y lipocalina-2 predijeron la presencia de SM. Por tanto, se podría postular que la insulinemia en ayunas podría ser útil en la detección precoz de SM en niños. Existe alguna guía clínica de manejo de la obesidad que incluye la determinación de insulina plasmática en ayunas en niños obesos (286). En esta guía la evaluación del riesgo metabólico en niños obesos está condicionada a la presencia de antecedentes familiares de obesidad y diabetes o a la presencia de signos clínicos como la acantosis. En nuestro estudio, los antecedentes familiares de diabetes y la obesidad parental no fueron distintos entre los obesos con



SM y sin SM, lo que sugiere que es necesario medir la insulinemia en ayunas en niños obesos prepuberales, independientemente de la historia familiar. Viner et al tampoco hallaron relación entre la historia familiar y el riesgo de SM (264). Esto tiene implicación en el coste del cribado de niños obesos. La detección precoz de hiperinsulinemia puede indicar cambios en el perfil metabólico antes de que otras medidas de riesgo cardiovascular, determinadas más frecuentemente, estén fuera de los rangos de referencia. Por otro lado tendría impacto sobre a quién dirigir el tratamiento de la obesidad y qué abordaje terapéutico elegir. La posibilidad de incluir la insulina plasmática en ayunas en el cribado de riesgo cardiovascular de los niños obesos, implica la disponibilidad de unos valores de referencia específicos para edad, sexo, estadio puberal y etnia, de los que actualmente carecemos.

Por otro lado, las últimas recomendaciones del grupo internacional de trabajo de resistencia a la insulina comunicadas en el 8º encuentro de la ESPE (*European Society Pediatric Endocrinology*) y la LWPES (*Lawson Wilkins Pediatric Endocrinology Society*) celebrado en septiembre de 2009, proponen no evaluar la presencia de resistencia a la insulina en niños obesos. Dado que no parece existir una ventana crítica en la que la tendencia a la obesidad provocada por determinados genes se manifieste (287), sino que, desde el nacimiento, cualquier exceso de peso durante la infancia tiende a perpetuarse, parece prudente continuar con el cribado de factores de riesgo cardiovascular, entre ellos la resistencia a la insulina, en estos pacientes.

Las concentraciones plasmáticas de **ALT** son un conocido factor de resistencia a la insulina que puede predecir el desarrollo posterior de diabetes tipo 2 (288). En nuestro estudio, las concentraciones plasmáticas de ALT eran superiores en los pacientes con SM, aunque dentro del rango normal de referencia. Las concentraciones de ALT no se modificaban por las de A-FABP, RBP4, lipocalina-2 ni BDNF tras ajustar por factores de confusión. En nuestra cohorte tuvimos un paciente con EHNA que tenía SM y mejoró con la intervención dietética

y en el estilo de vida. En concreto este paciente refería haber aumentado muy significativamente el tiempo semanal de ejercicio físico, mejorando su riesgo cardiometabólico y su EHNA. Dado que sólo teníamos un paciente con esteatosis hepática en nuestra cohorte, no podemos generalizar nuestros resultados, no obstante, coinciden con los descritos en la literatura (289, 290).

El concepto de síndrome metabólico aumenta nuestro conocimiento de la fisiopatología de la resistencia a la insulina a nivel celular y molecular, y de la influencia del adipocito en tejidos sensibles a la insulina y en la vasculatura, mejorando nuestro entendimiento de la relación entre la obesidad y la enfermedad cardiovascular. Se cree que el valor predictivo del SM no parece superior al de sus componentes. Estamos de acuerdo en que el abordaje del niño con obesidad no debe centrarse exclusivamente en establecer el diagnóstico de SM, y que debe incidirse sobre cada uno de los factores de riesgo cardiovascular. Por otro lado, no creemos que sea eficiente utilizar estimaciones de riesgo complejas que consuman mucho tiempo por parte del clínico (291). Sólo tras investigación cuidadosa y racionalizada podremos establecer la aplicación clínica de la utilidad de definir este síndrome, contra el continuo fondo de desacuerdo en la literatura (63, 292).

## 2. Hábitos nutricionales y de actividad física

Seleccionamos el cuestionario de frecuencia alimentaria (CFA) como método de evaluación dietética porque está ampliamente aceptado que es el que mejor se adapta a la mayoría de necesidades y situaciones, por su validez y reproducibilidad (245). Además parecen tener una capacidad evaluadora similar a otros métodos supuestamente más precisos, como los marcadores bioquímicos de ingesta dietética (246). Hemos ajustado la ingesta de los macronutrientes por las calorías totales debido a la tendencia general de todo nutriente a correlacionarse con la ingesta dietética total, de forma que se consigue un mejor control de los factores de confusión, tales como el tamaño corporal (247).

Los padres de los pacientes obesos reportaron menor ingesta calórica que aquéllos cuyos hijos tenían normopeso. Es conocido este fenómeno de “**underreporting**” en adultos y niños obesos (293-295), pero nos sorprendió que se confirmase en encuestas realizadas a los padres de niños obesos. Esto puede deberse a varios fenómenos: por un lado es posible que en el momento de realizar la encuesta el paciente con obesidad se halle sometido a algún tipo de dieta restrictiva para perder peso y que sus respuestas no reflejen su dieta habitual. Por otro lado, es frecuente que no comuniquen o que infravaloren los picoteos, que además acostumbran a ser muy hipercalóricos, por no considerarlos parte de su ingesta cotidiana.

Los niños de nuestro estudio no alcanzaban las **recomendaciones** de ingesta diaria de carbohidratos (50-55% de calorías diarias) y en cambio tomaban un exceso de grasas (>40% de calorías diarias) a expensas de todas las grasas y un cierto exceso de proteínas (15% *versus* lo recomendado del 13%). El aceite de oliva de la dieta mediterránea constituye una grasa beneficiosa, lo que permite que las recomendaciones de ingesta de grasas asciendan al 35% (si es a expensas de su consumo habitual) (296). En cualquier caso, nuestros

niños (tanto los obesos como los niños con normopeso) sobrepasaban las recomendaciones de la OMS y de las sociedades de nutrición de no ingerir más de un 10% en forma de grasas saturadas. La ingesta elevada de grasas se asoció a mayor resistencia a la insulina en nuestra muestra. Al parecer la composición de las membranas celulares puede influenciarse por la ingesta de grasa. Una elevada proporción de grasas saturadas en la membrana podría dificultar la acción de la insulina alterando la unión de la insulina con su receptor (297).

El hecho de que la ingesta calórica fuera mayor en los niños del grupo control respecto a las niñas se debe, probablemente a que realizaban más ejercicio y por tanto aumentaban sus necesidades energéticas.

Nuestros niños obesos consumían menos **carotenos** que los controles. Esto nos debe hacer recordar que el estrés oxidativo puede jugar un papel central en la patogénesis de diversas enfermedades, incluyendo la diabetes y la resistencia a la insulina (298). Aunque no hubo diferencias en el resto de vitaminas antioxidantes y no contamos con valores plasmáticos vitamínicos para confirmar nuestros resultados, nos parece importante incidir en la necesidad de ingerir unas cantidades adecuadas de dichas vitaminas antioxidantes, en niños que ya tienen un mayor riesgo cardiovascular.

Hipotetizamos que los niños que comían con los **abuelos** tenían más obesidad, por ser estos últimos más permisivos en la elección del tipo y cantidad de la dieta de los niños. Sin embargo, en nuestra muestra no existía relación entre el lugar de la ingesta y la presencia de obesidad.

Hemos comprobado que los niños obesos comen más rápido, por lo que es probable que tarden más en quedar saciados y por tanto ingieran más alimentos.

A menudo los padres de los niños obesos refieren que sus hijos no comen mucho, pero que son tranquilos y se mueven poco. Es posible que la falta de **actividad física** sea un factor determinante en la

aparición de la obesidad, más que el exceso de la ingesta. Los niños obesos de nuestro estudio invertían una hora de media más al día en ver la televisión respecto aquéllos con normopeso, superando las 2 horas al día máximas recomendadas (3, 299, 300). Además tenían tendencia a realizar menos ejercicio físico que los niños con normopeso. Aquellos niños que perdieron peso habían aumentado las horas de ejercicio extraescolar sin aumentar las actividades sedentarias, lo que señala la importancia del ejercicio físico en este grupo de edad, en el que la dieta no puede ser muy restrictiva debido a que es preciso proporcionar a los niños unos aportes nutricionales adecuados que aseguren un crecimiento óptimo. El ejercicio físico mejora el estado mental y aumenta la autoestima, disminuye la adiposidad, aumenta la sensibilidad a la insulina, incrementa el *status* enzimático antioxidante, mejora el perfil lipídico y disminuye la expresión de mediadores inflamatorios (301, 302), por lo que constituye una diana terapéutica esencial en este grupo de edad.

Estudios recientes en niños sugieren que la obesidad se asocia a un **sueño** cotidiano de pocas horas de duración (<10 horas), aunque está por demostrar una asociación causal (303). Sólo nuestros pacientes más obesos presentaban una mayor prevalencia de sueño corto. Se ha sugerido que un sueño corto podría conducir a obesidad a través de la activación de respuestas hormonales que conducen a un aumento del apetito y de la ingesta calórica (304). Por otro lado, la obesidad severa podría inducir acortamiento del sueño por la presencia de apneas obstructivas del sueño. Sin embargo, la presencia de sueño corto no fue un factor limitante para perder peso en los niños de nuestro estudio, puesto que aquellos pacientes que perdieron peso presentaban con más frecuencia sueño corto que los que no lo perdieron. De la misma manera, en estudios longitudinales, el sueño corto no predijo el desarrollo de obesidad futura en niños (305, 306).

### 3. Citocinas

El estudio de correlaciones entre las diferentes lipocalinas y BDNF con los parámetros de adiposidad y de síndrome metabólico era distinto si lo realizábamos con la muestra completa o si la estratificábamos en casos y controles. Así, utilizando toda la muestra, el IMC tenía correlación positiva con las lipocalinas y negativa con BDNF. La mayoría de estudios en la literatura analizan las correlaciones con toda la muestra de pacientes (mezclando pacientes obesos y delgados) y muchas de estas asociaciones se pierden tras ajustar por IMC. Nosotros hemos preferido presentar el análisis por separado por tener un número suficiente de pacientes para extraer conclusiones, porque nos interesa conocer cómo se comportan dichas proteínas en los pacientes obesos y para no identificar asociaciones en las que el IMC actúa como factor de confusión, ya que las lipocalinas no son independientes del IMC. Este abordaje ha determinado que nuestros resultados discrepen con algunos de la literatura.

#### 3.1 RBP-4

Las concentraciones plasmáticas elevadas de RBP-4 se asocian a resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 en algunos estudios en humanos (146, 155, 157, 307), pero no en todos (151, 152, 308).

Las discrepancias entre los diferentes estudios pueden ser debidas al escaso **número** de pacientes estudiados y a la heterogeneidad de la muestra en cuanto a edad y estadio puberal.

Los niños **obesos** prepuberales de nuestro estudio (muy homogéneos en edad y estadio puberal) presentaron unas concentraciones plasmáticas de RBP-4 un 29,2% mayores que las de los niños con normopeso. La asociación entre obesidad global y las concentraciones de RBP-4 fue independiente del sexo y la edad. Sin embargo, no se observó correlación entre RBP-4 y el IMC o el perímetro de la cintura. Además, el grado de obesidad no predijo las concentraciones de RBP-4 y en el modelo lineal general el IMC no fue un predictor independiente

de las concentraciones de RBP-4. Estos resultados discrepan con los de otros autores que observaron una correlación positiva entre obesidad medida por IMC y las concentraciones circulantes de RBP-4 (146, 148).

Por otro lado a los dos años de intervención, RBP-4 había descendido de forma significativa en todo el grupo de obesos. Sin embargo, la tasa de disminución de RBP-4 no fue significativamente distinta entre los pacientes que habían perdido peso y los que no. Todos estos resultados, en conjunto, sugieren que RBP-4 no está relacionada directamente con los parámetros antropométricos evaluados. Quizás la medida de la distribución de la grasa sería más sensible que el IMC en detectar los cambios en la adiposidad, tal y como sugiere un metanálisis reciente del tratamiento de la obesidad pediátrica (309).

Intentando buscar otras razones del aumento de RBP-4 en los niños obesos, se ha descrito que el depósito hepático de grasa puede conducir a una elevación plasmática de RBP-4 (310, 311). Apoyando esta teoría, observamos una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de ALT y RBP-4 en nuestros niños obesos, que se mantenía tras ajustar por sexo e IMC.

Los **varones** tenían unas concentraciones circulantes de RBP-4 un 13,5% de media mayores a las niñas, similar a lo descrito en estudios previos (155, 307). Se ha especulado que este dimorfismo sexual en las concentraciones de RBP-4 podría deberse a la influencia de las hormonas sexuales. En nuestra cohorte, dado que todos los pacientes eran prepuberales, los resultados sugerirían que las concentraciones de RBP-4 podrían ser muy sensibles a mínimas diferencias hormonales entre sexos en este estadio. En estudios previos se ha observado que la diferencia específica del sexo en las concentraciones de RBP-4 parece declinar con la edad (312) y que los anovulatorios orales pueden aumentarlas (313). Por tanto, la relación entre RBP-4 y hormonas sexuales está todavía por aclarar.

No hemos observado diferencias atribuibles a la **edad** en este intervalo etario, aunque sí parece haber mayores concentraciones en sujetos de la tercera edad que en adultos jóvenes (157).

En cuanto al metabolismo hidrocarbonado, no observamos diferencias en las concentraciones de RBP-4 entre los pacientes con **intolerancia a la glucosa** y sin ella. Tampoco hubo diferencias respecto a la presencia o no de **resistencia a la insulina** medida con HOMA-IR. Las concentraciones de RBP-4 no predecían la presencia de alteración en el metabolismo de la glucosa en el momento basal ni a los dos años. Estos resultados coinciden con varios estudios recientes (314, 315). Además, algunos estudios han constatado que la mejoría de la resistencia a la insulina mediada por pioglitazona (314) o por metformina (316) no se asociaba a una modificación en las concentraciones plasmáticas de RBP-4. En un estudio se observó que las concentraciones plasmáticas de RBP-4 eran superiores en individuos con diabetes tipo 2 de larga duración comparando con los individuos recién diagnosticados. Por tanto, la regulación al alza de RBP-4 podría ser un evento secundario a la hiperglucemia (312). Nuestros pacientes con intolerancia a la glucosa era un grupo pequeño (5 pacientes) y es posible que, al tratarse de niños, aún no hayan estado sometidos el tiempo suficiente a hiperglucemia para mostrar aumento en las concentraciones de RBP-4. Estudios recientes en adultos gemelos monocigóticos, no han podido evidenciar una relación entre las concentraciones de RBP-4 y la **sensibilidad hepática a la insulina** medida por clamp euglucémico-hiperinsulinémico. Por otro lado, la falta de correlación entre la expresión muscular del receptor de la glucosa GLUT4 y RBP-4, apoya la teoría de que RBP-4 no es una miocina. Los autores concluyen que las concentraciones elevadas de RBP-4 en pacientes con diabetes tipo 2 son un fenómeno secundario y que dichas concentraciones no juegan un papel en el desarrollo de la resistencia a la insulina en humanos, lo que coincide con otros estudios (312, 317). Las diferencias observadas



respecto a los estudios en ratones podrían poner de manifiesto que podría existir un efecto específico de especie de esta proteína.

Las discrepancias respecto a los estudios que defienden la relación entre RBP-4 en plasma y resistencia a la insulina pueden deberse al uso de diferentes **métodos** de laboratorio (163). Nosotros usamos un método ELISA mientras que otros autores emplearon el *Western blotting* cuantitativo. Aunque las características del ensayo son bastante comparables (318), no puede descartarse totalmente la posibilidad de que el uso de diferentes técnicas haya dado lugar a la diferencia en las observaciones. Además, el rango de las concentraciones plasmáticas estimadas por nuestro ensayo eran inferiores a las de estudios previos realizados en niños. Los otros estudios realizados en niños incluían un intervalo etario mayor, mezclaban el análisis de pacientes en diferentes estadios puberales, y tenían un número menor de pacientes en cada subgrupo (160, 165, 319). La falta de valores estandarizados es siempre un aspecto a considerar cuando se comparan resultados de diferentes estudios, especialmente en relación a nuevos biomarcadores proteicos. Por otro lado, se ha encontrado una elevada correlación entre RBP-4 y la expresión en tejido adiposo de CD68 y MCP1 (320), relacionando esta adipocina con la inflamación de bajo grado presente en la obesidad, más que con la resistencia a la insulina.

En definitiva, no nos parece que RBP-4 sea un marcador útil de resistencia a la insulina, síndrome metabólico o riesgo cardiovascular en la rutina clínica con niños obesos prepuberales.

### **3.2 Lipocalina-2.**

Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio que evalúa el comportamiento de lipocalina-2 en niños obesos.

Aunque lipocalina-2 fue identificada hace más de una década, las funciones fisiológicas de esta proteína siguen siendo poco conocidas. Los estudios previos se han focalizado sobretudo en el papel de dicha

proteína en la respuesta inmune a infecciones bacterianas y en la apoptosis. Recientemente se ha enfatizado su utilidad como biomarcador de fallo renal agudo (321, 322).

La asociación de lipocalina-2 a **obesidad** es un hecho aún controvertido en la literatura. Un estudio mostró un aumento de las concentraciones plasmáticas de lipocalina-2 en adultos obesos (172), pero no fue corroborado en otro (176). Los niños obesos prepuberales de nuestro estudio mostraron unas concentraciones plasmáticas de lipocalina-2 un 44,7% superiores a las de los niños con normopeso, tras ajustar para edad y sexo. Por tanto, creemos que lipocalina-2 es un marcador de obesidad. Dado que, en el grupo de niños obesos, lipocalina-2 no se correlacionó con IMC ni con el perímetro de la cintura y además no disminuyó en aquellos pacientes que perdieron peso de forma significativa a los dos años de intervención dietética y en el estilo de vida, es posible que la fuente principal de las concentraciones circulantes de dicha proteína no sea exclusivamente el tejido adiposo. De todas formas, desconocemos el mecanismo que subyace en el aumento de lipocalina-2 en los niños obesos.

En los pacientes obesos, lipocalina-2 no mostró diferencias entre **sexos**. Al tratarse de niños prepuberales, no se esperaba una importante influencia hormonal en la determinación plasmática de dicha proteína.

Lipocalina-2 no mostró correlación con ningún parámetro de adiposidad ni factor de riesgo cardiovascular en los niños obesos. Sin embargo, el modelo de regresión logística mostró que lipocalina-2 era un buen predictor de **SM**, independiente del HOMA y del IMC. Aunque el AUC para predecir SM fue menos sensible y menos específico que el de insulina, su determinación proporciona una información complementaria. El hecho de que lipocalina-2 no se correlacione con los parámetros de resistencia a la insulina en nuestra cohorte puede deberse a que el tiempo de exposición a la obesidad no haya sido suficiente. Por otro lado, de confirmarse en estudios posteriores una

asociación independiente de lipocalina-2 con SM, podría ser útil como marcador precoz de riesgo cardiovascular en los niños obesos, incluso cuando la resistencia a la insulina aún no está presente.

Lipocalina-2 parece comportarse como una proteína de fase aguda, que puede ser inducida por diferentes estímulos inflamatorios (323) y que en el caso de la obesidad parece ser un predictor independiente de **inflamación** (172). La presencia de unas concentraciones superiores en los niños obesos de nuestro estudio y en concreto, en aquéllos con SM, podría poner de manifiesto un bajo grado de inflamación, relacionando así la obesidad con el riesgo cardiovascular. Por otro lado, algunos estudios en ratas sugieren que lipocalina-2 podría actuar como un mecanismo protector contra la sobreactivación de la inflamación (178). Así, todavía se desconoce el verdadero papel fisiológico de lipocalina-2. Podría tratarse de un marcador de inflamación asociado a la obesidad o simplemente un reactante de fase aguda secretado para contrarrestar dicha inflamación.

### **3.3 A-FABP**

Nuestro estudio demuestra que las concentraciones plasmáticas de A-FABP están estrechamente asociadas a la **obesidad** en niños prepuberales. Las concentraciones de A-FABP están elevadas en los niños con obesidad respecto a los niños sanos y aumentan progresivamente con el grado de obesidad. Existe una correlación positiva entre los indicadores de obesidad (IMC y perímetro de la cintura) y las concentraciones circulantes de A-FABP, sugiriendo que el tejido adiposo es la fuente principal de la secreción de A-FABP al torrente circulatorio.

Los **niños** de nuestro estudio presentan unas concentraciones plasmáticas de A-FABP inferiores a las niñas, tras ajustar por IMC. La diferencia entre sexos es equiparable a la obtenida en otros estudios realizados en adultos (201) (198). El dimorfismo sexual observado en

adultos se ha atribuido a la mayor proporción de grasa corporal subcutánea en mujeres respecto a hombres. Sin embargo, en nuestro estudio el z-IMC de los niños obesos es superior al de las niñas, sin haber diferencias en el perímetro de la cintura, por lo que podría existir una influencia genética ligada al sexo sobre las concentraciones de A-FABP. La edad no es un factor predictor de A-FABP, por lo que no es de extrañar que la diferencia entre sexos sea tan similar a la obtenida en adultos.

Las funciones fisiológicas de la A-FABP circulante están todavía en vías de ser caracterizadas. En una cohorte de adultos chinos, la A-FABP predijo el desarrollo de **SM** a los cinco años, independientemente de la adiposidad y la resistencia a la insulina (201). Aunque la evidencia acumulada de experimentos animales sugiere un papel para A-FABP como regulador de la sensibilidad a la insulina, metabolismo lipídico e inflamación (324) (325), su relevancia en humanos, particularmente en niños, permanece por determinar. La literatura existente indica que aproximadamente un tercio de los niños obesos presentan también hipertensión (271) (326). Estudios previos en adultos han observado que existe una correlación positiva entre A-FABP y la presión arterial, así como con los otros componentes del SM, que se mantiene tras ajustar por el IMC (175) (201). Otros estudios no han podido corroborar dicha asociación con el SM o sus componentes (200). En nuestra cohorte de niños obesos, A-FABP también se correlacionó con la presión arterial diastólica, HOMA-IR, cHDL, ALT y ácido úrico. Sin embargo, el modelo lineal general mostró que al ajustar por el IMC desaparecían las asociaciones con presión arterial, HOMA, ALT y cHDL y que A-FABP sólo se modificaba con el sexo, IMC, ácido úrico y muy discretamente por RBP-4. Además A-FABP no predijo, de forma independiente, la presencia de SM en el modelo de regresión logística para ninguna de las definiciones de SM. Por otro lado, ni la medición de A-FABP basal ni la obtenida a los dos años pudo predecir qué pacientes presentarían SM a los dos años. Por tanto, no hemos confirmado una clara relación entre

A-FABP y los distintos componentes del SM en niños obesos prepuberales.

Un estudio reciente comunicó que A-FABP predice el desarrollo de **diabetes tipo 2** (198) y el estudio de Xu mencionado anteriormente, observó una correlación positiva entre las concentraciones de glucosa en ayunas y el A-FABP. Nuestro estudio no halló una asociación entre la glucemia basal, ni la glucemia a los 120 minutos del TTOG con el A-FABP. Tampoco se obtuvo ninguna relación entre A-FABP y los parámetros de resistencia a la insulina, tras ajustar por IMC.

Por otro lado, un estudio transversal realizado en adultos con diabetes tipo 2, ha observado que las concentraciones plasmáticas de A-FABP se asocian a **EHNA** en pacientes con diabetes tipo 2. Los pacientes con mayor A-FABP (en el último tercil) tenían un riesgo mayor de padecer esteatosis hepática no alcohólica, que se mantenía al ajustar por HOMA, IMC y enzimas hepáticas (327). En los niños obesos de nuestro estudio existía una correlación positiva entre A-FABP y ALT. Dicha asociación se perdía al ajustar por la presencia de SM. A pesar de que los niños con SM presentaban concentraciones circulantes mayores de ALT, aún estaban dentro del rango normal de referencia lo que podría debilitar la fuerza de las asociaciones observadas.

Nuestros datos sugieren que A-FABP se asocia a obesidad infantil, pero no está claro que A-FABP tenga una asociación independiente con los factores de riesgo relacionados con el SM en niños. Se han observado resultados similares en otros estudios en mujeres con síndrome de ovario poliquístico (328) y en niños (329).

A pesar del bajo grado de comunicación de la **dieta** de los niños obesos por parte de sus familiares, hemos encontrado una asociación positiva entre la ingesta de calorías totales, proteínas y grasas (totales y saturadas) con las concentraciones circulantes de A-FABP en el grupo de niñas obesas. La falta de correlación en los niños obesos podría deberse a una peor representabilidad de la dieta obtenida por el CFA,

respecto a las niñas. De confirmarse dicha asociación en estudios posteriores, A-FABP podría ser un marcador bioquímico de ingesta calórica que nos permitiría monitorizar el cumplimiento dietético de nuestros pacientes.

En nuestra cohorte, la **pérdida de peso** del 2% de IMC tras la intervención dietética y en el estilo de vida, se asoció a una reducción del 29,5% en las concentraciones circulantes de A-FABP a los dos años, mientras que no sufrió modificaciones en aquellos niños obesos que no presentaron una reducción significativa de peso. En un estudio previo realizado en 30 niños obesos de 8-15 años de edad (12 prepuberales), se observó una reducción similar al año de seguimiento en aquellos niños que habían perdido peso de forma significativa (207). Otro estudio realizado en mujeres con obesidad mórbida, objetivó un descenso en A-FABP al disminuir peso tras ser sometidas a cirugía bariátrica (203). Además se ha comunicado una reducción en la expresión de A-FABP en tejido adiposo subcutáneo humano tras perder peso (330). Tomado en su conjunto, parece que la evidencia disponible sugiere que la distribución y el volumen de tejido adiposo subcutáneo puede ser uno de los mayores determinantes de las concentraciones circulantes de A-FABP.

Aunque podrían haber diferencias en la expresión génica de A-FABP basadas en diferencias **étnicas**, las concentraciones plasmáticas de A-FABP mostraron un rango y distribución similar a la de un estudio realizado en niños orientales (329).

A la luz de nuestros resultados, parece que el impacto de A-FABP en los parámetros metabólicos podría ser más débil en niños prepuberales que en adultos.

El papel de A-FABP como conexión para la interacción entre **macrófagos** y adipocitos podría ser uno de los mecanismos para explicar la acción de esta molécula en el metabolismo de la glucosa e inflamación (206). En algunos estudios A-FABP se ha correlacionado con la PCR y otras citocinas inflamatorias (198) (327), pero en otros no (203).

En nuestra cohorte A-FABP se correlacionaba discretamente con RBP-4, tras ajustar por variables de confusión. Dado que RBP-4 parece reflejar el bajo grado de inflamación asociado a la obesidad, su relación con A-FABP podría estar expresando la contribución de A-FABP al bajo grado de inflamación que caracteriza a la obesidad.

### **3.4 BDNF**

Hemos medido las concentraciones circulantes de BDNF en una cohorte homogénea de niños obesos y en un grupo control, para examinar la importancia de factores demográficos y auxológicos como predictores de BDNF sérico. Debido a que se ha observado una asociación entre concentraciones séricas bajas de BDNF y determinadas patologías asociadas a restricción energética, tales como la anorexia nerviosa (331), bulimia nerviosa (332) y depresión mayor no tratada (333) y debido a que las concentraciones séricas de BDNF parecen reflejar las concentraciones de BDNF en el sistema nervioso central en ratas (334), hipotetizamos que las concentraciones de BDNF se correlacionarían negativamente con el grado de obesidad y que aumentarían en aquellos pacientes que redujeran el peso de forma significativa.

Los niños **obesos** de nuestro estudio tenían tendencia a mostrar unas concentraciones circulantes de BDNF un 26,5% inferiores respecto a los niños con normopeso, aunque no alcanzaba la significación estadística ( $p= 0,076$ ). Nuestros resultados concuerdan con otro estudio realizado en niños en el que incluían 27 pacientes prepuberales obesos (229). Comparando con este estudio nuestros pacientes son más obesos ( $z$ -IMC  $4,76\pm 1,67$  vs  $2,44\pm 0,36$ ), lo que explicaría el porcentaje de disminución mayor (26,5% vs 15%) en las concentraciones de BDNF respecto a los controles. A diferencia del estudio anterior, en nuestra muestra la edad no fue un factor predictor de BDNF, probablemente por estar incluidos todos los pacientes en un intervalo etario estrecho.

En modelos murinos de obesidad genética, el incremento en la expresión de BDNF se halla asociado a un aumento en el gasto energético por aumento del metabolismo basal y de la actividad física espontánea (335). En nuestro estudio, las concentraciones circulantes de BDNF no se relacionaban con las horas de **ejercicio** semanales (datos no mostrados). Al no tener datos de metabolismo basal ni termogénesis, no podemos excluir la posibilidad de que BDNF tenga un efecto en la obesidad a través del gasto energético basal.

A los dos años de seguimiento BDNF aumentaba, independientemente de la pérdida de peso. No creemos que la edad fuera determinante porque en el modelo lineal general, la edad no mostró influenciar las concentraciones de BDNF basales ni a los dos años. Quizás la modificación en la dieta y el ejercicio físico, aunque no permitieran una disminución de peso significativa, si fueron suficientes para modificar las concentraciones de BDNF. En este sentido, la dieta restrictiva se ha asociado a un aumento en BDNF en modelos murinos y humanos (226, 238).

BDNF no fue un buen predictor de **síndrome metabólico**. Sin embargo, BDNF mostraba asociación positiva con el HOMA a los dos años de seguimiento, independiente de sexo, edad, estadio puberal y grado de obesidad inicial. La correlación entre BDNF y HOMA ya ha sido descrita previamente en mujeres recién diagnosticadas de diabetes tipo 2 (231). Al parecer, en individuos con resistencia a la insulina, el almacén plaquetar de BDNF aumentaría como mecanismo de prevención de efectos metabólicos negativos, ya que BDNF actuaría como agente normalizador de la glucemia. Probablemente nuestros niños no habían presentado el tiempo de exposición suficiente a resistencia a la insulina para que inicialmente ya se evidenciara esta correlación.

Los **trastornos de conducta alimentaria** involucrados en la pérdida de control sobre la ingesta alimentaria han sido reportados hasta en el 30% de niños obesos (336-338). En el estudio de Nakazato los adultos



con bulimia nerviosa tenían unas concentraciones circulantes de BDNF inferiores, independientemente del IMC (331). Es posible que algunos niños con obesidad severa puedan tener un déficit relativo de BDNF y que, de forma similar a como ocurre en el ratón haploinsuficiente para BDNF (339), puedan tener hiperfagia por una insuficiencia de BDNF. En este sentido, un estudio que analizó la presencia de mutaciones en el gen de BDNF en 15 niños con obesidad severa precoz, no halló mutaciones en el gen de BDNF (340). Otro estudio en adultos no descarta que el alelo I<sub>2</sub> pueda tener un papel en la etiología de la obesidad (233). Parece indicado realizar estudios que evalúen las mutaciones que alteran la función del gen de BDNF, entre aquellos niños obesos con concentraciones circulantes bajas de BDNF. En ratones obesos la terapia génica con BDNF se ha mostrado eficaz en producir pérdida de peso, a expensas sobretodo de un aumento en el gasto energético (335). De demostrarse una disminución en la expresión de BDNF en estos niños, el uso de BDNF podría constituir un potencial agente terapéutico.

De forma sorprendente, las concentraciones circulantes de BDNF tenían correlación negativa con la ingesta de **fibra** en las niñas obesas. Esto podría sugerir que el efecto saciante de la fibra no se efectúa por una modificación en la expresión de BDNF. No pudimos comprobar dicha asociación en el resto de grupos. En los últimos años se está evaluando la influencia de la expresión de determinados genes (entre ellos de BDNF) en las preferencias por un macronutriente concreto (341). Queda pendiente confirmar que existe una ingesta disminuida de fibra en aquellos pacientes con mayor expresión de BDNF.

Se conoce que BDNF sirve como neurotransmisor que participa en la plasticidad neuronal por lo que ha sido investigado previamente en niños con autismo y retraso mental (342). No existen estudios en los que se haya segregado la muestra de pacientes en función de la presencia de obesidad, lo que consideramos conveniente en el futuro.

Permanece por determinar si las concentraciones circulantes de BDNF serán útiles para identificar a aquellos pacientes con resistencia a las acciones de BDNF en su receptor.

#### **4. Limitaciones**

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones. Primero, hemos utilizado los percentiles de IMC para clasificar la obesidad y, aunque el IMC es una buena medida de obesidad, tiene algunas limitaciones como medida indirecta de la grasa corporal. Segundo, el índice de insulinoresistencia HOMA-IR que hemos utilizado es una medida indirecta de resistencia a la insulina, puesto que el patrón oro lo constituye el clamp euglicémico-hiperinsulinémico, pero este último requiere infusión de insulina y extracciones sanguíneas seriadas, y además es invasivo y caro. Tercero, los pacientes que abandonaron el estudio pueden haber influenciado los resultados, aunque no mostraban diferencias antropométricas o en los marcadores de riesgo cardiovascular en el momento inicial.

#### **5. Aplicabilidad**

A nivel fisiopatológico, nuestro estudio ha permitido comprender mejor la relación de las lipocalinas con los parámetros de obesidad en niños prepuberales. En concreto la A-FABP parece ser la lipocalina que mejor se correlaciona con el IMC y la obesidad central. Lipocalina-2 parece ser un buen marcador de síndrome metabólico en niños obesos prepuberales. Nuestro estudio descarta RBP-4 circulante como un marcador de riesgo cardiovascular en niños obesos prepuberales.

A nivel de la práctica clínica, nuestro estudio corrobora que es preciso insistir en las recomendaciones aceptadas de ingesta de macronutrientes en todos los niños prepuberales. Además, verificamos que el estilo de vida es importante en la evolución de la obesidad. En concreto, el ejercicio físico es una muy buena diana terapéutica en los niños obesos prepuberales.

## 6. Investigación futura

Nuestro estudio nos ha originado futuras líneas de investigación con los siguientes aspectos a tener en cuenta:

- es necesario incluir otras etnias para generalizar nuestros resultados,
- la posibilidad de incluir la insulina plasmática en ayunas en el cribado de riesgo cardiovascular de los niños obesos, implica la disponibilidad de unos valores de referencia específicos para edad, sexo, estadio puberal y etnia,
- el análisis de las lipocalinas y el BDNF en los diferentes puntos del TTOG puede permitir estudiar la regulación de estas proteínas en relación a los picos de glucemia e insulinemia,
- el seguimiento de una cohorte de niños obesos hasta la edad adulta permitirá determinar la historia natural y la eficacia de estrategias de intervención, particularmente dietéticas y del estilo de vida,
- el análisis de otros parámetros inflamatorios permitirá objetivar si el A-FABP es un mero marcador de adiposidad o un parámetro independiente de bajo grado de inflamación asociado a la obesidad,
- es preciso confirmar que lipocalina-2 es un marcador útil para monitorizar el bajo grado de inflamación asociado a la obesidad,
- estudios adicionales que evalúen las mutaciones que alteran la función del gen de BDNF, entre aquellos niños obesos con concentraciones circulantes bajas de BDNF, permitirán conocer mejor la relación entre BDNF sérico y obesidad,
- se requiere un mejor conocimiento de la biología del tejido adiposo y de la acción de las adipocinas para poder generar dianas terapéuticas más específicas.



## **CONCLUSIONES**

1. Los niños obesos tienen mayor riesgo cardiovascular que los niños con normopeso, independientemente de si cumplen criterios o no de síndrome metabólico.
2. La obesidad es el factor determinante de la aparición de SM en niños prepuberales.
3. Independientemente de la definición de SM utilizada, los niños obesos con SM se caracterizan por un aumento en el perímetro de la cintura, presión arterial sistólica, insulina basal, glucemia en el minuto 120 del TTOG, triglicéridos, ALT y por una disminución de cHDL.
4. Las alteraciones en el metabolismo de la glucosa y de la sensibilidad a la insulina empiezan a desarrollarse a una edad temprana en el niño obeso, y deberían ser monitorizadas en este segmento de población de elevado riesgo cardiovascular.
5. La insulina plasmática es un buen marcador clínico de síndrome metabólico.
6. Los niños prepuberales ingieren un exceso de grasa y un déficit de carbohidratos según las recomendaciones nutricionales aceptadas, independientemente de la presencia o no de obesidad.
7. La presencia de sueño corto no es un factor limitante para perder peso en nuestra cohorte.
8. Las concentraciones circulantes de RBP-4 y lipocalina-2 no son independientes del IMC, pero no tienen una correlación positiva con el IMC en el grupo de obesos.
9. RBP-4 no parece un marcador útil de resistencia a la insulina, síndrome metabólico o riesgo cardiovascular en la rutina clínica con niños obesos prepuberales.
10. Los niños obesos prepuberales con SM presentan unas concentraciones plasmáticas de lipocalina-2 elevadas respecto a aquéllos sin SM. Lipocalina-2 predice la presencia de SM en el niño obeso independientemente de HOMA e IMC.

11. Las concentraciones plasmáticas de A-FABP están fuertemente asociadas con la obesidad global y abdominal en niños obesos prepuberales. La pérdida de peso induce disminución de A-FABP. La distribución y el volumen de tejido adiposo subcutáneo puede ser uno de los mayores determinantes de las concentraciones circulantes de A-FABP.
12. La relación entre A-FABP y resistencia a la insulina se debilita al ajustar por adiposidad.
13. Las concentraciones circulantes de BDNF tienden a ser menores en niños obesos y no se correlacionan con ningún parámetro de adiposidad.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. IOTF. WHO consultation on obesity. Preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO1998.
2. Bailey K, Ferro-Luzzi A. Use of body mass index of adults in assessing individual and community nutritional status. *Bull World Health Organ.* 1995;73(5):673-80.
3. Krebs N, Jacobson M. Prevention of pediatric overweight and obesity. *Pediatrics.* 2003 Aug;112(2):424-30.
4. Himes J, Dietz W. Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee. The Expert Committee on Clinical Guidelines for Overweight in Adolescent Preventive Services. *Am J Clin Nutr.* 1994 Feb;59(2):307-16.
5. Ogden C, Carroll M, Curtin L, McDowell M, Tabak C, Flegal K. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA.* 2006 Apr;295(13):1549-55.
6. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ.* 2000 May 6;320(7244):1240-3.
7. Wang Y. Epidemiology of childhood obesity--methodological aspects and guidelines: what is new? *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004 Nov;28 Suppl 3:S21-8.
8. Reilly J. Assessment of childhood obesity: national reference data or international approach? *Obes Res.* 2002 Aug;10(8):838-40.
9. Freedman D, Mei Z, Srinivasan S, Berenson G, Dietz W. Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *J Pediatr.* 2007 Jan;150(1):12-7.e2.
10. Keller E, Gausche R, Meigen C, Keller A, Burmeister J, Kiess W. Auxological computer based network for early detection of disorders of growth and weight attainment. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002 Feb;15(2):149-56.
11. Ogden C, Carroll M, Flegal K. High body mass index for age among US children and adolescents, 2003-2006. *JAMA.* 2008 May;299(20):2401-5.
12. Lissau I, Overpeck M, Ruan W, Due P, Holstein B, Hediger M. Body mass index and overweight in adolescents in 13 European countries, Israel, and the United States. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2004 Jan;158(1):27-33.
13. Lobstein T, Frelut M. Prevalence of overweight among children in Europe. *Obes Rev.* 2003 Nov;4(4):195-200.
14. Wang Y, Lobstein T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes.* 2006;1(1):11-25.
15. Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Saavedra Santana P, Peña Quintana L. [Childhood and adolescent obesity in Spain. Results of the enKid study (1998-2000)]. *Med Clin (Barc).* 2003 Nov;121(19):725-32.

16. Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L, Ribas Barba L, Quiles Izquierdo J, Vioque J, et al. [Prevalence of obesity in Spain: results of the SEEDO 2000 study]. *Med Clin (Barc)*. 2003 May;120(16):608-12.
17. Jackson-Leach R, Lobstein T. Estimated burden of paediatric obesity and co-morbidities in Europe. Part 1. The increase in the prevalence of child obesity in Europe is itself increasing. *Int J Pediatr Obes*. 2006;1(1):26-32.
18. Caprio S, Genel M. Confronting the epidemic of childhood obesity. *Pediatrics*. 2005 Feb;115(2):494-5.
19. Lev-Ran A. Human obesity: an evolutionary approach to understanding our bulging waistline. *Diabetes Metab Res Rev*. 17(5):347-62.
20. Kopelman P, Jebb SA, Butland B. Executive summary: Foresight 'Tackling Obesities: Future Choices' project. *Obes Rev*. 2007 Mar;8 Suppl 1:vi-ix.
21. O'Rahilly S, Farooqi I, Yeo G, Challis B. Minireview: human obesity-lessons from monogenic disorders. *Endocrinology*. 2003 Sep;144(9):3757-64.
22. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman J. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994 Dec;372(6505):425-32.
23. Farooqi I, Matarese G, Lord G, Keogh J, Lawrence E, Agwu C, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*. 2002 Oct;110(8):1093-103.
24. Ranadive S, Vaisse C. Lessons from extreme human obesity: monogenic disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008 Sep;37(3):733-51, x.
25. Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon Y, Weisnagel S, Argyropoulos G, et al. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res*. 2005 Mar;13(3):381-490.
26. Bouchard C. Genetic determinants of regional fat distribution. *Hum Reprod*. 1997 Oct;12 Suppl 1:1-5.
27. Druce M, Bloom SR. The regulation of appetite. *Arch Dis Child*. 2006 Feb;91(2):183-7.
28. Roberts SB, Rosenberg I. Nutrition and aging: changes in the regulation of energy metabolism with aging. *Physiol Rev*. 2006 Apr;86(2):651-67.
29. Kokkoris P, Pi-Sunyer F. Obesity and endocrine disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003 Dec;32(4):895-914.
30. Lustig R, Post S, Srivannaboon K, Rose S, Danish R, Burghen G, et al. Risk factors for the development of obesity in children surviving brain tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Feb;88(2):611-6.
31. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, et al. Childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Mar;90(3):1871-87.
32. Pérusse L, Bouchard C. Gene-diet interactions in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000 Nov;72(5 Suppl):1285S-90S.



33. Hediger M, Overpeck M, McGlynn A, Kuczmarski R, Maurer K, Davis W. Growth and fatness at three to six years of age of children born small- or large-for-gestational age. *Pediatrics*. 1999 Sep;104(3):e33.
34. Bhargava S, Sachdev H, Fall C, Osmond C, Lakshmy R, Barker D, et al. Relation of serial changes in childhood body-mass index to impaired glucose tolerance in young adulthood. *N Engl J Med*. 2004 Feb;350(9):865-75.
35. Eriksson J, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker D. Early adiposity rebound in childhood and risk of Type 2 diabetes in adult life. *Diabetologia*. 2003 Feb;46(2):190-4.
36. Barker DJ. Intrauterine programming of adult disease. *Mol Med Today*. 1995 Dec;1(9):418-23.
37. Barker D, Eriksson J, Forsén T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol*. 2002 Dec;31(6):1235-9.
38. Zhang Q, Wang Y. Socioeconomic inequality of obesity in the United States: do gender, age, and ethnicity matter? *Soc Sci Med*. 2004 Mar;58(6):1171-80.
39. Arenz S, Ruckerl R, Koletzko B, von Kries R. Breast-feeding and childhood obesity--a systematic review. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Oct;28(10):1247-56.
40. Jordan A. The role of media in children's development: an ecological perspective. *J Dev Behav Pediatr*. 2004 Jun;25(3):196-206.
41. Bowman S, Gortmaker S, Ebbeling C, Pereira M, Ludwig D. Effects of fast-food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. *Pediatrics*. 2004 Jan;113(1 Pt 1):112-8.
42. Heaney R, Davies K, Barger-Lux M. Calcium and weight: clinical studies. *J Am Coll Nutr*. 2002 Apr;21(2):152S-5S.
43. Ludwig D, Peterson K, Gortmaker S. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet*. 2001 Feb;357(9255):505-8.
44. Forshee RA, Anderson PA, Storey ML. Sugar-sweetened beverages and body mass index in children and adolescents: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2008 Jun;87(6):1662-71.
45. Dietz WH. Health consequences of obesity in youth: childhood predictors of adult disease. *Pediatrics*. 1998 Mar;101(3 Pt 2):518-25.
46. Whitaker R, Wright J, Pepe M, Seidel K, Dietz W. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med*. 1997 Sep;337(13):869-73.
47. Freedman D, Khan L, Dietz W, Srinivasan S, Berenson G. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 2001 Sep;108(3):712-8.
48. Reilly JJ, Methven E, McDowell ZC, Hacking B, Alexander D, Stewart L, et al. Health consequences of obesity. *Arch Dis Child*. 2003 Sep;88(9):748-52.

49. Weiss R, Dziura J, Burgert T, Tamborlane W, Taksali S, Yeckel C, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004 Jun;350(23):2362-74.
50. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane W, Banyas B, Allen K, et al. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med*. 2002 Mar;346(11):802-10.
51. Wiegand S, Maikowski U, Blankenstein O, Biebermann H, Tarnow P, Grüters A. Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in European children and adolescents with obesity -- a problem that is no longer restricted to minority groups. *Eur J Endocrinol*. 2004 Aug;151(2):199-206.
52. Lobstein T, Jackson-Leach R. Estimated burden of paediatric obesity and co-morbidities in Europe. Part 2. Numbers of children with indicators of obesity-related disease. *Int J Pediatr Obes*. 2006;1(1):33-41.
53. Bell L, Byrne S, Thompson A, Ratnam N, Blair E, Bulsara M, et al. Increasing body mass index z-score is continuously associated with complications of overweight in children, even in the healthy weight range. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Feb;92(2):517-22.
54. Reaven G. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988 Dec;37(12):1595-607.
55. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001 Apr;24(4):683-9.
56. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May;285(19):2486-97.
57. Grundy S, Cleeman J, Daniels S, Donato K, Eckel R, Franklin B, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct;112(17):2735-52.
58. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004 Jan;27 Suppl 1:S5-S10.
59. Cook S, Auinger P, Li C, Ford E. Metabolic syndrome rates in United States adolescents, from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2002. *J Pediatr*. 2008 Feb;152(2):165-70.
60. Alberti K, Zimmet P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998 Jul;15(7):539-53.
61. Alberti K, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*. 2006 May;23(5):469-80.
62. Zimmet P, Alberti G, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents. *Lancet*. 2007 Jun;369(9579):2059-61.

63. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005 Sep;28(9):2289-304.
64. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 364(9438):937-52.
65. Brambilla P, Bedogni G, Moreno L, Goran M, Gutin B, Fox K, et al. Crossvalidation of anthropometry against magnetic resonance imaging for the assessment of visceral and subcutaneous adipose tissue in children. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Jan;30(1):23-30.
66. Lee S, Bacha F, Gungor N, Arslanian S. Waist circumference is an independent predictor of insulin resistance in black and white youths. *J Pediatr*. 2006 Feb;148(2):188-94.
67. Flodmark C, Sveger T, Nilsson-Ehle P. Waist measurement correlates to a potentially atherogenic lipoprotein profile in obese 12-14-year-old children. *Acta Paediatr*. 1994 Sep;83(9):941-5.
68. Hirschler V, Aranda C, Calcagno ML, Maccalini G, Jadzinsky M. Can waist circumference identify children with the metabolic syndrome? *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005 Aug;159(8):740-4.
69. Kissebah A, Vydellingum N, Murray R, Evans D, Hartz A, Kalkhoff R, et al. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982 Feb;54(2):254-60.
70. Goodman E, Dolan L, Morrison J, Daniels S. Factor analysis of clustered cardiovascular risks in adolescence: obesity is the predominant correlate of risk among youth. *Circulation*. 2005 Apr;111(15):1970-7.
71. Rodríguez-Morán M, Salazar-Vázquez B, Violante R, Guerrero-Romero F. Metabolic syndrome among children and adolescents aged 10-18 years. *Diabetes Care*. 2004 Oct;27(10):2516-7.
72. de Ferranti S, Gauvreau K, Ludwig D, Neufeld E, Newburger J, Rifai N. Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation*. 2004 Oct;110(16):2494-7.
73. Lambert M, Paradis G, O'Loughlin J, Delvin E, Hanley J, Levy E. Insulin resistance syndrome in a representative sample of children and adolescents from Quebec, Canada. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Jul;28(7):833-41.
74. Csábi G, Török K, Jeges S, Molnár D. Presence of metabolic cardiovascular syndrome in obese children. *Eur J Pediatr*. 159(1-2):91-4.
75. Druet C, Tubiana-Rufi N, Chevenne D, Rigal O, Polak M, Levy-Marchal C. Characterization of insulin secretion and resistance in type 2 diabetes of adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Feb;91(2):401-4.
76. López-Capapé M, Alonso M, Colino E, Mustieles C, Corbatón J, Barrio R. Frequency of the metabolic syndrome in obese Spanish pediatric population. *Eur J Endocrinol*. 2006 Aug;155(2):313-9.

77. Invitti C, Guzzaloni G, Gilardini L, Morabito F, Viberti G. Prevalence and concomitants of glucose intolerance in European obese children and adolescents. *Diabetes Care*. 2003 Jan;26(1):118-24.
78. Burrows AR LB, Weistaub G, Ceballos SX, Gattas ZV, Lera ML, Albala BC. Prevalence of metabolic syndrome in a sample of Chilean children consulting in an obesity clinic. *Rev Med Chil*. 2007;135:174-81.
79. Berenson G, Srinivasan S, Bao W, Newman Wr, Tracy R, Wattigney W. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med*. 1998 Jun;338(23):1650-6.
80. Raitakari O, Juonala M, Kähönen M, Taittonen L, Laitinen T, Mäki-Torkko N, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA*. 2003 Nov;290(17):2277-83.
81. Morrison J, Friedman L, Wang P, Glueck C. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *J Pediatr*. 2008 Feb;152(2):201-6.
82. Sun S, Liang R, Huang T, Daniels S, Arslanian S, Liu K, et al. Childhood obesity predicts adult metabolic syndrome: the Fels Longitudinal Study. *J Pediatr*. 2008 Feb;152(2):191-200.
83. Mahoney L, Burns T, Stanford W, Thompson B, Witt J, Rost C, et al. Coronary risk factors measured in childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults: the Muscatine Study. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Feb;27(2):277-84.
84. Davis P, Dawson J, Riley W, Lauer R. Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. *Circulation*. 2001 Dec;104(23):2815-9.
85. Schwimmer J, Deutsch R, Kahen T, Lavine J, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics*. 2006 Oct;118(4):1388-93.
86. Lavine J, Schwimmer J. Nonalcoholic fatty liver disease in the pediatric population. *Clin Liver Dis*. 2004 Aug;8(3):549-58, viii-ix.
87. Siebler J, Galle P. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2006 Apr;12(14):2161-7.
88. Eyzaguirre F, Mericq V. Insulin Resistance Markers in Children. *Horm Res*. 2009;71(2):65-74.
89. Weiss R, Dufour S, Taksali S, Tamborlane W, Petersen K, Bonadonna R, et al. Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance, and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Lancet*. 2003 Sep;362(9388):951-7.
90. Weiss R, Taksali S, Dufour S, Yeckel C, Papademetris X, Cline G, et al. The "obese insulin-sensitive" adolescent: importance of adiponectin and lipid partitioning. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Jun;90(6):3731-7.

91. Shulman G. Unraveling the cellular mechanism of insulin resistance in humans: new insights from magnetic resonance spectroscopy. *Physiology (Bethesda)*. 2004 Aug;19:183-90.
92. Zderic T, Davidson C, Schenk S, Byerley L, Coyle E. High-fat diet elevates resting intramuscular triglyceride concentration and whole body lipolysis during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004 Feb;286(2):E217-25.
93. Kelley D, He J, Menshikova E, Ritov V. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002 Oct;51(10):2944-50.
94. Menshikova E, Ritov V, Toledo F, Ferrell R, Goodpaster B, Kelley D. Effects of weight loss and physical activity on skeletal muscle mitochondrial function in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005 Apr;288(4):E818-25.
95. Taksali S, Caprio S, Dziura J, Dufour S, Calí A, Goodman T, et al. High visceral and low abdominal subcutaneous fat stores in the obese adolescent: a determinant of an adverse metabolic phenotype. *Diabetes*. 2008 Feb;57(2):367-71.
96. Hauner H. Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc*. 2005 May;64(2):163-9.
97. Kershaw E, Flier J. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2548-56.
98. Sjöholm A, Nyström T. Endothelial inflammation in insulin resistance. *Lancet*. 365(9459):610-2.
99. Hansson G. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005 Apr;352(16):1685-95.
100. Kahn S, Hull R, Utzschneider K. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006 Dec;444(7121):840-6.
101. de Visser K, Eichten A, Coussens L. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer*. 2006 Jan;6(1):24-37.
102. Britschgi M, Wyss-Coray T. Immune cells may fend off Alzheimer disease. *Nat Med*. 2007 Apr;13(4):408-9.
103. Vogt B, Führrohr B, Müller R, Sheriff A. CRP and the disposal of dying cells: consequences for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity*. 2007 Jun;40(4):295-8.
104. Berenson G, Wattigney W, Tracy R, Newman Wr, Srinivasan S, Webber L, et al. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*. 1992 Oct;70(9):851-8.
105. Kapiotis S, Holzer G, Schaller G, Haumer M, Widhalm H, Weghuber D, et al. A proinflammatory state is detectable in obese children and is accompanied by functional and morphological vascular changes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Nov;26(11):2541-6.
106. Ridker P. Evaluating novel cardiovascular risk factors: can we better predict heart attacks? *Ann Intern Med*. 1999 Jun;130(11):933-7.

107. Sbarbati A, Osculati F, Silvagni D, Benati D, Galiè M, Camoglio F, et al. Obesity and inflammation: evidence for an elementary lesion. *Pediatrics*. 2006 Jan;117(1):220-3.
108. Homma Y. Predictors of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2004;11(5):265-70.
109. Ridker P. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003 Jan;107(3):363-9.
110. Wärnberg J, Moreno L, Mesana M, Marcos A. Inflammatory mediators in overweight and obese Spanish adolescents. The AVENA Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Nov;28 Suppl 3:S59-63.
111. Ford E, Galuska D, Gillespie C, Will J, Giles W, Dietz W. C-reactive protein and body mass index in children: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Pediatr*. 2001 Apr;138(4):486-92.
112. Moran A, Steffen L, Jacobs DJ, Steinberger J, Pankow J, Hong C, et al. Relation of C-reactive protein to insulin resistance and cardiovascular risk factors in youth. *Diabetes Care*. 2005 Jul;28(7):1763-8.
113. Lambert M, Delvin E, Paradis G, O'Loughlin J, Hanley J, Levy E. C-reactive protein and features of the metabolic syndrome in a population-based sample of children and adolescents. *Clin Chem*. 2004 Oct;50(10):1762-8.
114. Bastard J, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Sep;85(9):3338-42.
115. Nemet D, Wang P, Funahashi T, Matsuzawa Y, Tanaka S, Engelman L, et al. Adipocytokines, body composition, and fitness in children. *Pediatr Res*. 2003 Jan;53(1):148-52.
116. Lee S, Gungor N, Bacha F, Arslanian S. Insulin resistance: link to the components of the metabolic syndrome and biomarkers of endothelial dysfunction in youth. *Diabetes Care*. 2007 Aug;30(8):2091-7.
117. Dixon D, Goldberg R, Schneiderman N, Delamater A. Gender differences in TNF-alpha levels among obese vs nonobese Latino children. *Eur J Clin Nutr*. 2004 Apr;58(4):696-9.
118. Zinman B, Hanley A, Harris S, Kwan J, Fantus I. Circulating tumor necrosis factor-alpha concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Jan;84(1):272-8.
119. Gerber M, Boettner A, Seidel B, Lammert A, Bär J, Schuster E, et al. Serum resistin levels of obese and lean children and adolescents: biochemical analysis and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Aug;90(8):4503-9.
120. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993 Apr;362(6423):801-9.

121. Gura T. Obesity research. Tracing leptin's partners in regulating body weight. *Science*. 2000 Mar;287(5459):1738-41.
122. Mantzoros C, Moschos S, Avramopoulos I, Kaklamani V, Liolios A, Doulgerakis D, et al. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor-alpha system in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Oct;82(10):3408-13.
123. Ahima R, Flier J. Leptin. *Annu Rev Physiol*. 2000;62:413-37.
124. Flier J. Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 May;83(5):1407-13.
125. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K. Adiponectin and adiponectin receptors in obesity-linked insulin resistance. *Novartis Found Symp*. 2007;286:164-76; discussion 76-82, 200-3.
126. Hara K, Yamauchi T, Kadowaki T. Adiponectin: an adipokine linking adipocytes and type 2 diabetes in humans. *Curr Diab Rep*. 2005 Apr;5(2):136-40.
127. Hara T, Fujiwara H, Shoji T, Mimura T, Nakao H, Fujimoto S. Decreased plasma adiponectin levels in young obese males. *J Atheroscler Thromb*. 2003;10(4):234-8.
128. Böttner A, Kratzsch J, Müller G, Kapellen T, Blüher S, Keller E, et al. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Aug;89(8):4053-61.
129. Jeffery AN, Murphy MJ, Metcalf BS, Hosking J, Voss LD, English P, et al. Adiponectin in childhood. *Int J Pediatr Obes*. 2008;3(3):130-40.
130. Koerner A, Kratzsch J, Kiess W. Adipocytokines: leptin--the classical, resistin--the controversial, adiponectin--the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2005 Dec;19(4):525-46.
131. Gilardini L, McTernan P, Girola A, da Silva N, Alberti L, Kumar S, et al. Adiponectin is a candidate marker of metabolic syndrome in obese children and adolescents. *Atherosclerosis*. 2006 Dec;189(2):401-7.
132. Lee S, Bacha F, Gungor N, Arslanian S. Comparison of different definitions of pediatric metabolic syndrome: relation to abdominal adiposity, insulin resistance, adiponectin, and inflammatory biomarkers. *J Pediatr*. 2008 Feb;152(2):177-84.
133. Ogawa Y, Kikuchi T, Nagasaki K, Hiura M, Tanaka Y, Uchiyama M. Usefulness of serum adiponectin level as a diagnostic marker of metabolic syndrome in obese Japanese children. *Hypertens Res*. 2005 Jan;28(1):51-7.
134. Araki S, Dobashi K, Kubo K, Asayama K, Shirahata A. High molecular weight, rather than total, adiponectin levels better reflect metabolic abnormalities associated with childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Dec;91(12):5113-6.
135. Pilz S, Horejsi R, Möller R, Almer G, Scharnagl H, Stojakovic T, et al. Early atherosclerosis in obese juveniles is associated with low serum levels of adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Aug;90(8):4792-6.

136. Gregoire F. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Exp Biol Med* (Maywood). 2001 Dec;226(11):997-1002.
137. Körner A, Wabitsch M, Seidel B, Fischer-Posovszky P, Berthold A, Stumvoll M, et al. Adiponectin expression in humans is dependent on differentiation of adipocytes and down-regulated by humoral serum components of high molecular weight. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Nov;337(2):540-50.
138. Soares A, Guichardant M, Cozzone D, Bernoud-Hubac N, Bouzaïdi-Tiali N, Lagarde M, et al. Effects of oxidative stress on adiponectin secretion and lactate production in 3T3-L1 adipocytes. *Free Radic Biol Med*. 2005 Apr;38(7):882-9.
139. Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia*. 2003 Dec;46(12):1594-603.
140. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, et al. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*. 2003 Jul;52(7):1655-63.
141. Degawa-Yamauchi M, Moss K, Bovenkerk J, Shankar S, Morrison C, Lelliott C, et al. Regulation of adiponectin expression in human adipocytes: effects of adiposity, glucocorticoids, and tumor necrosis factor alpha. *Obes Res*. 2005 Apr;13(4):662-9.
142. Nilsson L, Binart N, Bohlooly-Y M, Bramnert M, Egecioglu E, Kindblom J, et al. Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Jun;331(4):1120-6.
143. Flower D. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J*. 1996 Aug;318 ( Pt 1):1-14.
144. Goodman D. Plasma retinol-binding protein. *Ann N Y Acad Sci*. 1980;348:378-90.
145. Yang Q, Graham T, Mody N, Preitner F, Peroni O, Zabolotny J, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 2005 Jul;436(7049):356-62.
146. Graham T, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi T, Henry R, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med*. 2006 Jun;354(24):2552-63.
147. Shepherd P, Kahn B. Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1999 Jul;341(4):248-57.
148. Haider D, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M, et al. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Mar;92(3):1168-71.
149. Klötting N, Graham T, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Wason C, et al. Serum retinol-binding protein is more highly expressed in visceral than in subcutaneous adipose tissue and is a marker of intra-abdominal fat mass. *Cell Metab*. 2007 Jul;6(1):79-87.



150. Polonsky K. Retinol-binding protein 4, insulin resistance, and type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2006 Jun;354(24):2596-8.
151. Janke J, Engeli S, Boschmann M, Adams F, Böhnke J, Luft F, et al. Retinol-binding protein 4 in human obesity. *Diabetes*. 2006 Oct;55(10):2805-10.
152. Broch M, Vendrell J, Ricart W, Richart C, Fernández-Real J. Circulating retinol-binding protein-4, insulin sensitivity, insulin secretion, and insulin disposition index in obese and nonobese subjects. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30(7):1802-6.
153. Takashima N, Tomoike H, Iwai N. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance. *N Engl J Med*. 2006 Sep;355(13):1392; author reply 4-5.
154. Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, Lossner U, Kratzsch J, Blüher M, et al. Serum levels of adipokine retinol-binding protein-4 in relation to renal function. *Diabetes Care*. 2007 Oct;30(10):2588-92.
155. Cho Y, Youn B, Lee H, Lee N, Min S, Kwak S, et al. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Nov;29(11):2457-61.
156. Lewis J, Shand B, Elder P, Scott R. Plasma retinol-binding protein is unlikely to be a useful marker of insulin resistance. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008 Apr;80(1):e13-5.
157. Gavi S, Qurashi S, Stuart L, Lau R, Melendez M, Mynarcik D, et al. Influence of age on the association of retinol-binding protein 4 with metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)*. 2008 Apr;16(4):893-5.
158. Balagopal P, Graham T, Kahn B, Altomare A, Funanage V, George D. Reduction of elevated serum retinol binding protein in obese children by lifestyle intervention: association with subclinical inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 May;92(5):1971-4.
159. Lee DC, Lee JW, Im JA. Association of serum retinol binding protein 4 and insulin resistance in apparently healthy adolescents. *Metabolism*. 2007 Mar;56(3):327-31.
160. Kanaka-Gantenbein C, Margeli A, Pervanidou P, Sakka S, Mastorakos G, Chrousos GP, et al. Retinol-binding protein 4 and lipocalin-2 in childhood and adolescent obesity: when children are not just "small adults". *Clin Chem*. 2008 Jul;54(7):1176-82.
161. Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL. Retinol-binding protein 4 and its relation to insulin resistance in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Jun;93(6):2287-93.
162. Goodman E, Graham TE, Dolan LM, Daniels SR, Goodman ER, Kahn BB. The relationship of retinol binding protein 4 to changes in insulin resistance and cardiometabolic risk in overweight black adolescents. *J Pediatr*. 2009 Jan;154(1):67-73 e1.
163. Graham T, Wason C, Blüher M, Kahn B. Shortcomings in methodology complicate measurements of serum retinol binding protein (RBP4) in insulin-resistant human subjects. *Diabetologia*. 2007 Apr;50(4):814-23.

164. Lee J, Im J, Lee H, Shim J, Youn B, Lee D. Visceral adiposity is associated with serum retinol binding protein-4 levels in healthy women. *Obesity (Silver Spring)*. 2007 Sep;15(9):2225-32.
165. Aeberli I, Biebinger R, Lehmann R, L'Allemand D, Spinass GA, Zimmermann MB. Serum retinol-binding protein 4 concentration and its ratio to serum retinol are associated with obesity and metabolic syndrome components in children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Nov;92(11):4359-65.
166. Flo T, Smith K, Sato S, Rodriguez D, Holmes M, Strong R, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*. 2004 Dec;432(7019):917-21.
167. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes M, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 365(9466):1231-8.
168. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int*. 2009 Feb;75(3):285-94.
169. Liu Q, Nilsen-Hamilton M. Identification of a new acute phase protein. *J Biol Chem*. 1995 Sep;270(38):22565-70.
170. Meheus L, Franssen L, Raymackers J, Blockx H, Van Beeumen J, Van Bun S, et al. Identification by microsequencing of lipopolysaccharide-induced proteins secreted by mouse macrophages. *J Immunol*. 1993 Aug;151(3):1535-47.
171. Jayaraman A, Roberts K, Yoon J, Yarmush D, Duan X, Lee K, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a discriminatory marker of the hepatocyte-secreted protein response to IL-1beta: a proteomic analysis. *Biotechnol Bioeng*. 2005 Aug;91(4):502-15.
172. Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. *Clin Chem*. 2007 Jan;53(1):34-41.
173. van Dam R, Hu F. Lipocalins and insulin resistance: etiological role of retinol-binding protein 4 and lipocalin-2? *Clin Chem*. 2007 Jan;53(1):5-7.
174. Choi K, Lee J, Kim E, Baik S, Seo H, Choi D, et al. Implication of lipocalin-2 and visfatin levels in patients with coronary heart disease. *Eur J Endocrinol*. 2008 Feb;158(2):203-7.
175. Xu A, Wang Y, Xu J, Stejskal D, Tam S, Zhang J, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem*. 2006 Mar;52(3):405-13.
176. Stejskal D, Karpíšek M, Humenanska V, Hanulova Z, Stejskal P, Kusnierova P, et al. Lipocalin-2: development, analytical characterization, and clinical testing of a new ELISA. *Horm Metab Res*. 2008 Jun;40(6):381-5.
177. Yan QW, Yang Q, Mody N, Graham TE, Hsu CH, Xu Z, et al. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance. *Diabetes*. 2007 Oct;56(10):2533-40.

178. Zhang J, Wu Y, Zhang Y, Leroith D, Bernlohr DA, Chen X. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. *Mol Endocrinol*. 2008 Jun;22(6):1416-26.
179. Hotamisligil G. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006 Dec;444(7121):860-7.
180. Funk C. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science*. 2001 Nov;294(5548):1871-5.
181. Stumvoll M, Goldstein B, van Haeften T. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 365(9467):1333-46.
182. Haunerland N, Spener F. Fatty acid-binding proteins--insights from genetic manipulations. *Prog Lipid Res*. 2004 Jul;43(4):328-49.
183. Coe N, Bernlohr D. Physiological properties and functions of intracellular fatty acid-binding proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1998 Apr;1391(3):287-306.
184. Ockner RK MJ, Poppenhausen RB, Ho WK. A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium, and other tissues. *Science*. 1972;177:56-8.
185. Veerkamp J, van Moerkerk H. Fatty acid-binding protein and its relation to fatty acid oxidation. *Mol Cell Biochem*. 123(1-2):101-6.
186. Schachtrup C, Emmler T, Bleck B, Sandqvist A, Spener F. Functional analysis of peroxisome-proliferator-responsive element motifs in genes of fatty acid-binding proteins. *Biochem J*. 2004 Aug;382(Pt 1):239-45.
187. Tan N, Shaw N, Vinckenbosch N, Liu P, Yasmin R, Desvergne B, et al. Selective cooperation between fatty acid binding proteins and peroxisome proliferator-activated receptors in regulating transcription. *Mol Cell Biol*. 2002 Jul;22(14):5114-27.
188. Chmurzyńska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. *J Appl Genet*. 2006;47(1):39-48.
189. Furuhashi M, Hotamisligil G. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov*. 2008 Jun;7(6):489-503.
190. Spiegelman B, Frank M, Green H. Molecular cloning of mRNA from 3T3 adipocytes. Regulation of mRNA content for glycerophosphate dehydrogenase and other differentiation-dependent proteins during adipocyte development. *J Biol Chem*. 1983 Aug;258(16):10083-9.
191. Hotamisligil G, Johnson R, Distel R, Ellis R, Papaioannou V, Spiegelman B. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science*. 1996 Nov;274(5291):1377-9.
192. Scheja L, Makowski L, Uysal K, Wiesbrock S, Shimshek D, Meyers D, et al. Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in aP2<sup>-/-</sup> mice. *Diabetes*. 1999 Oct;48(10):1987-94.

193. Shen W, Sridhar K, Bernlohr D, Kraemer F. Interaction of rat hormone-sensitive lipase with adipocyte lipid-binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 May;96(10):5528-32.
194. Maeda K, Cao H, Kono K, Gorgun C, Furuhashi M, Uysal K, et al. Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. *Cell Metab*. 2005 Feb;1(2):107-19.
195. Makowski L, Boord J, Maeda K, Babaev V, Uysal K, Morgan M, et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat Med*. 2001 Jun;7(6):699-705.
196. Shum B, Mackay C, Gorgun C, Frost M, Kumar R, Hotamisligil G, et al. The adipocyte fatty acid-binding protein aP2 is required in allergic airway inflammation. *J Clin Invest*. 2006 Aug;116(8):2183-92.
197. Fu Y, Luo N, Lopes-Virella M, Garvey W. The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*. 2002 Dec;165(2):259-69.
198. Tso A, Xu A, Sham P, Wat N, Wang Y, Fong C, et al. Serum adipocyte fatty acid binding protein as a new biomarker predicting the development of type 2 diabetes: a 10-year prospective study in a Chinese cohort. *Diabetes Care*. 2007 Oct;30(10):2667-72.
199. Yeung D, Xu A, Cheung C, Wat N, Yau M, Fong C, et al. Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels were independently associated with carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Aug;27(8):1796-802.
200. Rhee E, Lee W, Park C, Oh K, Kim B, Sung K, et al. The association of serum adipocyte fatty acid-binding protein with coronary artery disease in Korean adults. *Eur J Endocrinol*. 2009 Feb;160(2):165-72.
201. Xu A, Tso A, Cheung B, Wang Y, Wat N, Fong C, et al. Circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. *Circulation*. 2007 Mar;115(12):1537-43.
202. Stejskal D, Karpisek M. Adipocyte fatty acid binding protein in a Caucasian population: a new marker of metabolic syndrome? *Eur J Clin Invest*. 2006 Sep;36(9):621-5.
203. Simón I, Escoté X, Vilarrasa N, Gómez J, Fernández-Real J, Megía A, et al. Adipocyte Fatty Acid-binding Protein as a Determinant of Insulin Sensitivity in Morbid-obese Women. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Feb.
204. Tuncman G, Erbay E, Hom X, De Vivo I, Campos H, Rimm E, et al. A genetic variant at the fatty acid-binding protein aP2 locus reduces the risk for hypertriglyceridemia, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 May;103(18):6970-5.
205. Furuhashi M, Tuncman G, Görgün C, Makowski L, Atsumi G, Vaillancourt E, et al. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature*. 2007 Jun;447(7147):959-65.
206. Furuhashi M, Fucho R, Görgün C, Tuncman G, Cao H, Hotamisligil G. Adipocyte/macrophage fatty acid-binding proteins contribute to metabolic

- deterioration through actions in both macrophages and adipocytes in mice. *J Clin Invest*. 2008 Jul;118(7):2640-50.
207. Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth C. Adipocyte fatty acid-binding protein in obese children before and after weight loss. *Metabolism*. 2007 Dec;56(12):1735-41.
208. Auwerx J. PPARgamma, the ultimate thrifty gene. *Diabetologia*. 1999 Sep;42(9):1033-49.
209. MacDougald O, Burant C. The rapidly expanding family of adipokines. *Cell Metab*. 2007 Sep;6(3):159-61.
210. Rabe K, Lehrke M, Parhofer K, Broedl U. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*.14(11-12):741-51.
211. Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Salvador J, Frühbeck G. Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. *Expert Opin Pharmacother*. 2009 Feb;10(2):239-54.
212. Hristova M, Aloe L. Metabolic syndrome--neurotrophic hypothesis. *Med Hypotheses*. 2006;66(3):545-9.
213. Yan Q, Rosenfeld R, Matheson C, Hawkins N, Lopez O, Bennett L, et al. Expression of brain-derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience*. 1997 May;78(2):431-48.
214. Ono M, Ichihara J, Nonomura T, Itakura Y, Taiji M, Nakayama C, et al. Brain-derived neurotrophic factor reduces blood glucose level in obese diabetic mice but not in normal mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Sep;238(2):633-7.
215. Xu B, Goulding E, Zang K, Cepoi D, Cone R, Jones K, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci*. 2003 Jul;6(7):736-42.
216. Wang H, Chen D, Wu X, Huang J, Luo X. [Effect of precursor of brain-derived neurotrophic factor on hippocampal neuron survival and its mechanism]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2007 Oct;32(5):800-5.
217. Nakahashi T, Fujimura H, Altar C, Li J, Kambayashi J, Tandon N, et al. Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. *FEBS Lett*. 2000 Mar;470(2):113-7.
218. Donovan M, Miranda R, Kraemer R, McCaffrey T, Tessarollo L, Mahadeo D, et al. Neurotrophin and neurotrophin receptors in vascular smooth muscle cells. Regulation of expression in response to injury. *Am J Pathol*. 1995 Aug;147(2):309-24.
219. Fernyhough P, Diemel L, Brewster W, Tomlinson D. Altered neurotrophin mRNA levels in peripheral nerve and skeletal muscle of experimentally diabetic rats. *J Neurochem*. 1995 Mar;64(3):1231-7.
220. Kernie S, Liebl D, Parada L. BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. *EMBO J*. 2000 Mar;19(6):1290-300.
221. Nonomura T, Tsuchida A, Ono-Kishino M, Nakagawa T, Taiji M, Noguchi H. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy expenditure through the

central nervous system in obese diabetic mice. *Int J Exp Diabetes Res*. 2001;2(3):201-9.

222. Rios M, Fan G, Fekete C, Kelly J, Bates B, Kuehn R, et al. Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. *Mol Endocrinol*. 2001 Oct;15(10):1748-57.

223. Nakagawa T, Ogawa Y, Ebihara K, Yamanaka M, Tsuchida A, Taiji M, et al. Anti-obesity and anti-diabetic effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent models of leptin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 May;27(5):557-65.

224. Molteni R, Barnard R, Ying Z, Roberts C, Gómez-Pinilla F. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience*. 2002;112(4):803-14.

225. Fox E, Byerly M. A mechanism underlying mature-onset obesity: evidence from the hyperphagic phenotype of brain-derived neurotrophic factor mutants. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Jun;286(6):R994-1004.

226. Duan W, Guo Z, Jiang H, Ware M, Mattson M. Reversal of behavioral and metabolic abnormalities, and insulin resistance syndrome, by dietary restriction in mice deficient in brain-derived neurotrophic factor. *Endocrinology*. 2003 Jun;144(6):2446-53.

227. Koizumi H, Hashimoto K, Iyo M. Dietary restriction changes behaviours in brain-derived neurotrophic factor heterozygous mice: role of serotonergic system. *Eur J Neurosci*. 2006 Oct;24(8):2335-44.

228. Tsao D, Thomsen H, Chou J, Stratton J, Hagen M, Loo C, et al. TrkB agonists ameliorate obesity and associated metabolic conditions in mice. *Endocrinology*. 2008 Mar;149(3):1038-48.

229. El-Gharbawy A, Adler-Wailes D, Mirch M, Theim K, Ranzenhofer L, Tanofsky-Kraff M, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in lean and overweight children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Sep;91(9):3548-52.

230. Lommatzsch M, Zingler D, Schuhbaeck K, Schloetcke K, Zingler C, Schuff-Werner P, et al. The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiol Aging*. 2005 Jan;26(1):115-23.

231. Suwa M, Kishimoto H, Nofuji Y, Nakano H, Sasaki H, Radak Z, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor level is increased and associated with obesity in newly diagnosed female patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2006 Jul;55(7):852-7.

232. Ribasés M, Gratacòs M, Fernández-Aranda F, Bellodi L, Boni C, Anderluh M, et al. Association of BDNF with restricting anorexia nervosa and minimum body mass index: a family-based association study of eight European populations. *Eur J Hum Genet*. 2005 Apr;13(4):428-34.

233. Friedel S, Horro F, Wermter A, Geller F, Dempfle A, Reichwald K, et al. Mutation screen of the brain derived neurotrophic factor gene (BDNF): identification of several genetic variants and association studies in patients

with obesity, eating disorders, and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2005 Jan;132B(1):96-9.

234. Gray J, Yeo G, Cox J, Morton J, Adlam A, Keogh J, et al. Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Diabetes.* 2006 Dec;55(12):3366-71.

235. Krabbe K, Nielsen A, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2007 Feb;50(2):431-8.

236. Geroldi D, Minoretti P, Emanuele E. Brain-derived neurotrophic factor and the metabolic syndrome: more than just a hypothesis. *Med Hypotheses.* 2006;67(1):195-6.

237. Bulló M, Peeraully M, Trayhurn P, Folch J, Salas-Salvadó J. Circulating nerve growth factor levels in relation to obesity and the metabolic syndrome in women. *Eur J Endocrinol.* 2007 Sep;157(3):303-10.

238. Araya A, Orellana X, Espinoza J. Evaluation of the effect of caloric restriction on serum BDNF in overweight and obese subjects: preliminary evidences. *Endocrine.* 2008 Nov.

239. Beckers S, Peeters A, Zegers D, Mertens I, Van Gaal L, Van Hul W. Association of the BDNF Val66Met variation with obesity in women. *Mol Genet Metab.*95(1-2):110-2.

240. Fujimura H, Altar C, Chen R, Nakamura T, Nakahashi T, Kambayashi J, et al. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thromb Haemost.* 2002 Apr;87(4):728-34.

241. Aeberli I, Molinari L, Spinaz G, Lehmann R, l'Allemand D, Zimmermann M. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. *Am J Clin Nutr.* 2006 Oct;84(4):748-55.

242. Warnberg J, Nova E, Romeo J, Moreno LA, Sjostrom M, Marcos A. Lifestyle-related determinants of inflammation in adolescence. *Br J Nutr.* 2007 Oct;98 Suppl 1:S116-20.

243. Wörnberg J, Marcos A. Low-grade inflammation and the metabolic syndrome in children and adolescents. *Curr Opin Lipidol.* 2008 Feb;19(1):11-5.

244. Hernández M CJ, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E y col. Curvas y tablas de crecimiento. Instituto sobre crecimiento y desarrollo. Fundación Orbegozo. Madrid: Garsi, 1988.

245. Willett W. Reproducibility and validity of food-frequency questionnaires. In: Willett W editor. *Nutritional Epidemiology.* New York, Oxford University Press 1998. pp 101-47.

246. Vioque J. Validez de la evaluación de la ingesta dietética. In: ESMLyAB, editor. *Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones.* Barcelona: Masson-Elsevier; 2006. pp 199-210.

247. Willett W, Stampfer M. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol*. 1986 Jul;124(1):17-27.
248. Marshall W, Tanner J. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*. 1969 Jun;44(235):291-303.
249. Marshall W, Tanner J. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*. 1970 Feb;45(239):13-23.
250. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics*. 2004 Aug;114(2 Suppl 4th Report):555-76.
251. Cole T. The LMS method for constructing normalized growth standards. *Eur J Clin Nutr*. 1990 Jan;44(1):45-60.
252. Gungor N, Saad R, Janosky J, Arslanian S. Validation of surrogate estimates of insulin sensitivity and insulin secretion in children and adolescents. *J Pediatr*. 2004 Jan;144(1):47-55.
253. Conwell L, Trost S, Brown W, Batch J. Indexes of insulin resistance and secretion in obese children and adolescents: a validation study. *Diabetes Care*. 2004 Feb;27(2):314-9.
254. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412-9.
255. Freedman D, Dietz W, Srinivasan S, Berenson G. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 1999 Jun;103(6 Pt 1):1175-82.
256. Leis R, Pavón P, Queiro T, Recarey D, Tojo R. Atherogenic diet and blood lipid profile in children and adolescents from Galicia, NW Spain. The Galinut Study. *Acta Paediatr*. 1999 Jan;88(1):19-23.
257. Serra Majem L, Ribas Barba L, Salvador Castell G, Roman Viñas B, Castell Abat C, Cabezas Peña C, et al. [Trends in the nutritional status of the Spanish population: results from the Catalan nutrition monitoring system (1992-2003)]. *Rev Esp Salud Publica*. 81(5):559-70.
258. Reinehr T, Andler W. Changes in the atherogenic risk factor profile according to degree of weight loss. *Arch Dis Child*. 2004 May;89(5):419-22.
259. Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz W. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2003 Aug;157(8):821-7.
260. Ford E, Ajani U, Mokdad A. The metabolic syndrome and concentrations of C-reactive protein among U.S. youth. *Diabetes Care*. 2005 Apr;28(4):878-81.
261. Cruz M, Weigensberg M, Huang T, Ball G, Shaibi G, Goran M. The metabolic syndrome in overweight Hispanic youth and the role of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jan;89(1):108-13.



262. Moran A, Jacobs DJ, Steinberger J, Hong C, Prineas R, Luepker R, et al. Insulin resistance during puberty: results from clamp studies in 357 children. *Diabetes*. 1999 Oct;48(10):2039-44.
263. Golley R, Magarey A, Steinbeck K, Baur L, Daniels L. Comparison of metabolic syndrome prevalence using six different definitions in overweight pre-pubertal children enrolled in a weight management study. *Int J Obes (Lond)*. 2006 May;30(5):853-60.
264. Viner R, Segal T, Lichtarowicz-Krynska E, Hindmarsh P. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child*. 2005 Jan;90(1):10-4.
265. Druet C, Dabbas M, Baltakse V, Payen C, Jouret B, Baud C, et al. Insulin resistance and the metabolic syndrome in obese French children. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Jun;64(6):672-8.
266. Atabek M, Pirgon O, Kurtoglu S. Prevalence of metabolic syndrome in obese Turkish children and adolescents. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006 Jun;72(3):315-21.
267. Chen W, Bao W, Begum S, Elkasabany A, Srinivasan S, Berenson G. Age-related patterns of the clustering of cardiovascular risk variables of syndrome X from childhood to young adulthood in a population made up of black and white subjects: the Bogalusa Heart Study. *Diabetes*. 2000 Jun;49(6):1042-8.
268. Goodman E, Daniels S, Morrison J, Huang B, Dolan L. Contrasting prevalence of and demographic disparities in the World Health Organization and National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III definitions of metabolic syndrome among adolescents. *J Pediatr*. 2004 Oct;145(4):445-51.
269. Voss L, Metcalf B, Jeffery A, Wilkin T. IOTF thresholds for overweight and obesity and their relation to metabolic risk in children (EarlyBird 20). *Int J Obes (Lond)*. 2006 Apr;30(4):606-9.
270. Hannon T, Rao G, Arslanian S. Childhood obesity and type 2 diabetes mellitus. *Pediatrics*. 2005 Aug;116(2):473-80.
271. Reinehr T, Andler W, Denzer C, Siegried W, Mayer H, Wabitsch M. Cardiovascular risk factors in overweight German children and adolescents: relation to gender, age and degree of overweight. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005 Jun;15(3):181-7.
272. Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet*. 2002 Aug 10;360(9331):473-82.
273. Reinehr T, de Sousa G, Toschke A, Andler W. Long-term follow-up of cardiovascular disease risk factors in children after an obesity intervention. *Am J Clin Nutr*. 2006 Sep;84(3):490-6.
274. Goran M, Ball G, Cruz M. Obesity and risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Apr;88(4):1417-27.

275. Tresaco B, Bueno G, Moreno L, Garagorri J, Bueno M. Insulin resistance and impaired glucose tolerance in obese children and adolescents. *J Physiol Biochem*. 2003 Sep;59(3):217-23.
276. Cali AM, Caprio S. Obesity in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Nov;93(11 Suppl 1):S31-6.
277. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. *Arch Intern Med*. 2001 Feb;161(3):397-405.
278. Weiss R, Taksali S, Tamborlane W, Burgert T, Savoye M, Caprio S. Predictors of changes in glucose tolerance status in obese youth. *Diabetes Care*. 2005 Apr;28(4):902-9.
279. de Luca C, Olefsky J. Stressed out about obesity and insulin resistance. *Nat Med*. 2006 Jan;12(1):41-2; discussion 2.
280. Ten S, Maclaren N. Insulin resistance syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2526-39.
281. Petersen K, Shulman G. Etiology of insulin resistance. *Am J Med*. 2006 May;119(5 Suppl 1):S10-6.
282. Koyama K, Chen G, Lee Y, Unger R. Tissue triglycerides, insulin resistance, and insulin production: implications for hyperinsulinemia of obesity. *Am J Physiol*. 1997 Oct;273(4 Pt 1):E708-13.
283. Calle E, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun M. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*. 2003 Apr;348(17):1625-38.
284. Robbins D, Andersen L, Bowsher R, Chance R, Dinesen B, Frank B, et al. Report of the American Diabetes Association's Task Force on standardization of the insulin assay. *Diabetes*. 1996 Feb;45(2):242-56.
285. Yeste D, Betancourth S, Gussinyé M, Potau N, Carrascosa A. [Glucose intolerance in obese children and adolescents]. *Med Clin (Barc)*. 2005 Oct;125(11):405-8.
286. Spurrier N, Magarey A, Wong C. Recognition and management of childhood overweight and obesity by clinicians. *J Paediatr Child Health*. 42(7-8):411-8.
287. Ness A. The Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC)-a resource for the study of the environmental determinants of childhood obesity. *Eur J Endocrinol*. 2004 Nov;151 Suppl 3:U141-9.
288. Vozarova B, Stefan N, Lindsay R, Saremi A, Pratley R, Bogardus C, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002 Jun;51(6):1889-95.
289. Caldwell S, Lazo M. Is exercise an effective treatment for NASH? Knowns and unknowns. *Ann Hepatol*. 2009;8 Suppl 1:S60-6.
290. Kantartzis K, Thamer C, Peter A, Machann J, Schick F, Schraml C, et al. High cardiorespiratory fitness is an independent predictor of the reduction in liver fat during a lifestyle intervention in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2009 Sep;58(9):1281-8.

291. Brambilla P, Lissau I, Flodmark CE, Moreno LA, Widhalm K, Wabitsch M, et al. Metabolic risk-factor clustering estimation in children: to draw a line across pediatric metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)*. 2007 Apr;31(4):591-600.
292. Reaven G. The metabolic syndrome: requiescat in pace. *Clin Chem*. 2005 Jun;51(6):931-8.
293. Heitmann B, Lissner L. Dietary underreporting by obese individuals--is it specific or non-specific? *BMJ*. 1995 Oct;311(7011):986-9.
294. Singh R, Martin B, Hickey Y, Teegarden D, Campbell W, Craig B, et al. Comparison of self-reported, measured, metabolizable energy intake with total energy expenditure in overweight teens. *Am J Clin Nutr*. 2009 Jun;89(6):1744-50.
295. Lichtman S, Pisarska K, Berman E, Pestone M, Dowling H, Offenbacher E, et al. Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. *N Engl J Med*. 1992 Dec;327(27):1893-8.
296. Serra-Majem L, Aranceta J. Nutritional objectives for the Spanish population. Consensus from the Spanish Society of Community Nutrition. *Public Health Nutr*. 2001 Dec;4(6A):1409-13.
297. Vessby B. Dietary fat and insulin action in humans. *Br J Nutr*. 2000 Mar;83 Suppl 1:S91-6.
298. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza E, Murashima S, Morioka K, et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Oct;88(10):4673-6.
299. Andersen R, Crespo C, Bartlett S, Cheskin L, Pratt M. Relationship of physical activity and television watching with body weight and level of fatness among children: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 1998 Mar;279(12):938-42.
300. Caroli M, Argentieri L, Cardone M, Masi A. Role of television in childhood obesity prevention. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Nov;28 Suppl 3:S104-8.
301. Sacke J. Pediatric obesity: an inflammatory condition? *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2008 Nov-Dec;32(6):633-7.
302. Baranowski T, Bouchard C, Bar-Or O, Bricker T, Heath G, Kimm S, et al. Assessment, prevalence, and cardiovascular benefits of physical activity and fitness in youth. *Med Sci Sports Exerc*. 1992 Jun;24(6 Suppl):S237-47.
303. Cappuccio FP, Taggart FM, Kandala NB, Currie A, Peile E, Stranges S, et al. Meta-analysis of short sleep duration and obesity in children and adults. *Sleep*. 2008 May 1;31(5):619-26.
304. Vgontzas A, Bixler E, Chrousos G. Metabolic disturbances in obesity versus sleep apnoea: the importance of visceral obesity and insulin resistance. *J Intern Med*. 2003 Jul;254(1):32-44.
305. Stranges S, Cappuccio F, Kandala N, Miller M, Taggart F, Kumari M, et al. Cross-sectional versus prospective associations of sleep duration with

changes in relative weight and body fat distribution: the Whitehall II Study. *Am J Epidemiol.* 2008 Feb;167(3):321-9.

306. Hasler G, Buysse D, Klaghofer R, Gamma A, Ajdacic V, Eich D, et al. The association between short sleep duration and obesity in young adults: a 13-year prospective study. *Sleep.* 2004 Jun;27(4):661-6.

307. Jia W, Wu H, Bao Y, Wang C, Lu J, Zhu J, et al. Association of serum retinol-binding protein 4 and visceral adiposity in Chinese subjects with and without type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug;92(8):3224-9.

308. Erikstrup C, Mortensen O, Pedersen B. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance. *N Engl J Med.* 2006 Sep;355(13):1393-4; author reply 4-5.

309. McGovern L, Johnson JN, Paulo R, Hettinger A, Singhal V, Kamath C, et al. Clinical review: treatment of pediatric obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Dec;93(12):4600-5.

310. Stefan N, Hennige A, Staiger H, Machann J, Schick F, Schleicher E, et al. High circulating retinol-binding protein 4 is associated with elevated liver fat but not with total, subcutaneous, visceral, or intramyocellular fat in humans. *Diabetes Care.* 2007 May;30(5):1173-8.

311. Seo J, Kim N, Park S, Kim H, Ryu O, Lee K, et al. Serum retinol-binding protein 4 levels are elevated in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008 Apr;68(4):555-60.

312. Ribel-Madsen R, Friedrichsen M, Vaag A, Poulsen P. Retinol-binding protein 4 in twins: regulatory mechanisms and impact of circulating and tissue expression levels on insulin secretion and action. *Diabetes.* 2009 Jan;58(1):54-60.

313. Zugaro A, Pandolfi C, Barbonetti A, Vassallo M, D'Angeli A, Necozone S, et al. Retinol binding protein 4, low birth weight-related insulin resistance and hormonal contraception. *Endocrine.* 2007 Oct;32(2):166-9.

314. Pfützner A, Schöndorf T, Hanefeld M, Lübben G, Kann P, Karagiannis E, et al. Changes in insulin resistance and cardiovascular risk induced by PPARgamma activation have no impact on RBP4 plasma concentrations in nondiabetic patients. *Horm Metab Res.* 2009 Mar;41(3):202-6.

315. Promintzer M, Krebs M, Todoric J, Luger A, Bischof M, Nowotny P, et al. Insulin resistance is unrelated to circulating retinol binding protein and protein C inhibitor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Nov;92(11):4306-12.

316. Hutchison S, Harrison C, Stepto N, Meyer C, Teede H. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care.* 2008 Jul;31(7):1427-32.

317. Chavez A, Coletta D, Kamath S, Cromack D, Monroy A, Folli F, et al. Retinol binding protein 4 is associated with impaired glucose tolerance but not with whole body or hepatic insulin resistance in mexican americans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 Feb.

318. von Eynatten M, Lepper P, Liu D, Lang K, Baumann M, Nawroth P, et al. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic

syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease. *Diabetologia*. 2007 Sep;50(9):1930-7.

319. Lee D, Lee J, Im J. Association of serum retinol binding protein 4 and insulin resistance in apparently healthy adolescents. *Metabolism*. 2007 Mar;56(3):327-31.

320. Yao-Borengasser A, Varma V, Bodles A, Rasouli N, Phanavanh B, Lee M, et al. Retinol binding protein 4 expression in humans: relationship to insulin resistance, inflammation, and response to pioglitazone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jul;92(7):2590-7.

321. Soni S, Cruz D, Bobek I, Chionh C, Nalesso F, Lentini P, et al. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol*. 2009 Jul.

322. Hinze C, Suzuki M, Klein-Gitelman M, Passo M, Olson J, Singer N, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a predictor of the course of global and renal childhood-onset systemic lupus erythematosus disease activity. *Arthritis Rheum*. 2009 Sep;60(9):2772-81.

323. Lin Y, Rajala M, Berger J, Moller D, Barzilai N, Scherer P. Hyperglycemia-induced production of acute phase reactants in adipose tissue. *J Biol Chem*. 2001 Nov;276(45):42077-83.

324. Boord J, Maeda K, Makowski L, Babaev V, Fazio S, Linton M, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein, aP2, alters late atherosclerotic lesion formation in severe hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Oct;22(10):1686-91.

325. Makowski L, Hotamisligil G. Fatty acid binding proteins--the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses. *J Nutr*. 2004 Sep;134(9):2464S-8S.

326. Reich A, Müller G, Gelbrich G, Deutscher K, Gödicke R, Kiess W. Obesity and blood pressure--results from the examination of 2365 schoolchildren in Germany. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Dec;27(12):1459-64.

327. Koh J, Shin Y, Nam S, Lee M, Chung C, Shin J. Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels are associated with nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2009 Jan;32(1):147-52.

328. Möhlig M, Weickert M, Ghadamgadai E, Machlitt A, Pfüller B, Arafat A, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein is associated with markers of obesity, but is an unlikely link between obesity, insulin resistance, and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome women. *Eur J Endocrinol*. 2007 Aug;157(2):195-200.

329. Yun K, Kim S, Choi K, Park H. Association between adipocyte fatty acid-binding protein levels and childhood obesity in Korean children. *Metabolism*. 2009 Jun;58(6):798-802.

330. Fisher R, Hoffstedt J, Hotamisligil G, Thörne A, Rydén M. Effects of obesity and weight loss on the expression of proteins involved in fatty acid metabolism in human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Oct;26(10):1379-85.

331. Nakazato M, Hashimoto K, Shimizu E, Kumakiri C, Koizumi H, Okamura N, et al. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in female patients with eating disorders. *Biol Psychiatry*. 2003 Aug;54(4):485-90.
332. Monteleone P, Fabrazzo M, Martiadis V, Serritella C, Pannuto M, Maj M. Circulating brain-derived neurotrophic factor is decreased in women with anorexia and bulimia nervosa but not in women with binge-eating disorder: relationships to co-morbid depression, psychopathology and hormonal variables. *Psychol Med*. 2005 Jun;35(6):897-905.
333. Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry J. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res*. 2002 Mar;109(2):143-8.
334. Pan W, Banks W, Fasold M, Bluth J, Kastin A. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology*. 1998 Dec;37(12):1553-61.
335. Cao L, Lin E, Cahill M, Wang C, Liu X, Durrant M. Molecular therapy of obesity and diabetes by a physiological autoregulatory approach. *Nat Med*. 2009 Apr;15(4):447-54.
336. Morgan C, Yanovski S, Nguyen T, McDuffie J, Sebring N, Jorge M, et al. Loss of control over eating, adiposity, and psychopathology in overweight children. *Int J Eat Disord*. 2002 May;31(4):430-41.
337. Decaluwé V, Braet C. Prevalence of binge-eating disorder in obese children and adolescents seeking weight-loss treatment. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Mar;27(3):404-9.
338. Tanofsky-Kraff M, Yanovski S, Wilfley D, Marmarosh C, Morgan C, Yanovski J. Eating-disordered behaviors, body fat, and psychopathology in overweight and normal-weight children. *J Consult Clin Psychol*. 2004 Feb;72(1):53-61.
339. Lyons W, Mamounas L, Ricaurte G, Coppola V, Reid S, Bora S, et al. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Dec;96(26):15239-44.
340. Ize-Ludlow D, Gray J, Sperling M, Berry-Kravis E, Milunsky J, Farooqi I, et al. Rapid-onset obesity with hypothalamic dysfunction, hypoventilation, and autonomic dysregulation presenting in childhood. *Pediatrics*. 2007 Jul;120(1):e179-88.
341. Bauer F, Elbers C, Adan R, Loos R, Onland-Moret N, Grobbee D, et al. Obesity genes identified in genome-wide association studies are associated with adiposity measures and potentially with nutrient-specific food preference. *Am J Clin Nutr*. 2009 Oct;90(4):951-9.
342. Miyazaki K, Narita N, Sakuta R, Miyahara T, Naruse H, Okado N, et al. Serum neurotrophin concentrations in autism and mental retardation: a pilot study. *Brain Dev*. 2004 Aug;26(5):292-5.

