

UNIVERSITAT DE BARCELONA

Estudio clínico para identificar especies lipídicas y proteínas moduladas en obesidad infantil: nuevas claves en la influencia del estilo de vida

Andrea Soria Gondek

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (**www.tdx.cat**) i a través del Dipòsit Digital de la UB (**diposit.ub.edu**) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (**www.tdx.cat**) y a través del Repositorio Digital de la UB (**diposit.ub.edu**) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (**www.tdx.cat**) service and by the UB Digital Repository (**diposit.ub.edu**) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSITAT DE BARCELONA

Facultat de Farmàcia
i Ciències de l'Alimentació

Estudio clínico para identificar especies lipídicas y proteínas moduladas en OBESIDAD INFANTIL:

nuevas claves en la influencia del estilo de vida

ANDREA SORIA GONDEK

2025

Germans Trias i Pujol Hospital
ciber | OBN
Institut de Biomedicina UNIVERSITAT DE BARCELONA
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN
Instituto de Salud Carlos III
Universidad Rey Juan Carlos

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA Y CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN

PROGRAMA DE DOCTORADO BIOTECNOLOGÍA

ESTUDIO CLÍNICO PARA IDENTIFICAR ESPECIES LIPÍDICAS Y PROTEÍNAS MODULADAS EN OBESIDAD INFANTIL: NUEVAS CLAVES EN LA INFLUENCIA DEL ESTILO DE VIDA

Memoria presentada por Andrea Soria Gondek para optar al grado de doctora por la Universidad de Barcelona

Dirigida por:

Laura Herrero Rodríguez[1,2,3]
David Sánchez-Infantes Sánchez [3,4]

[1] Departamento de Bioquímica y Fisiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona
[2] Instituto de Biomedicina de la Universidad de Barcelona (IBUB)
[3] Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERobn), Instituto de Salud Carlos III, Madrid
[4] Departamento de Ciencias de la Salud, Campus Alcorcón, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid

Doctoranda:

Andrea Soria Gondek

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer al grupo de investigación *Estudi del Metabolisme en l'obesitat i malaties associades* (METABESITY, 2021 SGR 00367), al Instituto de Salud Carlos III, al Ministerio de Ciencia e Innovación y al Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERobn), que han apoyado el desarrollo del proyecto. Esta tesis no habría sido posible sin su apoyo institucional y financiero.

A mis directores, David y Laura, gracias por confiar en mí para llevar a cabo este proyecto. Me abristeis las puertas a un terreno desconocido, lejos de la práctica quirúrgica asistencial a la que estaba acostumbrada, pero que hoy considero fundamental para mi crecimiento y carrera profesional: la investigación. Este ámbito, que ahora siento como propio, me define como médico y cirujana además de ser una fuente de inspiración para seguir avanzando. Gracias por vuestra paciencia, tiempo y apoyo. Sin vuestra guía esta tesis no se habría hecho realidad.

A los que participaron en el diseño y el análisis de este proyecto. Gracias a la *Gasol Foundation* por su disposición y colaboración. Agradecemos la oportunidad de utilizar sus cuestionarios de estilo de vida, validados en población pediátrica, los cuales son de gran valor para el estudio de la obesidad infantil. Gracias, Rubén Cereijo, por su valiosa contribución al análisis estadístico y por optimizar al máximo los resultados obtenidos. Gracias a Carolina González Riano y Coral Barbas del Centro de Metabolómica y Bioanálisis (CEMBIO) por realizar el análisis lipidómico del tejido adiposo y por su contribución a la producción científica. Agradecemos al laboratorio de Metabolómica y Lipidómica de la Universidad de Cambridge por llevar a cabo el análisis lipidómico del suero y por su colaboración en la producción científica.

A los que contribuyeron a la realización de este proyecto. Gracias a mis compañeras del equipo de endocrinología pediátrica del *Hospital Universitari Germans Trias i Pujol,* Marta Murillo, Aina Valls, Mirian Lozano y Natividad Real. Su participación en el reclutamiento, seguimiento y tratamiento de los pacientes

ha sido fundamental para el éxito de este proyecto, llevando a cabo estas tareas además de su labor asistencial. Gracias a Lorena González por su ayuda en la puesta en marcha de este proyecto y por coordinar el almacenamiento seguro de las muestras. Agradezco a mis compañeros del equipo de cirugía pediátrica del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, y muy especialmente a mi jefa, la Dra. Marta de Diego, por brindarme la oportunidad de desarrollar este proyecto durante los últimos cinco años. Compaginar la actividad asistencial con la investigación requiere un esfuerzo adicional que he podido llevar a cabo gracias a su colaboración y apoyo.

A los que siempre me han acompañado. Gracias a mis amigas, Irene y Ana, por estar conmigo en cada paso del camino y recordarme siempre de lo que soy capaz. Gracias a mi familia por darme ánimo en los momentos difíciles y las herramientas necesarias para llegar hasta aquí. Sin vuestra ayuda, no habría sido posible afrontar los dos grandes desafíos de este año, la maternidad y este proyecto. A mi marido, Sergi, por ser una fuente constante de inspiración y admiración. A nuestra hija, June, por llegar a nuestras vidas.

Por último, quiero dar las gracias a todos los que han contribuido directa o indirectamente al desarrollo de este proyecto. *“La investigación científica no es trabajo de una sola persona, sino de un equipo." – John Bardeen*

FINANCIACIÓN

Este proyecto de investigación ha sido financiado por:

- Fondos de Investigación en Salud (FIS) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII): PI20/00807
- Convocatorias del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación: SAF2017-83813-C3-1-R
- Ministerio de Ciencia e Innovación (MICIN): PID2020-114953RB-C21; PID2023-148783OB-I00
- Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERobn), Instituto de Salud Carlos III: CB06/03/0001


"No se trata de
llegar al final,
sino de
disfrutar
de cada paso
del camino"

RESUMEN DE LA TESIS

Título: Estudio clínico para identificar especies lipídicas y proteínas moduladas en obesidad infantil: nuevas claves en la influencia del estilo de vida.

Introducción

La obesidad es un trastorno metabólico caracterizado por una acumulación anómala de grasa, desencadenando lipotoxicidad, inflamación crónica y enfermedades asociadas. La biología de la obesidad pediátrica continúa siendo objeto de estudio.

Hipótesis

1. Las especies lipídicas circulantes que experimentan la misma evolución después de una intervención de control de peso en niños y adultos con obesidad podrían relacionarse con la obesidad precoz y el desarrollo de lipotoxicidad.
2. El perfil lipidómico del tejido adiposo de niños con obesidad será diferente al de los controles normopeso y ayudará a identificar especies lipídicas involucradas en la lipotoxicidad y la alteración metabólica.
3. Los niveles circulantes de proteínas claves en el metabolismo en niños con obesidad serán diferentes a los de los controles normopeso, mostrando nuevas claves en la alteración de las vías metabólicas e inflamatorias.
4. La adopción de hábitos saludables durante 6 meses modulará el perfil circulante de proteínas clave en el metabolismo y la inflamación en niños con obesidad.
5. Existirá una asociación significativa entre el estilo de vida y el perfil clínico y molecular de los niños con obesidad.

Objetivos

1. Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso.
2. Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco subcutáneo y visceral (TABs y TABv) de niños con obesidad frente a niños con normopeso.

3. Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso.
4. Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso.
5. Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida en nuestra cohorte de pacientes pediátricos.

Métodos

Se realizaron análisis lipidómicos de suero y de TABs y TABv, proteómicos de suero y cuestionarios sobre el estilo de vida en las diferentes cohortes de pacientes pediátricos y adultos con normopeso o con obesidad.

Resultados principales

1. El perfil lipidómico circulante de niños con obesidad mostró cambios significativos en 71 especies lipídicas tras una intervención conductual, de las cuales 15 también se modificaron en adultos con obesidad sometidos a cirugía bariátrica. Los cambios en las 15 especies lipídicas coincidentes se asociaron con mejoras en la inflamación, la resistencia insulínica, la esteatosis hepática y la restauración de funciones metabólicas.
2. El perfil lipidómico del TABs en niños con obesidad mostró una reducción de triglicéridos y fosfatidiletanolaminas y un aumento de triglicéridos oxidados. El perfil lipidómico del TABv mostró el acúmulo de diglicéridos mono-, di- o triinsaturados, PC 18:1_20:4 y Cer 18:0;2O/24:1.
3. De las 30 proteínas circulantes analizadas, 11 mostraron diferencias significativas entre los niños con obesidad y aquellos con normopeso y se relacionaron con el metabolismo del cortisol, la glucosa, los lípidos, la inflamación y el apetito. Los niveles de HSD11B1, GHRL y PYY parecieron responder a mecanismos de contrarregulación mientras que los de GDF2, FGF21, OLR1, TGF-β1 e IL18 reflejaron procesos de lipotoxicidad.
4. De las 30 proteínas circulantes analizadas, 8 mostraron diferencias significativas tras la intervención conductual. El incremento de HSD11B1 y GDF2 tuvo un impacto positivo en el metabolismo. TGF-β1, CCL2, TNF-α, IL15, LAMP3

y VEGFA presentaron un aumento, reflejo del estímulo inflamatorio agudo necesario para el remodelado del tejido adiposo blanco.

5. Los niños con obesidad mostraron un uso excesivo de pantallas que se correlacionó con la falta de sueño y con alteraciones en GHRL, insulina y HOMA-IR. La actividad física se relacionó con mejoras en GHRL, TGFβ1, insulina y HOMA-IR. Las horas de sueño mostraron una correlación positiva significativa con HSD11B1. En los niños que completaron la intervención conductual, la actividad física se correlacionó con una mejora en TGFβ1 y OLR1. Cumplir con las recomendaciones sobre el uso de pantallas y la actividad física intensificó los cambios observados en LDL-c, CCL2, GDF2 y LAMP3 tras la intervención. Al finalizar la intervención, la asociación entre el uso excesivo de pantallas, la insulinoresistencia y el riesgo cardiovascular se mantuvo.

Conclusiones

1. Se han identificado 15 especies lipídicas que podrían constituir la base para desarrollar una firma lipidómica que caracterice la obesidad temprana y la lipotoxicidad. Sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales para comprender el papel de cada especie y su potencial aplicación clínica.

2. El perfil lipidómico del TABs y TABv en niños con obesidad mostró diferencias significativas en comparación con niños con normopeso en relación al estrés oxidativo, la disfunción de los adipocitos, la acumulación de ceramidas y la lipotoxicidad. También se observaron propiedades diferenciales: el TABs prioriza el almacenamiento de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como mecanismo protector frente a la oxidación, mientras que el TABv se caracteriza por una mayor movilización de triglicéridos más cortos y de mayor densidad energética, lo que contribuye en mayor medida al desarrollo de complicaciones metabólicas.

3. El perfil proteómico circulante en niños con obesidad mostró diferencias significativas en comparación con niños con normopeso que confirmaron la alteración de las vías metabólicas, inflamatorias y del apetito en la obesidad temprana. Estos cambios se observaron en niños con obesidad cuyos parámetros analíticos estaban dentro del rango normal, lo que resalta la utilidad de estas proteínas para el diagnóstico clínico de la obesidad y sus complicaciones.

4. De las 11 proteínas significativamente alteradas en los niños con obesidad, 2 se corrigieron total o parcialmente tras la intervención conductual, relacionadas con el metabolismo. Los cambios en el estilo de vida, como única herramienta terapéutica, tuvieron un impacto modesto en el perfil antropométrico y las alteraciones asociadas a la obesidad.
5. Los niños con obesidad presentaron aspectos diferenciales en el estilo de vida que se correlacionaron con las alteraciones metabólicas e inflamatorias observadas. Las modificaciones en el estilo de vida se relacionaron con mejoras en las proteínas alteradas subrayando el impacto de la intervención conductual en estos pacientes.

Palabras clave: lipidómica, proteómica, obesidad infantil, tejido adiposo, estilo de vida

RESUM DE LA TESI

Títol: Estudi clínic per identificar espècies lipídiques i proteïnes modulades en obesitat infantil: noves claus en la influència de l'estil de vida.

Introducció

L'obesitat és un trastorn metabòlic caracteritzat per una acumulació anòmala de greix, que desencadena lipotoxicitat, inflamació crònica i malalties associades. La biologia de l'obesitat pediàtrica continua sent objecte d'estudi.

Hipòtesis

1. Les espècies lipídiques circulants que experimenten la mateixa evolució després d'una intervenció de control de pes en infants i adults amb obesitat podrien estar relacionades amb l'obesitat precoç i el desenvolupament de lipotoxicitat.
2. El perfil lipidòmic del teixit adipós en infants amb obesitat serà diferent del dels controls normopès i ajudarà a identificar espècies lipídiques implicades en la lipotoxicitat i l'alteració metabòlica.
3. Els nivells circulants de proteïnes clau en el metabolisme en infants amb obesitat seran diferents dels controls normopès, mostrant noves claus en l'alteració de les vies metabòliques i inflamatòries.
4. L'adopció d'hàbits saludables durant 6 mesos modularà el perfil circulant de proteïnes clau en el metabolisme i la inflamació en infants amb obesitat.
5. Existirà una associació significativa entre l'estil de vida i el perfil clínic i molecular dels infants amb obesitat.

Objectius

1. Descriure els canvis en el patró lipidòmic circulant d'infants amb obesitat en comparació amb adults amb obesitat després d'una intervenció de control de pes.
2. Identificar les diferències en el patró lipidòmic del teixit adipós blanc subcutani i visceral (TABs i TABv) d'infants amb obesitat en comparació amb infants amb normopès.

3. Avaluar els nivells circulants de 30 proteïnes clau en el metabolisme lipídic, la ingesta i la inflamació en infants amb obesitat en comparació amb infants amb normopès.
4. Determinar els canvis en les concentracions d'aquestes 30 proteïnes en el patró proteòmic circulant d'infants amb obesitat després d'una intervenció de control de pes.
5. Estudiar la relació entre les alteracions metabòliques associades a l'obesitat i l'estil de vida en la nostra cohort de pacients pediàtrics.

Mètodes

Es van realitzar anàlisis lipidòmiques de sèrum i de TABs i TABv, anàlisis proteòmiques de sèrum i qüestionaris sobre l'estil de vida a les diferents cohorts de pacients pediàtrics i adults amb normopès o amb obesitat.

Principals resultats

1. El perfil lipidòmic circulant d'infants amb obesitat va mostrar canvis significatius en 71 espècies lipídiques després d'una intervenció conductual, de les quals 15 també es van modificar en adults amb obesitat sotmesos a cirurgia bariàtrica. Els canvis en aquestes 15 espècies lipídiques coincidents es van associar amb millores en la inflamació, la resistència a la insulina, l'esteatosi hepàtica i la restauració de funcions metabòliques.
2. El perfil lipidòmic del TABs en infants amb obesitat va mostrar una reducció de triglicèrids i fosfatidiletanolamines i un augment de triglicèrids oxidats. El perfil lipidòmic del TABv va mostrar l'acumulació de diglicèrids mono-, di- o triinsaturats, PC 18:1_20:4 i Cer 18:0;2O/24:1.
3. De les 30 proteïnes circulants analitzades, 11 van mostrar diferències significatives entre infants amb obesitat i normopès, relacionades amb el metabolisme del cortisol, la glucosa, els lípids, la inflamació i la regulació de l'apetit. Els nivells de HSD11B1, GHRL i PYY semblaven respondre a mecanismes de contrarregulació, mentre que els de GDF2, FGF21, OLR1, TGF-β1 i IL18 reflectien processos de lipotoxicitat.
4. De les 30 proteïnes analitzades, 8 van mostrar diferències significatives després de la intervenció conductual. L'increment de HSD11B1 i GDF2 va

tenir un impacte positiu en el metabolisme. TGF-β1, CCL2, TNF-α, IL15, LAMP3 i VEGFA van presentar un augment, reflex de l'estímul inflamatori agut necessari per al remodelament del teixit adipós blanc.

5. Els infants amb obesitat van mostrar un ús excessiu de pantalles, que es va correlacionar amb la manca de son i alteracions en GHRL, insulina i HOMA-IR. L'activitat física es va relacionar amb millores en GHRL, TGFβ1, insulina i HOMA-IR. Les hores de son van mostrar una correlació positiva significativa amb HSD11B1. Complir amb les recomanacions sobre l'ús de pantalles i l'activitat física va intensificar els canvis observats en LDL-c, CCL2, GDF2 i LAMP3 després de la intervenció.

Conclusions

1. S'han identificat 15 espècies lipídiques que podrien constituir la base per desenvolupar una signatura lipidòmica que caracteritzi l'obesitat precoç i la lipotoxicitat.
2. El perfil lipidòmic del TABs i TABv en infants amb obesitat va mostrar diferències significatives en relació amb l'estrès oxidatiu, la disfunció dels adipòcits i la lipotoxicitat.
3. El perfil proteòmic circulant en infants amb obesitat va mostrar alteracions significatives en comparació amb els normopès, subratllant la utilitat de les proteïnes en el diagnòstic clínic de l'obesitat i les seves complicacions.
4. Les modificacions en l'estil de vida van tenir un impacte modest en el perfil antropomètric i molecular d'aquests pacients.
5. Els infants amb obesitat van presentar aspectes diferencials en l'estil de vida correlacionats amb alteracions metabòliques i inflamatòries.

Paraules clau: lipidòmica, proteòmica, obesitat infantil, teixit adipós, estil de vida

ÍNDICE

RESUMEN DE LA TESIS *11*

RESUM DE LA TESI *15*

LISTADO DE TABLAS *27*

LISTADO DE FIGURAS *30*

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS *33*

INTRODUCCIÓN *41*

1 La obesidad: trastorno metabólico e inmunológico *41*

1.1 Conceptos básicos **41**

1.2 Clasificación **43**

2 Obesidad pediátrica *43*

2.1 Definición **43**

2.2 Epidemiología **45**

2.3 Etiopatogenia **46**

2.3.1 Obesidad exógena vs. endógena 46

2.3.2 Factores genéticos: monogénica, poligénica, epigenética, sindrómica 47

2.3.3 Factores ambientales 48

2.4 Comorbilidad por aparatos y sistemas **49**

2.4.1 Síndrome metabólico 49

2.4.2 Enfermedades cardiovasculares 50

2.4.3 Síndrome de Apneas Obstructivas del Sueño 50

2.4.4 Esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica 50

2.4.5 Alteraciones puberales 50

2.4.6 Hipertensión craneal 51

2.4.7 Nefropatía 51

2.4.8 Patología ortopédica 51

2.4.9 Patología digestiva 51

2.4.10 Alteraciones cutáneas 52
2.4.11 Morbilidad psicosocial 52
2.4.12 Cáncer 53

3 Líneas terapéuticas actuales 54

3.1 Prevención primaria 54
3.1.1 Actividad física 54
3.1.2 Hábitos alimentarios 55
3.1.3 Sueño 55
3.1.4 Uso de pantallas 55

3.2 Cambios conductuales: alimentación y actividad física 57

3.3 Tratamiento farmacológico 58

3.4 Tratamiento quirúrgico 58
3.4.1 Experiencia internacional 59
3.4.2 Experiencia nacional 59

4 Rol de las ómicas en el estudio y/o tratamiento de la obesidad 60

4.1 Genómica 61

4.2 Transcriptómica 61

4.3 Microbiómica 61

4.4 Metabolómica 63
4.4.1 Lipidómica 63
4.4.2 Proteómica 68

5 El tejido adiposo como órgano clave en la obesidad y enfermedades metabólicas 71

5.1 Metabolismo del tejido adiposo 71

5.2 Principales tipos de tejido adiposo: blanco, marrón, beige y rosa. Diferencias lipidómicas y metabólicas 74

5.3 Fisiopatología de la obesidad 76
5.3.1 Secretoma 76
5.3.2 Expansión, inflamación y remodelación 77

5.4 Tejido adiposo blanco visceral vs. subcutáneo y su implicación metabólica 79

6 Últimos avances de la lipidómica en el estudio de la obesidad pediátrica 80

6.1 Estudios lipidómicos en suero, orina, saliva 81

6.2 Estudios lipidómicos en tejido adiposo blanco subcutáneo y/o visceral 83

7 Últimos avances de la proteómica en el estudio de la obesidad pediátrica 84

8 Justificación de este proyecto de investigación 86

HIPÓTESIS 87

OBJETIVOS 90

MATERIAL Y MÉTODOS 93

1 Objetivo 1: Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso 93

1.1 Pacientes 93

1.1.1 Cohorte pediátrica 93

1.1.2 Cohorte adulta 93

1.1.3 Consideraciones éticas 93

1.2 Muestra 94

1.3 Pruebas 94

1.3.1 Bioquímica 94

1.3.2 Lipidómica 94

1.4 Métodos estadísticos 96

2 Objetivo 2: Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar 103

2.1 Pacientes 103

2.1.1 Proceso de selección 103
2.1.2 Criterios de inclusión 103
2.1.3 Criterios de exclusión 103
2.1.4 Consideraciones éticas 103
2.1.5 Grupos, clasificación y tamaño muestral 104

2.2 Recogida de datos 104
2.2.1 Datos antropométricos y clínicos 104

2.3 Muestras 107
2.3.1 Suero 107
2.3.2 Tejido adiposo blanco subcutáneo y visceral 107

2.4 Pruebas 108
2.4.1 Bioquímica 108
2.4.2 Lipidómica 109
2.4.3 Cromatografía UHPLC y espectrometría de masas ESI-QTOF ... 110
2.4.4 Procesamiento de datos 112

2.5 Métodos estadísticos 112
2.5.1 Normalización de datos lipidómicos 112
2.5.2 Análisis de datos lipidómicos 113
2.5.3 Anotación de lípidos 113

3 Objetivos 3, 4 y 5 123

Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar. 123

Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso. 123

Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos. 123

3.1 Pacientes 123
3.1.1 Proceso de selección 123

3.1.2 Criterios de inclusión 123
3.1.3 Criterios de exclusión 124
3.1.4 Consideraciones éticas 124
3.1.5 Grupos, clasificación y tamaño muestral 124
3.2 Recogida de datos 124
3.3 Muestras 124
3.4 Pruebas 125
3.4.1 Bioquímica 125
3.4.2 Proteómica dirigida 126
3.4.3 Encuestas del estilo de vida 129
3.5 Métodos estadísticos 130
3.5.1 Análisis proteómica 130
3.5.2 Análisis encuestas 131
RESULTADOS 159
1 Objetivo 1: Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso 159
1.1 Cohorte pediátrica 159
1.1.1 Clínica 159
1.1.2 Lipidómica 161
1.1.3 Correlación entre clínica y lipidómica 165
1.2 Cohorte adulta 170
1.2.1 Clínica 170
1.2.2 Lipidómica 171
1.2.3 Correlación entre clínica y lipidómica 174
1.3 Coincidencias en el perfil lipidómico pediátrico y adulto después de la intervención de control de peso 178
2 Objetivo 2: Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar 179

2.1 Clínica 179

2.2 Análisis lipidómico 181

2.3 Análisis lipidómico TABs 193

2.4 Análisis lipidómico TABv 195

2.5 Asociaciones entre la modulación del lipidoma y el estado metabólico 195

3 Objetivo 3: Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar 199

3.1 Resultados descriptivos 199

3.2 Calidad de los ensayos de extensión por proximidad 199

3.3 Resultados de la proteómica dirigida 203

3.4 Análisis estadísticos 204

3.5 Análisis de correlaciones 207

3.5.1 Grupo OW/OB 207

3.5.2 Grupo NW 207

4 Objetivo 4: Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso 213

4.1 Evolución de las variables antes y después de la intervención conductual 213

4.2 Análisis de correlaciones 216

5 Objetivo 5: Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos 219

5.1 Diferencias en el estilo de vida entre los grupos NW y OW/OB 219

5.1.1 Hábitos dietéticos 219

5.1.2 Sedentarismo y uso de pantallas 219

5.1.3 Duración y calidad de sueño 219

5.1.4 Actividad física 220
5.1.5 Nivel socioeconómico familiar 220

5.2 Correlaciones entre alteraciones metabólicas y estilo de vida en la cohorte NW y OW/OB 220

5.3 Cambios en el estilo de vida tras una intervención conductual en niños con obesidad 226

5.4 Correlaciones entre alteraciones metabólicas y estilo de vida en la cohorte sometida a intervención conductual 227
5.4.1 Variables cuantitativas del estilo de vida 227
5.4.2 Variables dicotómicas del estilo de vida 228

DISCUSIÓN 239

1 Objetivo 1: Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso 240

2 Objetivo 2: Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar 245

3 Objetivo 3: Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar 251

3.1 Proteínas relacionadas con el metabolismo 252
3.1.1 HSD11B1 252
3.1.2 GDF2 256
3.1.3 FGF21 257

3.2 Proteínas relacionadas con la inflamación 260
3.2.1 OLR1 260
3.2.2 TGF-β1 262
3.2.3 IL18 264

3.3 Proteínas relacionadas con el circuito de hambre y saciedad .. 267
3.3.1 GHRL 267
3.3.2 PYY 269

3.3.3 AGRP 270

4 Objetivo 4: Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso 273

4.1 Proteínas relacionadas con el metabolismo 274

4.1.1 HSD11B1 274

4.1.2 GDF2 275

4.2 Proteínas relacionadas con la inflamación 276

4.3 Proteínas relacionadas el circuito de hambre y saciedad 279

4.3.1 GHRL 279

4.3.2 AGRP 280

5 Objetivo 5: Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos 283

5.1 Estilo de vida y correlaciones con alteraciones metabólicas en la cohorte NW y OW/OB 283

5.2 Estilo de vida y correlaciones con alteraciones metabólicas en niños con obesidad tras una intervención conductual 287

CONCLUSIONES 295

BIBLIOGRAFÍA 299

ANEXOS 337

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la obesidad en adultos según la SEEDO
Tabla 2. Características principales de los lípidos estudiados en esta tesis doctoral
Tabla 3. Características principales de las 30 proteínas estudiadas en esta tesis doctoral
Tabla 4. Resumen de las variables antropométricas registradas en el estudio
Tabla 5. Valores medidos en el laboratorio del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.
Tabla 6. Resumen de los cambios en el estilo de vida después de 6 meses de intervención conductual en la cohorte pediátrica
Tabla 7. Características antropométricas y clínicas de la cohorte pediátrica antes (T0) y después (T6) de la intervención conductual
Tabla 8. Análisis de regresión logística multivariante ajustado por edad y sexo que evalúa la relación entre los niveles circulantes de las especies lipídicas significativamente aumentadas o disminuidas tras la intervención conductual y la reducción exitosa del índice de masa corporal (sí, n = 4; no, n = 6) en la cohorte pediátrica.
Tabla 9. Correlaciones significativas entre los cambios en variables clínicas y los lípidos diferencialmente regulados después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica
Tabla 10. Correlación entre adipocinas, biomarcadores inflamatorios y clínicos en la cohorte pediátrica
Tabla 11. Correlaciones estadísticamente significativas entre el FLI y los DAG detectables antes (0M) y después (6M) de la intervención conductual en la cohorte pediátrica (PE)
Tabla 12. Características antropométricas y clínicas de la cohorte adulta antes (T0) y después (T6) de la intervención quirúrgica
Tabla 13. Correlaciones significativas entre los cambios en variables clínicas y los lípidos diferencialmente regulados después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta
Tabla 14. Correlación entre adipocinas, biomarcadores inflamatorios y clínicos en la cohorte adulta

Tabla 15. Características clínicas, epidemiológicas y analíticas de los grupos NW y OW/OB
Tabla 16. Especies lipídicas anotadas en TABs y TABv tras el análisis por UHPLC-MS, el procesamiento y normalización de datos, y la anotación lipídica.
Tabla 17. Tabla comparativa de las variables antropométricas y analíticas entre los grupos NW y OW/OB
Tabla 18. Valores de los controles, de los parámetros de detección y controles de calidad de los ensayos (A y B) de extensión por proximidad.
Tabla 19. Tabla comparativa de la variables proteómicas entre los grupos NW y OW/OB
Tabla 20. Resultados del análisis de ANCOVA para las diferencias entre OW/OB y NW
Tabla 21A. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las variables antropométricas y clínicas en el grupo OW/OB
Tabla 21B. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las 30 proteínas estudiadas en el grupo OW/OB
Tabla 22A. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las variables antropométricas y analíticas en el grupo NW
Tabla 22B. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las 30 proteínas estudiadas en el grupo NW
Tabla 23A. Evolución de las variables antropométricas y analíticas después de 6 meses de intervención conductual en 12 pacientes con obesidad
Tabla 23B. Evolución de las variables proteómicas después de 6 meses de intervención conductual en 12 pacientes con obesidad
Tabla 24A. Análisis de correlación Rho de Spearman para los cambios en las proteínas moduladas por la intervención conductual y las variables clínicas y antropométricas
Tabla 24B. Análisis de correlación Rho de Spearman para los cambios en las proteínas moduladas por la intervención conductual y las 30 proteínas estudiadas

Tabla 25. Comparativa del estilo de vida entre los grupos NW y OW/OB: dieta mediterránea, uso de pantallas, calidad del sueño, actividad física, datos socioeconómicos
Tabla 26. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables “sueño” y “uso de pantallas” en los grupos NW y OW/OB
Tabla 27. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad en los grupos NW y OW/OB
Tabla 28. Cambios en el estilo de vida antes y después de la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad
Tabla 29. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables “sueño” y “uso de pantallas” en 12 pacientes con obesidad
Tabla 30. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad en 12 pacientes con obesidad
Tabla 31. Resultados del análisis de regresión lineal múltiple corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad antes y después de la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad
Tabla 32. Resultados del análisis de ANCOVA corregido por sexo y edad entre las variables dicotómicas del cuestionario y los cambios en las variables analíticas y proteómicas tras la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad.

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Cambios inmunológicos producidos en el TA como consecuencia de la obesidad
Figura 2. Problemáticas entorno a los criterios de definición de la obesidad pediátrica.
Figura 3. Prevalencia mundial actual de sobrepeso y obesidad infantil
Figura 4. Previsión 2020-2035 de las cifras de obesidad adulta e infantil en España, según el último informe de obesidad mundial
Figura 5. Comorbilidades a corto y largo plazo asociadas con la obesidad infantil y adolescente
Figura 6. Modelo biosocioeconómico, dinámica entre los factores personales y ambientales promotores de la obesidad infantil
Figura 7. Rol de las ciencias ómicas, la dieta (nutrioma) y las exposiciones ambientales (exposoma) en la obesidad infantil
Figura 8. Equilibrio entre la lipogénesis y la lipólisis dentro de los adipocitos para mantener la sensibilidad a la insulina de todo el cuerpo y la homeostasis energética
Figura 9. Almacenamiento y metabolismo en adipocitos sanos y disfuncionales
Figura 10. Tipos de adipocitos y su estructura
Figura 11. Factores clínicos y biológicos diferenciales entre la obesidad metabólicamente “saludable” y la obesidad metabólicamente “no saludable”
Figura 12. Anatomía de la cavidad peritoneal.
Figura 13. Procesado de las muestras de tejido adiposo previo a la cromatografía UHPLC y espectrometría de masas. Técnica de Folch
Figura 14. Diagrama de flujo. Proceso de reclutamiento
Figura 15. Ensayo de extensión de proximidad, principios fundamentales
Figura 16. Composición de la placa de ensayo y controles de calidad
Figura 17. Definición de los parámetros de detección durante el ensayo de extensión de proximidad.
Figura 18. Niveles de adipocinas y biomarcadores inflamatorios después de intervención conductual en la cohorte pediátrica
Figura 19. Heatmap. Especies lipídicas significativamente reguladas antes y después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica

Figura 20. Abundancia relativa de las especies lipídicas reguladas después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica
Figura 21. Gráfico de volcán. Especies lipídicas reguladas después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica
Figura 22. Vía de activación de la biosíntesis de fosfatidilinositol a partir de ácido fosfatídico derivado de diacilglicéridos o fosfatidilcolina en la cohorte pediátrica
Figura 23. Heatmap. Correlación entre variables clínicas y lípidos significativamente regulados después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica
Figura 24. Heatmap. Coeficientes de correlación de las regresiones lineales entre los cambios en el FLI y los lípidos seleccionados en la cohorte pediátrica después de la intervención conductual
Figura 25. Niveles de adipocinas y biomarcadores inflamatorios después de intervención quirúrgica en la cohorte adulta
Figura 26. Heatmap. Especies lipídicas significativamente reguladas 6 meses después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta
Figura 27. Abundancia relativa de las especies lipídicas reguladas después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta
Figura 28. Gráfico de volcán. Especies lipídicas reguladas después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta
Figura 29. Vía de activación de la biosíntesis de fosfatidilserina (izquierda) y de supresión de la biosíntesis de fosfatidilinositol y diacilglicerol después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta
Figura 30. Heatmap. Correlación entre variables clínicas y lípidos significativamente regulados después de la intervención quirúrgica
Figura 31. Heatmap. Coeficientes de correlación de las regresiones lineales entre los cambios en el FLI y los lípidos seleccionados en la cohorte adulta después de la intervención quirúrgica
Figura 32. Especies lipídicas coincidentes en las dos cohortes después de sus respectivas intervenciones
Figura 33. Parámetros de calidad de los modelos y p-valor de CV-ANOVA para el análisis de UHPLC-MS
Figura 34. Heatmap. Especies lipídicas significativas detectadas en TABv (A) y TABs (B) analizadas mediante UHPLC−MS

Figura 35. Diferencias en la abundancia de especies lipídicas en el TABs entre los grupos de OW/OB (barras verdes) y NW (barras azules)
Figura 36. Espectros MS/MS de las nuevas especies lipídicas detectadas en las muestras de TABs, incluidas las especies OxTG y EtherTG
Figura 37. Diferencias en la abundancia de especies lipídicas en el TABv entre los grupos de OW/OB (barras verdes) y NW (barras azules)
Figura 38. Heatmap. Correlación de Pearson de especies lipídicas estadísticamente significativas entre TABv (vWAT) y TABs (sWAT)
Figura 39. Interpretación biológica de la remodelación lipídica en los TABs y TABv de niños en respuesta a la obesidad y posibles intervenciones

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

4-PL: Regresión Logística de Cuatro Parámetros

11β-HSD1: 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1

A-FABP: Proteína de unión a ácidos grasos de adipocitos

AG: Ácidos grasos

AGRP: Proteína relacionada con Agouti

ALT: Alanina aminotransferasa, (también conocida como GPT)

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico

ANOVA: Análisis de Varianza

ANCOVA: Análisis de Covarianza

ASPN: Asporina

AST: Aspartato aminotransferasa

BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro

Bmal1: Proteína Similar al ARNT del Cerebro y Músculo-1

BMP9: Proteína morfogenética ósea 9 (también conocida como GDF2)

CCL2: Quimioquina C-C de motivo 2 (también conocida como MCP-1)

CCR2: Receptor para CCL2

CD36: Glucoproteína plaquetaria 4

CD38: Antígeno de diferenciación 38

CHCl3: Cloroformo

CL: Cardiolipina

CLU: proteína de unión a la clústerina

CSF1: Factor estimulante de colonias de macrófagos 1 procesado

CV: Coeficiente de variación

DAG: Diacilgliceroles

ds: Desviación estándar

DXA: Absorciometría de rayos X de energía dual

EMA: Agencia Europea del Medicamento

ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico

ESI: ionización por electrospray

EtherTG: Triglicéridos con enlace éter

FADS 1 y FAD2: Desaturasas de ácidos grasos

FbI: Search-by-ion: Búsqueda por iones

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU.

FDR: Tasa de descubrimientos falsos

FFA: Ácidos grasos libres

FGF2: Factor de crecimiento fibroblástico 2

FGF21: Factor de crecimiento fibroblástico 21

FGF23: Factor de crecimiento fibroblástico 23

FOXM1: Factor de Transcripción FOX de la Clase M1

FST: Follistatina

FTO: Gen asociado con la masa grasa y la obesidad

FVW: Factor de Von Willebrand

GCG: Polipéptido relacionado con la glicentina

GDF2: Factor de crecimiento/diferenciación 2 (también conocido como BMP9)

GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa

GHRL: Grelina

GIP: Polipéptido inhibidor gástrico

GL: Glicerolípido

GLP-1: Péptido 1 similar al glucagón

GP: Glicerofosfolípido

GPT: Glutámico pirúvico transaminasa (también conocida como ALT)

Hb1c: Hemoglobina glicosilada

HDL: Lipoproteína de alta densidad

HMGB1: Proteína de la caja de alta movilidad 1

HSD11B1: Isoenzima 1 de la 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa

Hsp: Proteína de choque térmico

ICC: Índice cintura/cadera

ICT: Índice cintura/talla

IFN gamma: Interferón gamma

IGFBP3: Proteína ligadora del factor de crecimiento insulínico tipo 3

IGFI: Factor de crecimiento tipo insulina I

IKBKG: Modulador esencial de NF-kappa-B

IL1β: Interleucina 1β

IL4: Interleucina 4

IL6: Interleucina 6

IL10: Interleucina 10

IL13: Interleucina 13
IL15: Interleucina 15
IL 18: Interleucina 18
IMC: Índice de Masa Corporal
IMT: Índice de Masa Triponderal
JUND: Subunidad D del factor de transcripción AP-1
LAIR2: Receptor asociado a la inmunoglobulina tipo lectina 2
LAMP3: Glucoproteína de membrana asociada al lisosoma 3
LCAT: Lecitina-colesterol aciltransferasa
LC-MS: Cromatografía líquida-espectrometría de masas
LC-MS/MS: Cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem
LDL: Lipoproteína de baja densidad
LOX-1: Receptor de lipoproteína de baja densidad oxidada (también conocido como OLR1)
LPC: Lisofosfatidilcolina
LPE: Lisofosfatidiletanolamina
MAG: Monoacilglicerol
MASLD: Enfermedad hepática esteatósica asociada a disfunción metabólica
MANF: Factor neurotrófico derivado de astrocitos mesencefálicos
MC4R: Receptor de melanocortina 4
MCP-1: Proteína 1 quimioatrayente de monocitos (también conocida como CCL2)
MeOH: Metanol
MFE: Extracción de características moleculares
MiARN: MicroARN
MVDA: Análisis de datos multivariantes
MVPA: Actividad física moderada a intensa
NaN: No es un número
NEFA: Ácidos grasos no esterificados
NEFFA: Ácidos grasos libres no esterificados
NF-κB: Factor nuclear kappa-ligando para la cadena ligera de células B activadas
NPX: Expresión proteica normalizada
NPY: neuropéptido Y

NRP2: Neuropilina-2

NW: Peso normal

OLR1: Receptor de lipoproteína de baja densidad oxidada (también conocido como LOX-1)

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPLS-DA: Análisis discriminante ortogonal de cuadrados parciales

OSCA: Servicios de Obesidad para Niños y Adolescentes, Inglaterra

OSM: Oncostatina-M

OW/OB: Sobrepeso/obesidad

OxTG: Triglicéridos oxidados

PA: Ácido fosfatídico

PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno 1

PC: Fosfatidilcolina

PCA-X: Análisis de componentes principales

PCR: Proteína C reactiva

PE: Fosfatidiletanolamina

PEA: Ensayo de extensión por proximidad

PEDF: Factor derivado del epitelio pigmentario

PER3: Proteína circadiana homóloga 3

PG: Prostaglandinas

PI: Fosfatidilinositol

PIB: Producto interior bruto

PLS-DA: Análisis discriminante de cuadrados parciales

POMC: Pro-opiomelanocortina

PON1: Paraoxonasa 1, enzima antioxidante

PPAR-α: Receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa

PPARγ: Receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma

PRDM16: Factor de transcripción PR Domain Containing 16

PS: Fosfatidilserinas

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados

PYY: Péptido YY (3-36)

QCs: Control de calidad

QTOF: Cuadrupolo tiempo-de-vuelo

RBP4: Proteína de unión a retinol 4

Rpm: Revoluciones por minuto

SAOS: Síndrome de apneas obstructivas del sueño

SCD: Estearoil-CoA desaturasa 1

SH2B1: Proteína adaptadora SH2B1

SHBG: Globulina unidora de hormonas sexuales

SI: Estándar interno

SM: Esfingomielina

Smad3: Proteína relacionada con Sma y Mad 3

SP: Fosfoesfingolípido

TA: Tejido adiposo

TAB: Tejido adiposo blanco

TABe: Tejido adiposo beige

TABs: Tejido adiposo subcutáneo

TABv: Tejido adiposo visceral

TAG: Triacilgliceroles

TAM: Tejido adiposo marrón

TG: Triglicéridos

TGF-β: Factor de crecimiento transformante beta

TGF-β1: Proteína del factor de crecimiento transformante beta-1

TLR1: Receptor tipo Toll 1

TMBE: éter metil-terc-butilo

TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa

TSH: Tirotropina

UCI: Unidad de cuidados intensivos

UCP-1: Proteína desacoplante 1

UHPLC: Cromatografía líquida de ultra-alta resolución

ULOQ: Límite superior de cuantificación

UVDA: Análisis de datos univariantes

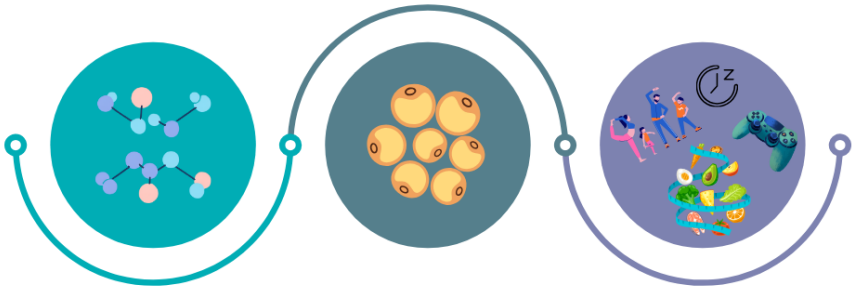
VEGFA: Factor de crecimiento endotelial vascular A

VIP: Variables en la proyección

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

WISP1: Proteína 1 de la vía de señalización inducida por Wnt1

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

1 La obesidad: trastorno metabólico e inmunológico

1.1 Conceptos básicos

La obesidad es un trastorno metabólico, consecuencia de la acumulación excesiva y anómala de grasa corporal, que daña el organismo de forma precoz y duradera, predispone a enfermedades graves y compromete la salud a corto y largo plazo. La obesidad afecta al desarrollo y correcto funcionamiento de diversos tejidos del organismo, principalmente del tejido adiposo (TA). Concretamente, la obesidad severa se caracteriza por la alteración cuantitativa y cualitativa del TA. El TA no es un mero reservorio de ácidos grasos (grasa blanca) o productor de calor (grasa parda), sino un tejido activo que responde a múltiples estímulos (insulina, glucagón, esteroides, citocinas, prostaglandinas, colesterol, ácidos grasos...) y modula la síntesis de las proteínas responsables de los efectos deletéreos de la obesidad (1). El adipocito, principal componente del TA, es una célula especializada que desempeña un papel fundamental en el metabolismo, almacenando o liberando biomoléculas precursoras en función de las necesidades energéticas. El adipocito es capaz de mantener, en condiciones de homeostasis, la composición lipídica específica al depósito al que pertenece a pesar de estar expuesto a balances energéticos muy diferentes, como una dieta alta en grasas, el frío o el ejercicio a través de mecanismos específicos de regulación (2,3). Sin embargo, la hipertrofia excesiva del TA conlleva múltiples consecuencias. Por un lado, pierde la capacidad para almacenar correctamente los lípidos (4) lo que conlleva la acumulación de lípidos en células no adiposas como el músculo esquelético, el hígado, las células beta pancreáticas o las paredes vasculares (5). La acumulación ectópica de lípidos en estos tejidos no adiposos produce alteraciones metabólicas, alteraciones en las vías de señalización y respuestas alostéricas que desencadenan respuestas inflamatorias y estrés oxidativo. Por otro lado, el TA es un órgano endocrino que sintetiza citocinas proinflamatorias, que inducen la llegada de células inflamatorias, como los macrófagos y las células T que secretan más citocinas proinflamatorias (1,6–11) (Figura 1). Todas estas alteraciones inducidas por el acúmulo de lípidos conforman el fenómeno de lipotoxicidad, el principal responsable de las diferentes enfermedades asociadas con la obesidad como la

resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares (12,13). La obesidad también induce cambios característicos en la composición lipídica del suero que participan en la patogénesis de las alteraciones metabólicas propias de la obesidad (14–17). La obesidad representa, por tanto, un estado inflamatorio crónico que, una vez establecido, es muy difícil de revertir.

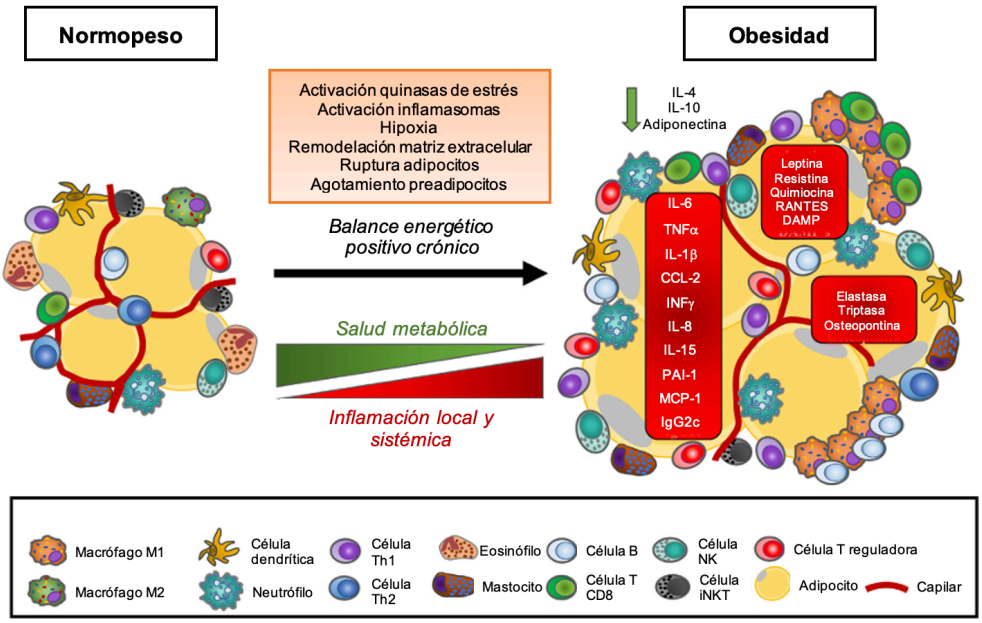


Figura 1. Cambios inmunológicos producidos en el TA como consecuencia de la obesidad

El balance energético positivo crónico condiciona una expansión forzada del TA y la hipertrofia de sus adipocitos sin respuesta angiogénica concurrente. La hipoxia local consecuente conlleva la ruptura de los adipocitos y el agotamiento de los preadipocitos necesarios para continuar con la expansión del TA por adipogénesis. Los adipocitos liberan señales de peligro, los patrones moleculares asociados a daño (DAMP *Damage-Associated Molecular Patterns*), y otras moléculas de señalización que inician la activación de las quinasas de estrés y promueven la infiltración de monocitos para gestionar la remodelación de la matriz extracelular. Neutrófilos, células B, células T CD8+ y macrófagos M1-like/intermedios infiltran y rodean a los adipocitos inestables en forma de corona. Como consecuencia, predomina un perfil de secreción proinflamatorio y algunas células antiinflamatorias como los eosinófilos y las células iNKT abandonan el tejido. Las citocinas proinflamatorias y las adipocinas activan las quinasas de estrés y los inflamasomas. La inflamación local resultante reduce la sensibilidad del TA a la insulina y promueve la deposición lipídica ectópica, la inflamación crónica y la resistencia sistémica a la insulina mediante lipotoxicidad. DAMP: patrón molecular asociado a daño; IFN-γ: interferón gamma; Ig: inmunoglobulina; IL: interleucina; iNKT: célula T asesina natural invariante; CCL-2: proteína quimiotáctica de monocitos 1; MCP-1: proteína inflamatoria de macrófagos 1

alfa; PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno 1; RANTES, quimiocina de regulación por activación expresada y secretada por los linfocitos T (CCL-5); célula Th: célula T auxiliar; TNF-α: factor de necrosis tumoral-alfa. Adaptado de (18).

1.2 *Clasificación*

Dado que la característica principal de la obesidad es el acúmulo excesivo de grasa corporal, la cuantificación del TA corporal es fundamental para su estudio. La forma más práctica y utilizada es el Índice de Masa Corporal (IMC) que se correlaciona con el contenido de grasa corporal y los pliegues cutáneos, aunque no informa sobre la distribución de la grasa. El IMC se calcula con la fórmula: IMC = Peso (kg) / Talla^2 (m).

Los criterios de la Sociedad Española de Obesidad (SEEDO) para clasificar la obesidad en adultos según el IMC son los siguientes (Tabla 1):

Tabla 1. Clasificación de la obesidad en adultos según la SEEDO

Categoría	Valores límite de IMC (kg/m^2)
Peso insuficiente	< 18,5
Normopeso	18,5 - 24,9
Sobrepeso grado I	25 - 26,9
Sobrepeso grado II (preobesidad)	27 - 29,9
Obesidad tipo I	30 - 34,9
Obesidad tipo II	35 - 39,9
Obesidad tipo III (mórbida o severa)	40 - 49,9
Obesidad tipo IV (extrema)	> 50

2 Obesidad pediátrica

2.1 *Definición*

La Asociación Española de Pediatría manifiesta la necesidad de estandarizar los criterios de sobrepeso, obesidad y obesidad severa en pediatría (19). La falta de consenso engloba diferentes aspectos clínicos (Figura 2):

1) Parámetro de adiposidad: las publicaciones pediátricas usan habitualmente el IMC aunque el índice de masa triponderal (IMT) se plantea como un predictor más preciso de adiposidad (20). Otros parámetros menos utilizados son el perímetro de cintura, el índice cintura/cadera y el porcentaje de adiposidad relativa.

2) Unidad de referencia: los valores de IMC se expresan entorno al percentil 85-95, el porcentaje del percentil o las desviaciones estándar (ds) sobre la mediana (22).
3) Patrón de crecimiento infantil de referencia: se utilizan principalmente las curvas de la Organización mundial de la Salud (OMS), las curvas Orbegozo (21) o las curvas Carrascosa (22).
4) El valor de referencia para cada subgrupo de obesidad: la OMS define en niños de 5 a 19 años el sobrepeso como IMC > 1 ds (equivalente a IMC >25kg/m2 con 19 años) y la obesidad como IMC >2 ds (equivalente a IMC > 30kg/m2 con 19 años) por encima de la mediana en los patrones de crecimiento. El grupo de trabajo OSCA (*Obesity Services for Children and Adolescents, Inglaterra*) define la obesidad severa pediátrica como IMC > 3,5 ds por encima de la mediana de crecimiento (23), referencia avalada por algunos servicios de endocrinología pediátrica en España (24).

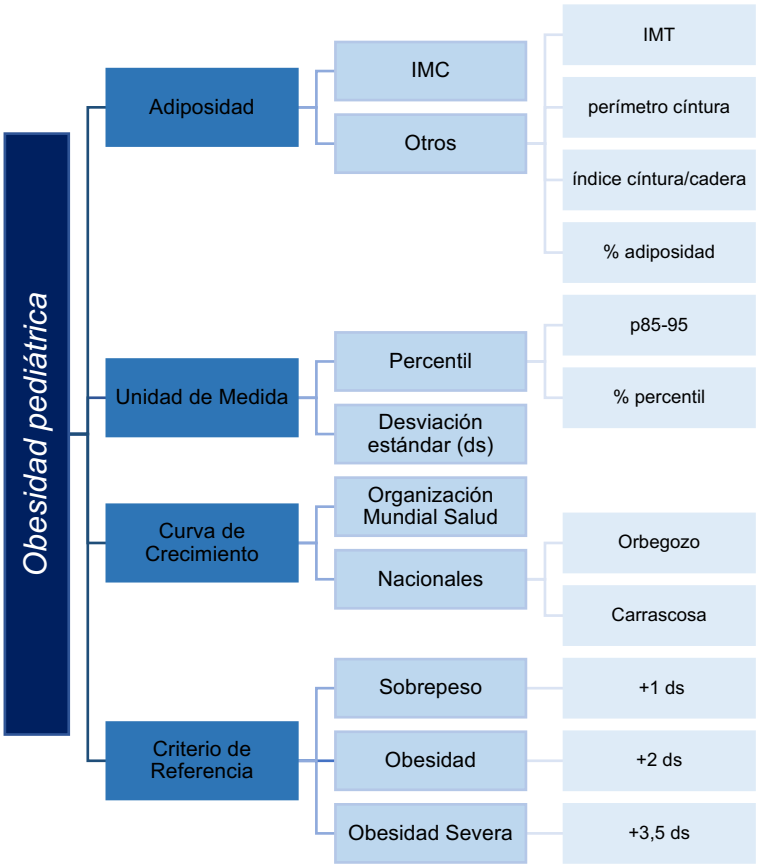


Figura 2. Problemáticas entorno a los criterios de definición de la obesidad pediátrica. Elaborada por la autora

En esta tesis doctoral, los pacientes se clasifican en los grupos normopeso, sobrepeso y obesidad en base a las curvas Carrascosa y los siguientes valores de referencia:

1) Normopeso: IMC entre -1 y 1 ds de la mediana establecida según patrones de crecimiento infantil por edad y sexo.
2) Sobrepeso: IMC ≥ 1 ds por encima de la mediana establecida según patrones de crecimiento infantil por edad y sexo.
3) Obesidad: IMC ≥ 2 ds por encima de la mediana establecida según patrones de crecimiento infantil por edad y sexo.

2.2 *Epidemiología*

La obesidad, declarada por la OMS la pandemia del siglo XXI afecta actualmente a 988 millones de personas en el mundo y representa un impacto económico del 2,5% del PIB mundial (25). Concretamente, en 2020, 175 millones de niños entre 5 y 19 años tenían obesidad (25) (Figura 3).

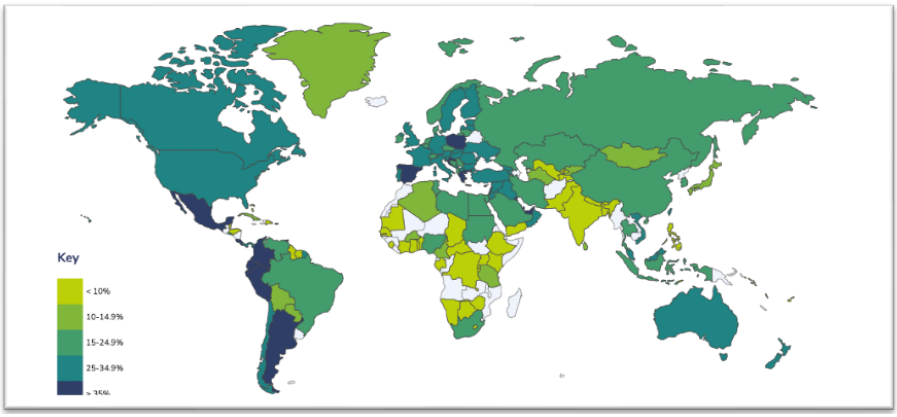


Figura 3. Prevalencia mundial actual de sobrepeso y obesidad infantil

Mapa que muestra la proporción de niños y adolescentes que viven con sobrepeso u obesidad según los datos más recientes disponibles del Observatorio Mundial de la Obesidad. España junto con Méjico, Argentina, Perú, Grecia, Polonia, Qatar o Emiratos Árabes son los países con mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil, superando el 35%. Fuente: World Obesity, https://data.worldobesity.org/maps/?area=trends&group=B&year=2030

En España, el 33,2% de los niños de 8 a 16 años tiene exceso de peso, de los cuáles un 11,6% tiene obesidad (26). De hecho, la obesidad se ha convertido en la enfermedad crónica y el trastorno metabólico más prevalente en niños (25). En Cataluña las tasas de sobrepeso y obesidad infantil estimadas superaron el 20 y el 13% respectivamente en 2022 (27). Dada la evolución en los últimos 25

años, la OMS ha creado la 'Comisión para acabar con la obesidad infantil'. El último informe sobre obesidad mundial prevé un aumento de la prevalencia de obesidad infantil y adulta en España en los próximos 15 años, con un aumento anual de la obesidad infantil superior al 2,5% (Figura 4).

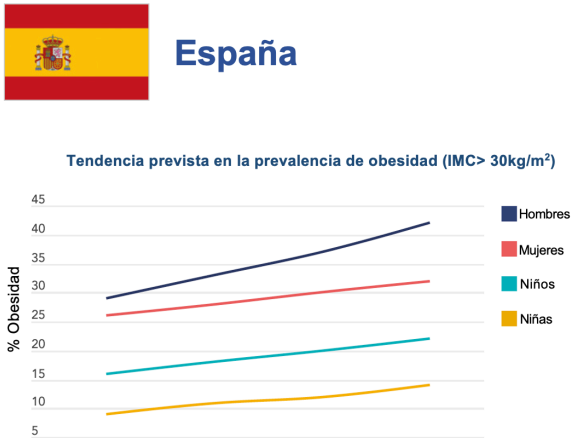


Figura 4. Previsión 2020-2035 de las cifras de obesidad adulta e infantil en España, según el último informe de obesidad mundial (25)

La problemática de la obesidad infantil no sólo preocupa por las cifras crecientes actuales sino por las previsiones a corto y medio plazo. Un niño con obesidad tiene un 80% de posibilidades de seguir padeciéndola a los 35 años (28). La diabetes tipo 2 aparece con mayor precocidad en sujetos que han sido obesos desde la infancia (29). Los niños con síndrome metabólico establecido tienen un riesgo 14,6 veces mayor de padecer enfermedad cardiovascular en la edad adulta (30). En definitiva, la obesidad infantil supone un daño metabólico precoz y duradero que acelera el desarrollo de complicaciones asociadas.

2.3 *Etiopatogenia*

2.3.1 *Obesidad exógena vs. endógena*

La obesidad endógena, intrínseca o secundaria tiene una etiología orgánica. Representa un 1% de los casos de obesidad pediátrica. Las causas más habituales son enfermedades endocrinológicas (hipotiroidismo, hipercortisolismo, déficit de hormona de crecimiento), neurológicas (alteraciones del eje hipotálamo-hipofisario), síndromes genéticos y la ingesta crónica de fármacos (quimioterapia, corticoides, antiepilépticos, antipsicóticos).

La obesidad exógena o simple constituye el 99% de los casos de obesidad pediátrica. La relación entre gasto energético e ingesta está alterada porque los hábitos dietéticos y nutricionales no suelen permitir dicho equilibrio.
Independientemente del mecanismo inicial, la obesidad resulta de un trastorno multifactorial en el que interactúan factores genéticos y ambientales.

2.3.2 Factores genéticos: monogénica, poligénica, epigenética, sindrómica

La obesidad monogénica se origina a partir de una única mutación genética capaz de causar por sí misma daños significativos en el metabolismo. Es el caso de las mutaciones en los genes involucrados en la señalización de la saciedad, como la leptina, el receptor melanocortina 4 (MC4R), la pro-opiomelanocortina (POMC) y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Otro gen muy estudiado por su potencial implicación en la obesidad es el gen FTO (*Fat mass and obesity-associated gene*) también relacionado con una menor respuesta a la saciedad (31).
Sin embargo, en la inmensa mayoría, la obesidad se origina por la presencia simultánea de múltiples variantes genéticas en múltiples genes que, aunque tienen efectos relativamente pequeños, ejercen un efecto acumulativo en la composición corporal (lo que llamamos obesidad poligénica). Se han identificado 11 regiones cromosómicas de interés en relación con la obesidad, que involucran a 30 variantes de los genes FTO, MC4R, BDNF y la proteína adaptadora SH2B1 (SH2B1) (32).
Por otra parte, la expresión genética relacionada con el riesgo de enfermedad puede ser modificada por el entorno, lo que conocemos como epigenética. Cambios epigenéticos durante el desarrollo prenatal o postnatal temprano pueden alterar la probabilidad de que ciertos genes de riesgo sean transcritos. Factores externos como la nutrición materna (el ácido fólico, la metionina, la vitamina B12), la diabetes gestacional o la lactancia han demostrado influir en el riesgo futuro de obesidad en el bebé (33–35). Las señales nutricionales que llegan al hipotálamo en desarrollo durante el embarazo podrían influir en la sensibilidad de estas neuronas para responder a señales similares después del nacimiento.
Por último, la obesidad sindrómica incluye trastornos con herencia mendeliana en los cuales los pacientes presentan obesidad y anomalías específicas

asociadas como retraso en el desarrollo, malformaciones y rasgos dismórficos. Surgen de defectos genéticos discretos o anomalías cromosómicas y pueden ser trastornos autosómicos o ligados al cromosoma X. Actualmente, se han descrito alrededor de 30 síndromes asociados con la obesidad como el síndrome de Prader-Willi, el síndrome de Bardet-Biedl y el síndrome de Alström, entre otros (36).

2.3.3 Factores ambientales

Existen múltiples factores exógenos relacionados con el riesgo de obesidad.

1) Hábitos nutricionales: El perfil nutricional y energético de los alimentos consumidos modula el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. Los alimentos energéticamente densos y pobres en micronutrientes y las bebidas azucaradas provocan hiperinsulinismo crónico, resistencia insulínica y aumento de adiposidad (37) mientras que los carbohidratos de bajo índice glucémico y la fibra aumentan la sensibilidad insulínica (38). Patrones alimenticios específicos como meriendas frecuentes, omitir el desayuno, no comer en familia, el intervalo de tiempo desde la primera hasta la última comida diaria, así como el volumen y velocidad de la ingesta son otros factores de riesgo (39,40).

2) Sedentarismo: La escasez de actividad física conlleva bajo gasto energético. La actividad física reduce la resistencia a la insulina en sólo una semana de intervención (38).

3) Estigma e inestabilidad emocional: La discriminación, el rechazo social, el acoso escolar motivados por la obesidad conllevan aislamiento, sedentarismo, ingesta compulsiva y comportamientos autolesivos (41).

4) Estatus socioeconómico bajo: La obesidad infantil, en España, es más prevalente en las regiones de menor renta anual media y mayor tasa de pobreza infantil (26,42,43).

5) Etnicidad: Las tasas de resistencia insulínica y obesidad severa son mayores en niños de 2 a 19 años de etnia hispana (6,9%) o negra no hispana (7,1%) que en niños caucásicos (4%) (38,42).

6) Obesidad precoz: El IMC o percentil de peso de un niño son predictores de obesidad en el adulto (28). Los pacientes menores de 20 años con obesidad tienen mayores niveles de IMC y peor perfil metabólico frente a los pacientes cuya obesidad se inició más tarde (44).

7) Antecedentes familiares de obesidad severa o cirugía bariátrica: El riesgo relativo de un niño con obesidad de ser candidato a cirugía bariátrica es 14,2 veces mayor si uno de sus padres padece obesidad (45).

8) Gestación y lactancia: La obesidad materna antes del embarazo, el aumento excesivo de peso durante el embarazo y la diabetes gestacional se relacionan con un aumento en el peso al nacer y obesidad infantil (41). La lactancia materna tiene un efecto modesto pero protector contra la obesidad al favorecer la abundancia de Bifidobacterias en la microbiota intestinal del lactante. La introducción muy temprana de alimentación complementaria, antes de los 4 meses de edad, especialmente en bebés alimentados con lactancia artificial, asocia mayores probabilidades de sobrepeso y obesidad (41) al modificar la abundancia de poblaciones específicas en la microbiota intestinal y su interacción con la homeostasis metabólica (46).

9) Exposición a tóxicos en la infancia: El tabaquismo materno durante el embarazo, así como la exposición precoz al tabaquismo pasivo y a la contaminación son también factores de riesgo (41). La exposición precoz a antibióticos, especialmente en caso de tratamientos repetidos, se ha asociado con alteraciones en la microbiota intestinal y la obesidad infantil (41,46).

10) Experiencias adversas en la infancia: El abuso, la disfunción familiar y la negligencia se han relacionado con la obesidad, especialmente en casos de sufrir múltiples experiencias adversas (40).

2.4 *Comorbilidad por aparatos y sistemas*

2.4.1 *Síndrome metabólico*

Se define como la presencia de obesidad abdominal (perímetro de cintura > percentil 90) y dos de los siguientes: presión arterial > 130/85 mmHg, triglicéridos (TG) > 150 mg/dl, HDL-colesterol (HDL-c) < 40 mg/dl en ambos sexos o glucemia basal > 100 mg/dl o dos horas tras la sobrecarga > 140 mg/dl (47). El 23-45% de los adolescentes con obesidad presenta un síndrome metabólico (48) y el principal factor de riesgo para su desarrollo son altos niveles de IMC o adiposidad (49–53). Concretamente, la intolerancia hidrocarbonada es un fuerte predictor de diabetes tipo 2 (29,54) y de perfil cardiovascular desfavorable en jóvenes con obesidad (55).

2.4.2 Enfermedades cardiovasculares

Los niños con obesidad tienen mayor riesgo cardiovascular (56) y es proporcional al grado de adiposidad infantil (6). Concretamente, el 84% de pacientes con obesidad severa tienen al menos un factor de riesgo, 59% dos factores y 33% tres factores de riesgo cardiovascular (42). La aterosclerosis ocurre por múltiples vías como la oxidación del LDL colesterol (LDL-c) (8) o la inhibición de la óxido nítrico sintetasa (57) y afecta de manera precoz a arterias coronarias y aorta (58–63). Se han descrito también cambios cardíacos precoces como mayor masa ventricular izquierda y disfunción diastólica (64,65). El riesgo cardiovascular predispone 1,8 veces más a la muerte por cualquier causa y 2,3 veces más a la muerte por causa cardiovascular (66). Actualmente, la obesidad infantil es considerada causa de muerte prematura ya que reduce la esperanza de vida de 10 a 20 años (42,60,67).

2.4.3 Síndrome de Apneas Obstructivas del Sueño

El Síndrome de Apneas Obstructivas del sueño (SAOS) conlleva hipertensión nocturna, somnolencia diurna y problemas neuroconductuales. Afecta al 5 - 36% de la población adolescente con obesidad frente al 2 - 3% de la población adolescente general (68). Por cada unidad de aumento del IMC en ds, aumenta el riesgo de SAOS 3,5 veces (69).

2.4.4 Esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica

La esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica (MASLD, Metabolic dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease) se relaciona con la adiposidad visceral y la insulinoresistencia (70,71). Se debe a la hiperproducción de ácidos grasos por efecto del hiperinsulinismo y mejora cuando se revierte la resistencia insulínica (72). El 76% de los adolescentes candidatos a cirugía bariátrica presenta MASLD y hasta un 40% esteatohepatitis. La edad temprana (< 10 años) y el sexo masculino son factores de riesgo para su desarrollo. El nivel de LDL-c, TG, Hb1c, GPT y la tensión arterial son predictores de fibrosis hepática (73).

2.4.5 Alteraciones puberales

En las mujeres adolescentes con obesidad, la hiperinsulinemia conlleva un aumento de la producción ovárica y suprarrenal y de la fracción libre de

andrógenos. El hiperandrogenismo conlleva adrenarquia precoz, hirsutismo, oligomenorrea y síndrome de ovario poliquístico. En los adolescentes varones, se produce un aumento de las mamas por un doble mecanismo, el acúmulo de TA (adipomastia) y la sensibilización del tejido mamario a los estrógenos (ginecomastia). En ambos sexos, la resistencia insulínica aumenta la fracción libre de IGFI (factor de crecimiento *insulin-like I*) provocando una aceleración del crecimiento y aumento de la edad ósea sin repercusión sobre la talla final (74).

2.4.6 Hipertensión craneal

El 30 - 73% de los niños con hipertensión cerebral idiopática padecen obesidad (75,76). El riesgo de hipertensión intracraneal es 3,5, 6 y 16 veces mayor en los niños con sobrepeso, obesidad moderada y obesidad severa respectivamente. Los síntomas de hipertensión aparecen antes en los niños con obesidad frente a los niños normopeso (76).

2.4.7 Nefropatía

La obesidad puede cursar con hiperuricemia por déficit de la acción insulínica en el túbulo renal (77). El 17% de los adolescentes candidatos a cirugía bariátrica presenta albuminuria por glomerulopatía y el 24,8% bajo filtrado glomerular (< 90 ml/min por 1,73 m^2), sobre todo los pacientes con un IMC > 40kg/m^2. Tras la cirugía bariátrica, el filtrado glomerular se recupera 3,9ml/min/1,73m^2 por cada 10 unidades de reducción del IMC (78).

2.4.8 Patología ortopédica

Los niños con obesidad tienen más probabilidades de gonalgia, fracturas, limitación de la movilidad y alteraciones óseas frente a niños normopeso (79). Cuanto mayor es el IMC, mayor es el riesgo de enfermedad de Blount y epifisiolosis femoral (80).

2.4.9 Patología digestiva

La obesidad es un factor de riesgo independiente para la colelitiasis. Por cada unidad de aumento del IMC en ds, aumenta el riesgo de colelitiasis un 79% (81). Asimismo, la obesidad se ha asociado con un aumento de la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) (41), debido al aumento de la presión

intraabdominal y del gradiente gastroesofágico, al vaciamiento gástrico alterado y la mayor prevalencia de hernia de hiato. Las complicaciones relacionadas con la ERGE prolongada, como el esófago de Barrett, la esofagitis erosiva y el adenocarcinoma esofágico también están asociados con la obesidad, especialmente con la obesidad central (82).

2.4.10 Alteraciones cutáneas

La obesidad provoca alteraciones de mecanismos fisiológicos de la piel como la sudoración o la barrera epidérmica. La acantosis nigricans (la hiperpigmentación y engrosamiento de la piel en áreas con pliegues y arrugas) es la manifestación dermatológica más frecuente, afecta al 66% de adolescentes con sobrepeso y al 56 - 92% de los niños y adolescentes con diabetes tipo 2. Es el hallazgo temprano más frecuente en niños que presentan obesidad y/o síndrome de resistencia a la insulina (83). El 40% de los niños con obesidad moderada-severa presenta estrías (placas lineares atróficas secundarias al estiramiento de la piel en los glúteos, el abdomen y los muslos) y su presencia se relaciona directamente con el grado de obesidad. El incremento de los pliegues fisiológicos, la disminución de la microvasculatura, la inhibición de la circulación linfática, la alteración de la barrera epidérmica y los microambientes húmedos y macerados por limitación en la movilidad y en las actividades básicas de higiene son factores de riesgo para dermatosis secundarias. El intertrigo es la manifestación más frecuente y la complicación más habitual es la sobreinfección por *Candida Albicans* (84).

2.4.11 Morbilidad psicosocial

Los adolescentes con obesidad presentan peor calidad de vida sobre todo en los aspectos emocional, social y escolar (85), con tasas de depresión y conducta por atracones del 30% (86) y 20% (87–89) respectivamente. El estrés psicosocial, la falta de sueño y la depresión aumentan la producción de cortisol mediante activación del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, agravando el síndrome metabólico (77).

2.4.12 Cáncer

El síndrome metabólico aumenta la incidencia de cáncer de colon, mama y endometrio en la edad adulta. La esteatosis hepática de larga evolución aumenta la incidencia de carcinoma hepático y biliar (77).

La figura 5 resume brevemente el alcance sistémico de la obesidad.

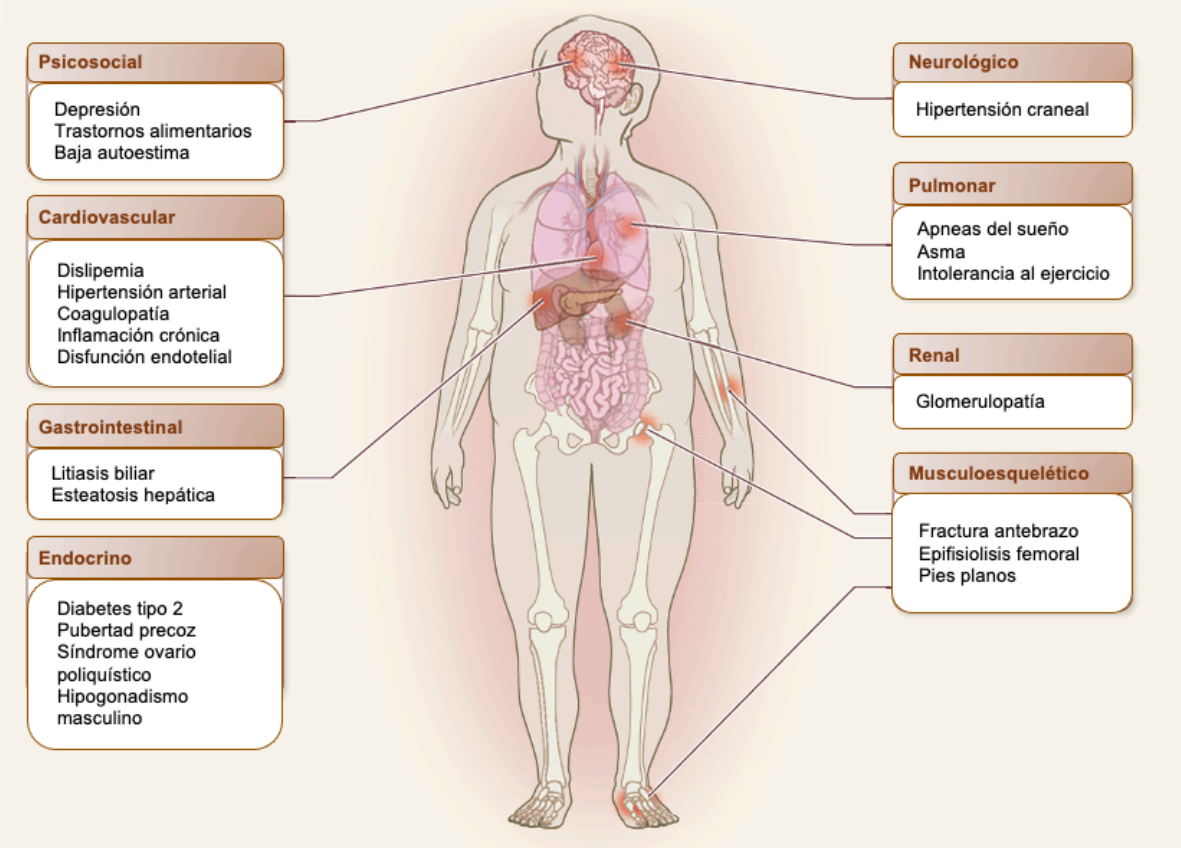


Figura 5. Comorbilidades a corto y largo plazo asociadas con la obesidad infantil y adolescente

Las complicaciones de salud y comorbilidades incluyen trastornos psicosociales, cardiovasculares, gastrointestinales, endocrinos, neurológicos, respiratorios, renales y musculoesqueléticos. Adaptado de (90).

3 *Líneas terapéuticas actuales*

Las estrategias terapéuticas que se llevan a cabo en la actualidad en el tratamiento de la obesidad infantil son las siguientes:

3.1 *Prevención primaria*

El incremento de la obesidad en la sociedad moderna ocurre en un contexto biosocioeconómico complejo, en el que la predisposición biológica, las fuerzas socioeconómicas y los factores ambientales promueven la obesidad a la vez que dificultan su tratamiento. La predisposición biológica no es prevenible y es difícilmente reversible. Influye en gran medida en la composición cuantitativa y cualitativa del TA corporal mediante los circuitos de saciedad, eficiencia metabólica y control del peso corporal y regula la composición y distribución del TA. Sin embargo, existen factores socioeconómicos y ambientales que crean un ambiente obesogénico que sí es reversible y prevenible.

A pequeña escala, a nivel familiar, se debe promover un estilo de vida saludable en cuanto a actividad física, hábitos alimenticios, sueño y uso de pantallas.

3.1.1 Actividad física

La OMS recomienda realizar 180 minutos al día de actividad física de cualquier intensidad, de los cuáles 60 de actividad física moderada o intensa tanto en niños como en adolescentes. En 2022 - 2023, el tiempo dedicado a realizar actividad física moderada o intensa se ha reducido un promedio de 7 minutos en la población infantojuvenil española, lo que supone una pérdida de unos 50 minutos semanales (26). Esta reducción es incluso mayor en las zonas de menor renta media anual. La reducción en la actividad física se relaciona con la pérdida de espacios recreativos públicos, el aumento del transporte motorizado, la disminución del transporte activo y el aumento del entretenimiento pasivo (28). Conviene establecer estrategias que de forma estructural contribuyan a promover la práctica de actividad física moderada o vigorosa en la población infantojuvenil.

3.1.2 Hábitos alimentarios

La población infantil española tiene un nivel promedio de adherencia a la dieta mediterránea de 6,48 puntos (en una escala de - 4 a 12 puntos) (26). Apenas el 37 % de la población infantojuvenil alcanza un nivel alto de adherencia a la dieta mediterránea y un 12 % presenta un nivel bajo. El consejo nutricional en el primer año de vida por parte de los pediatras de atención primaria disminuye la prevalencia de obesidad a los 9 años (91) y los factores de riesgo cardiovascular y el espesor de la íntima aórtica a los 20 años (92). Se recomienda comenzar con los cambios en el estilo de vida desde los 2 años en niños con sobrepeso y en todos los mayores de 2 años, incluso normopeso, si proceden de grupos de riesgo (66).

3.1.3 Sueño

El cumplimiento de las recomendaciones de sueño durante la infancia y la adolescencia es un factor del estilo de vida clave para el desarrollo saludable ya que se relaciona con la regulación de la saciedad y el hambre, la voluntad de ser físicamente activo y de relacionarse y de disfrutar de las actividades del día a día. La OMS recomienda 10 - 13 horas de sueño de 1 a 5 años, 9 - 12 horas de sueño de 6 a 12 años y 8 - 10 horas de sueño de 13 a 18 años. Casi la mitad de los niños y adolescentes en España no cumplen con las recomendaciones de horas de sueño diario tanto entre semana como el fin de semana. En entornos de pobreza infantil y menor renta media anual, el porcentaje de incumplimiento es mayor tanto entre semana como el fin de semana (26).

3.1.4 Uso de pantallas

La OMS recomienda no superar los 60 minutos diarios de uso de pantallas en menores de 6 años ni los 120 minutos al día en mayores de 6 años y adolescentes. El exceso de uso de pantallas promueve el marketing de alimentos no saludables, la sobreingesta (al comer mientras se miran pantallas), la reducción de actividad física, el refuerzo de comportamientos sedentarios y la reducción del tiempo de sueño (41). Estos cambios conductuales se correlacionan con cambios en los niveles de grelina y leptina (93). La población infantil española supera el tiempo recomendado de uso de pantallas entre semana y fin de semana en más del 60% y 80% de los casos respectivamente.

El exceso en el uso de pantallas afecta a más del 80% de los adolescentes. El promedio de minutos de uso de pantallas y el porcentaje de incumplimiento de la recomendación es considerablemente mayor en la población de menor renta media anual y de mayor pobreza para los días de entre semana (26).

A mayor escala, tanto la comunidad local (cuidado infantil y escuelas, parques, espacios verdes, transporte público y establecimientos de alimentos) como el entorno sociopolítico más amplio (políticas gubernamentales, industria alimentaria, marketing de alimentos, sistemas de transporte, políticas y subsidios agrícolas) tienen la capacidad de explotar las vulnerabilidades biológicas, psicológicas, sociales y económicas de la población. Es por lo tanto fundamental trabajar en la implantación de políticas socioeconómicas y sanitarias con el objetivo de promocionar la dieta y estilo de vida saludables desde muy temprana edad (41). La figura 6 resume brevemente la complejidad del contexto biosocioeconómico en el que se desarrolla la obesidad infantil.

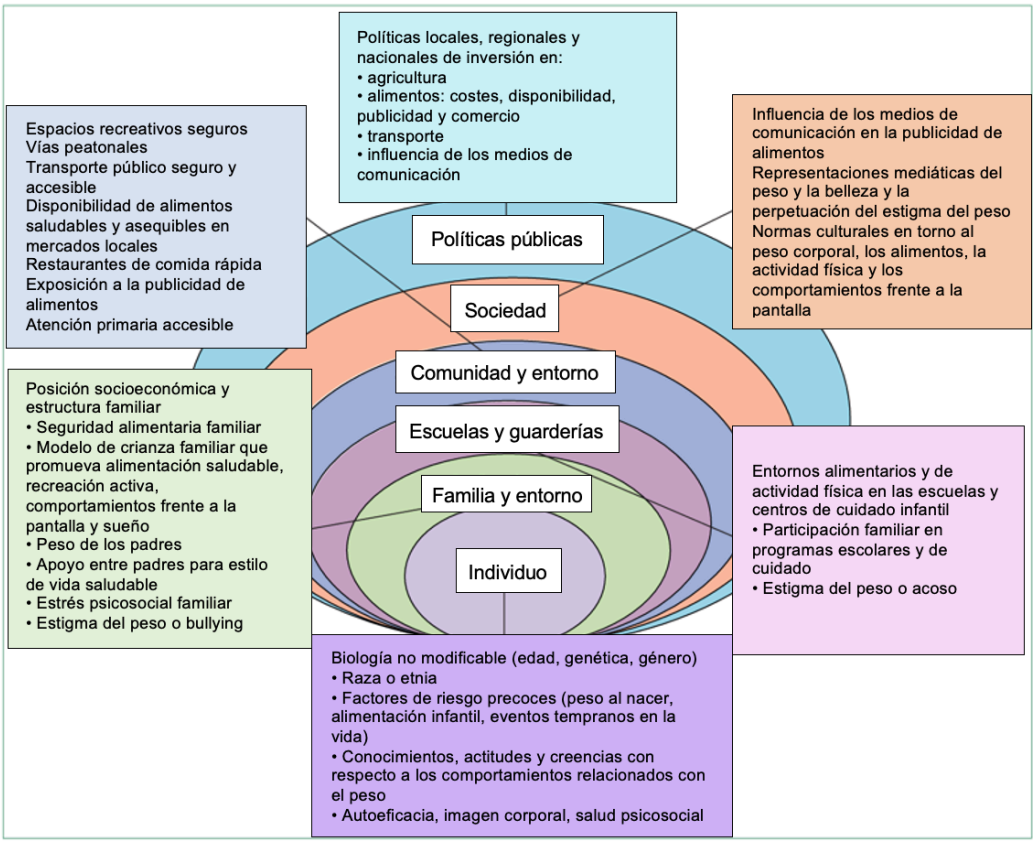


Figura 6. Modelo biosocioeconómico, dinámica entre los factores personales y ambientales promotores de la obesidad infantil

Adaptado del marco del modelo social-ecológico para la prevención del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (41).

3.2 Cambios conductuales: alimentación y actividad física

La terapia conductual incluye abordar la ingesta dietética, la actividad física, los comportamientos sedentarios, la higiene del sueño y los componentes conductuales dentro del contexto familiar y adecuado al desarrollo, con el objetivo de lograr una modificación del comportamiento a largo plazo. La intervención dietética pretende mejorar los patrones alimentarios, priorizar la dieta mediterránea y fomentar rutinas en las comidas y las comidas en familia. Puede ir asociado o no a una moderada restricción energética siempre y cuando los enfoques dietéticos sean nutricionalmente completos y prevengan las deficiencias nutricionales. La intervención sobre actividad física y sedentarismo consiste en ofrecer un programa de ejercicio estructurado, en sesiones de 60 minutos al menos 3 días a la semana, con una duración mínima de 12 semanas. El programa de entrenamiento debe adaptarse a las habilidades físicas del paciente y debe desarrollarse en un entorno seguro, de apoyo, divertido y sin juicios para que participen en el juego activo. Los objetivos son facilitar la socialización con compañeros y favorecer la competencia motora, la confianza y la optimización de habilidades motoras fundamentales. Reducir el uso de pantallas implica una participación activa de los padres, para limitar el acceso a dispositivos y monitorizar el tiempo de uso. Las mejoras en la higiene de sueño consisten es establecer horarios regulares de sueño y vigilia y reducir el uso de pantallas por la noche. La intervención conductual debe complementarse con una terapia cognitiva centrada en los factores psicológicos que contribuyen a la obesidad, como la distorsión de la imagen corporal, el estado de ánimo negativo y el control de estímulos. La terapia conductual, basada en teorías de condicionamiento clásico y aprendizaje social, asume que la ingesta y la actividad física son los principales mediadores de la obesidad y que pueden ser modificados. Sin embargo, la terapia conductual multimodal en niños y adolescentes obesos, como única intervención, ha demostrado resultados modestos a corto plazo en término de pérdida de peso (-1,18 kg/m^2; -3,67 kg; -0,3 ds), resolución de comorbilidades y sostenibilidad a largo plazo (94,95). La falta de mejoría tiene sentido si uno entiende la obesidad como una anomalía en el sistema regulador energético que daña al organismo y no como la falta de conductas voluntarias y responsabilidad personal.

3.3 Tratamiento farmacológico

La farmacoterapia, combinada con intervención conductual, puede ser especialmente útil en pacientes para quienes los enfoques conductuales por sí solos han demostrado ser ineficaces en la reducción del IMC y en la mejora de las complicaciones relacionadas con la obesidad. La liraglutida es uno de los fármacos autorizados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para el tratamiento de la obesidad en adolescentes de 12 a 18 años. Es un agonista del receptor del péptido *glucagon-like* 1, que actúa sobre sus receptores en el sistema nervioso central para reducir el apetito, disminuir la motilidad gástrica y aumentar la saciedad (96). Después de un año de tratamiento, los adolescentes consiguen una reducción del IMC de 5% (97), sin mejoras significativas en los factores de riesgo cardiovascular o en la calidad de vida. La metformina está aprobada por la EMA y la *Food and Drug Administration* (FDA) para el tratamiento de la diabetes tipo 2 a partir de los 10 años de edad y, como tratamiento fuera de ficha técnica de la obesidad en no diabéticos, consigue una reducción media del IMC alrededor del 3%. Otras medicaciones todavía no aprobadas en la Unión Europea son el orlistat (reducción media del IMC < 3%, aprobado por la FDA para mayores de 12 años), la fentermina (aprobado por la FDA para mayores de 16 años, sin ensayos controlados aleatorios realizados en adolescentes), el topiramato (reducción media del IMC < 3%) y la combinación de fentermina y topiramato (aprobado por la FDA en mayores de 12 años) (41,98–100).

3.4 Tratamiento quirúrgico

Dados los modestos resultados de la terapia conductual y la farmacología en el tratamiento de la obesidad severa, en los últimos 20 años se ha extendido la indicación de la cirugía bariátrica a adolescentes muy seleccionados que padecen comorbilidades médicas y psicosociales secundarias a la obesidad severa. La cirugía bariátrica incluye una serie de técnicas cuyos objetivos pueden ser la restricción de la capacidad gástrica (técnicas restrictivas) y/o la interferencia del tránsito alimentario y de la absorción de nutrientes (técnicas malabsortivas).

3.4.1 Experiencia internacional

En Estados Unidos se indica la cirugía bariátrica en jóvenes con un IMC mayor de 40 kg/m^2 o mayor de 35 kg/m^2 con comorbilidades establecidas (diabetes, SAOS, MASLD, hipertensión intracraneal, enfermedad de Blount o epifisiolosis de la cabeza femoral) en los que han fracasado otros tratamientos durante al menos 6 meses. Son requisitos indispensables una valoración psicológica positiva del adolescente y sus padres, así como una edad cronológica y ósea mayor de 13 años en mujeres y 15 en varones. Sin embargo, los trastornos psiquiátricos o cognitivos (incluyendo de la conducta alimentaria), el uso de drogas en el año previo, el embarazo, la lactancia, la planificación de embarazo en el año próximo y la incapacidad o no voluntad de seguimiento médico prolongado contraindican la intervención (101). El bypass gástrico en Y de Roux, la técnica malabsortiva más realizada en adolescentes, ha demostrado una reducción ponderal del 35 - 37% al año postoperatorio frente al 3% en pacientes de mismo sexo, edad e IMC sometidos exclusivamente a programa multimodal (102,103). Además de la pérdida ponderal, trata el SAOS (104,105), la diabetes tipo 2 (106), el síndrome metabólico (102,104,107), la hipertensión intracraneal (104) y mejora el funcionamiento psicosocial (108). Estos cambios se mantienen hasta catorce años después (104). La pérdida ponderal, la tasa de resolución de comorbilidades y la tasa de complicaciones a 5 años son similares a las de los adultos intervenidos (109), con menor tasa de ingreso en UCI y de complicaciones precoces (110). La gran contrapartida de la cirugía bariátrica es el déficit nutricional y vitamínico secundarios a la modificación de la fisiología del tubo digestivo, que podrían alterar el desarrollo y crecimiento del adolescente puberal. Sin embargo, estudios previos han demostrado que tienen un ritmo de crecimiento normal en los tres años postquirúrgicos (111) y una resolución de la desmineralización ósea en los dos años postquirúrgicos (112).

3.4.2 Experiencia nacional

En España, recientemente, 60 expertos de 9 sociedades relacionadas con la obesidad concluyeron que la obesidad adolescente es un problema grave en el que la cirugía podría ocupar un lugar en su tratamiento ya que estudios previos han demostrado que los adolescentes tienen mayor potencial de resolución de comorbilidades frente a los adultos intervenidos (113). Sin embargo, son todavía

escasas las publicaciones nacionales sobre sobre cirugía bariátrica del adolescente (24,114).

4 Rol de las ómicas en el estudio y/o tratamiento de la obesidad

Diagnosticar a un niño con obesidad captura sólo parte del fenotipo. Además, diseñar estrategias de tratamiento sigue siendo un desafío debido a la compleja fisiopatología y los fenotipos heterogéneos de la obesidad pediátrica. La metabolómica, genómica, transcriptómica y microbiómica permiten identificar una firma "ómica" en el niño con obesidad. Complementariamente, el estudio de las exposiciones ambientales o exposoma abarca la totalidad de las exposiciones no genéticas. Concretamente, el proyecto *HELIX* mide y describe múltiples exposiciones ambientales de los diferentes dominios del exposoma durante las primeras etapas de la vida (embarazo e infancia) para asociarlas con marcadores ómicos y resultados de salud infantil (115). Así, caracterizar las interacciones entre las ómicas, la dieta (nutrioma) y el exposoma permite entender las causas y los factores mantenedores de la obesidad infantil (Figura 7) así como desarrollar enfoques pronósticos, diagnósticos y terapéuticos personalizados.

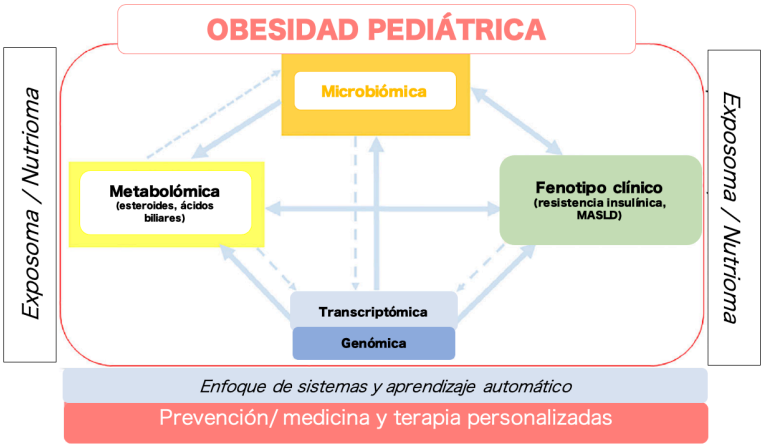


Figura 7. Rol de las ciencias ómicas, la dieta (nutrioma) y las exposiciones ambientales (exposoma) en la obesidad infantil

Un enfoque de sistemas y aprendizaje automático podría aplicarse para caracterizar las interconexiones entre el genoma y el transcriptoma del huésped, el microbioma intestinal, el metaboloma, la dieta (nutrioma) y las exposiciones ambientales a lo largo de la vida (exposoma) y su correlación con la obesidad infantil. Las flechas y flechas discontinuas indican interacciones conocidas y sospechadas, respectivamente. Adaptado de (46).

4.1 Genómica

La genómica, la ciencia que caracteriza y cuantifica los genes, ha permitido entender el papel de la genética en la etiología de la obesidad infantil. La herencia genética es responsable del 70% del IMC, sobre todo si la ascendencia étnica es de alta prevalencia de obesidad. El gen FTO es el máximo responsable identificado en la obesidad después de los 6 años. Se han confirmado 97 locus cromosómicos relacionados con el IMC, cuyas variantes genéticas más comunes justifican el 20% del IMC. Las variantes genéticas relacionadas con la obesidad en el adulto y en el niño empiezan a actuar a partir de los 4 años de edad (46). Sin embargo, la genómica no ha identificado ninguna variante con un efecto genético lo suficientemente grande como para explicar el alto nivel de heredabilidad observado en la obesidad.

4.2 Transcriptómica

En este sentido, la transcriptómica, la ciencia que estudia el conjunto completo de transcritos de ARN a partir del ADN de una célula o tejido, permite cuantificar la vinculación de una variante genética con el fenotipo de obesidad. Los niveles de transcripción de un gen permiten correlacionar y entender mejor los mecanismos de la obesidad más que el mero hecho de poseer una variante genética en sí. Por ejemplo, la disminución de la transcripción, y por lo tanto de la expresión, de varios genes involucrados en la señalización de la insulina y el estrés oxidativo se correlacionan con el IMC. La regulación a la baja de los genes de la fosforilación oxidativa se relaciona con alteraciones en genes y vías involucradas en el metabolismo de carbohidratos y lípidos responsables de la obesidad infantil. Algunos microARNs (miARNs), moléculas de ARN no codificantes que regulan la expresión génica, también están involucrados en la patogénesis de la diabetes tipo 2 y enfermedad coronaria, considerándose biomarcadores potenciales para el diagnóstico temprano y la progresión de enfermedades cardiometabólicas (46).

4.3 Microbiómica

La microbiómica, el estudio de los microorganismos presentes en el intestino y sus genomas colectivos se asocia con el IMC y el perfil lipidómico en sangre, explicando el 5 - 25% de su variación en la edad adulta. El microbioma intestinal

es único para cada individuo, contribuye a la digestión y regula las vías inflamatorias y metabólicas, por lo que se ha convertido en un nuevo objetivo en la investigación sobre la obesidad. Contribuye a la obesidad a través del aumento de la captación y almacenamiento de energía, la regulación del metabolismo de lípidos y glucosa, la inducción de la inflamación de bajo grado así como la regulación de hormonas intestinales y de la saciedad. De hecho, los efectos del microbioma sobre el IMC y el síndrome metabólico son sinérgicos a los efectos del genotipo del paciente. En modelos experimentales, se ha demostrado que el fenotipo de obesidad es transmisible mediante la exposición al contenido fecal de un animal con obesidad a otro animal normopeso (48). En cuanto a la obesidad infantil, estudios previos han demostrado que alteraciones en la microbiota en la infancia se correlacionan con el aumento de peso desde los dos primeros años de vida, en función de la abundancia de colonizadores tempranos en las heces como los estreptococos, las bifidobacterias y *Bacteroides fragilis*. Concretamente, las bifidobacterias son de los colonizadores iniciales más destacados en la primera etapa de la vida ya que promueven las respuestas inmunológicas e inflamatorias importantes para la maduración del intestino del lactante. Varios estudios han documentado proporciones reducidas de *Bifidobacterium* en niños con obesidad y la reducción de peso en niños con sobrepeso tratados con un simbiótico bifidogénico (48). El rol protector de los *Bifidobacterium* contra el desarrollo de la obesidad está relacionado con la mejora de la inflamación inducida por la dieta y la regulación del metabolismo lipídico y energético del huésped. Sin embargo, la identificación de especies concretas y su rol específico en la obesidad requiere todavía de estudios y métodos de análisis más complejos (46). Después del nacimiento, la microbiota intestinal se modifica por la colonización de poblaciones bacterianas procedentes de la madre y del entorno inmediato. Los principales factores que afectan al desarrollo del microbioma intestinal en la primera etapa de la vida y aumentan el riesgo de obesidad infantil son el parto por cesárea, la falta de lactancia materna y el uso de antibióticos. Estas exposiciones microbianas tempranas desempeñan un papel fundamental en la programación metabólica y la tendencia a la disregulación metabólica en la vida posterior. Asimismo, los nutrientes y las prácticas alimenticias modifican profundamente el microbioma intestinal y su interacción con el huésped en términos de homeostasis

metabólica. Sin embargo, en la actualidad no se conoce cómo interactúan el microbioma y la dieta para influir en la salud metabólica del niño (46).

4.4 *Metabolómica*

La obesidad infantil puede surgir de fenotipos metabólicos saludables y no saludables. Los niños de perfil metabólico saludable con un IMC elevado no asocian alteración de los biomarcadores habitualmente utilizados en el diagnóstico de la obesidad adulta, por lo que el uso de estos biomarcadores en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la obesidad infantil pierde validez (116). La metabolómica es el estudio integral de los metabolitos, productos del metabolismo, dentro de las células, los líquidos biológicos y los tejidos. Los metabolitos son los productos finales, huellas químicas únicas, reflejo de los procesos celulares que acontecen en el organismo. Son, por tanto, los testigos más directos de las perturbaciones específicas que ocurren en un proceso de enfermedad, como la obesidad, lo que los hace más útiles como biomarcadores (117).

4.4.1 Lipidómica

El metabolismo de lípidos es uno de los procesos metabólicos afectados en la progresión de la obesidad. Los lípidos son pequeñas moléculas hidrofóbicas que se originan a partir de grupos cetoacilo e isopreno (118), representan aproximadamente el 50% de la masa celular del cuerpo humano (119) y desempeñan funciones vitales como la reserva y producción de energía (120,121), la regulación de la expresión génica y señalización celular (122,123) y la formación de las membranas celulares (124). Las principales categorías de lípidos objeto de estudio en esta tesis doctoral se resumen en la tabla 2.

La lipidómica es el campo de investigación que permite la identificación y cuantificación de las especies lipídicas en un tejido y su interacción con otras moléculas. Los lípidos son estructuralmente muy diversos, se calcula que las principales clases de lípidos abarcan más de 200.000 moléculas. El mantenimiento de una composición lipídica adecuada en las membranas celulares es necesario para garantizar la fluidez de la membrana, la topología de las proteínas asociadas, la actividad de las enzimas unidas a la membrana, el grado de exposición de las proteínas de superficie, la movilidad lateral de los

receptores y la activación de vías de señalización específicas. A pesar de estar expuestas a diferentes aportes nutricionales, las membranas mantienen un notable control de su composición lipídica, reflejo de que existen mecanismos específicos, llamados mecanismos alostáticos, para garantizar el mantenimiento de la composición lipídica de sus membranas. Estos mecanismos alostáticos conllevan un coste metabólico, el estrés acumulativo derivado de la activación de cambios adaptativos para mantener la estabilidad de las membranas. Si el desafío metabólico es intenso o prolongado y el organismo es vulnerable, la carga alostática puede no ser tolerada y resultar en una sobrecarga o fallo global del organismo, es decir, al desarrollo de enfermedad. Dada la estrecha regulación homeostática del metabolismo de lípidos y su enorme relevancia estructural y bioenergética, no sorprende que las alteraciones en el metabolismo de lípidos desempeñen roles importantes en la patogénesis de enfermedades tan diversas como el síndrome metabólico, el Alzheimer, la esquizofrenia, el cáncer, la aterosclerosis y las manifestaciones tóxicas de enfermedades infecciosas (118). Concretamente, el acúmulo excesivo de lípidos en áreas distintas al TA es el responsable de la patogénesis de esas enfermedades mediante un mecanismo de lipotoxicidad. Las nuevas plataformas tecnológicas y herramientas de bioinformática disponibles para el estudio de los lípidos ofrecen la oportunidad de proporcionar una lectura más amplia de la complejidad lipídica en el contexto de la obesidad. La identificación de los mecanismos alostáticos y del estrés metabólico derivados de la obesidad permite descubrir mecanismos patogénicos específicos, así como biomarcadores diagnósticos y pronósticos aplicables en la práctica asistencial.

Tabla 2. Características principales de los lípidos estudiados en esta tesis doctoral

Clasificación, categoría, composición, funciones principales en el organismo y ejemplos. Se añade la estimación más reciente de especies identificadas según LIPID MAPS por categorías y la proporción estimada de cada lípido estructural en la composición lipídica celular de un mamífero. Adaptado de (125).

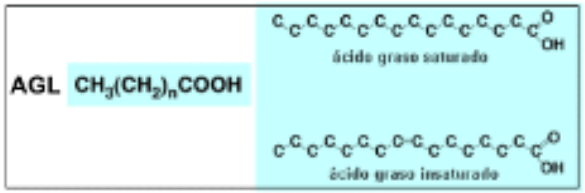
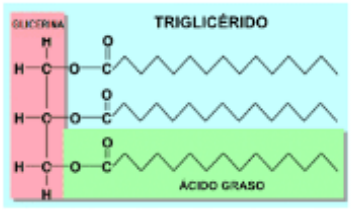
Clasificación		Categoría	Especies identificadas LIPID MAPS	Composición	Funciones	Ejemplo
Basados en glicerol	Simple	Ácidos grasos (AG)	10746	Cadena hidrocarbonada de longitud variable, grupo carboxilo en extremo 	Fuente de energía (betaoxidación)	Saturado: ác. palmítico
					Síntesis de eicosanoides: prostaglandinas (PG), leucotrienos, prostaciclinas - PG tipo 3 (antiinflamatoria, omega-3) - PG tipo 1 (antiinflamatoria) y PG tipo 2 (proinflamatoria) (omega-6)	Monoinsaturado: ác. oleico (omega-9)
						Poliinsaturado esencial (sólo dieta): ác. alfalinolénico (ALA) (omega-3) ác. linoleico (LA) (omega-6)
					Funciones de membrana Intermediario metabólico	Poliinsaturado no esencial: - Omega-3: ác. eicosapentaenoico (EPA) ác. docosahexaenoico (DHA) - Omega-6: ác. gammalinolénico (GLA) ác. araquidónico (AA)
		Glicerolípidos (GL)	7737	 AG + glicerol esterificados	Unidad de absorción intestinal Transporte lípidos Componente leche materna	Monoglicérido (MAG)
					Activación protein-quinasa	Diglicérido (DAG) o (DG)
					98% de los lípidos de la dieta Reserva energética por excelencia	Triglicérido (TAG) o (TG)

Tabla 2 (continuación). Características principales de los lípidos estudiados en esta tesis doctoral

Clasificación, categoría, composición, funciones principales en el organismo y ejemplos. Se añade la estimación más reciente de especies identificadas según LIPID MAPS por categorías y la proporción estimada de cada lípido estructural en la composición lipídica celular de un mamífero. Adaptado de (125).

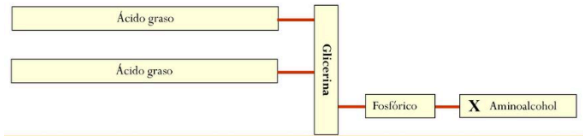
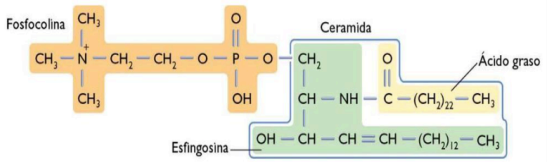
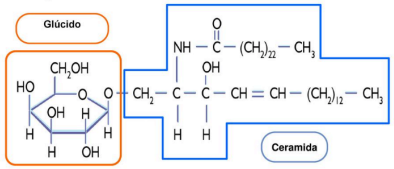
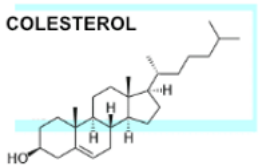
Clasificación		Categoría	Especies identificadas LIPID MAPS	Composición	Funciones	Ejemplo
Basados en glicerol	Complejos, de membrana o estructurales	Glicerofosfolípidos (GP)	10097	 2 AG + glicerol + grupo fosfato (+ aminoalcohol)	Reconocimiento celular Señalización intracelular Transporte de nutrientes Metabolitos Actividades enzimáticas	Ácido fosfatídico (PA) 1- 2% lípidos totales
						Colina: fosfatidilcolina (PC) 45 - 50% lípidos totales
						Etanolamina: fosfatidiletanolamina (PE), 15 - 25% lípidos totales
						Glicerol: fosfatidilglicerol (PG) <1% lípidos totales
						Serina: fosfatidilserina (PS) 5 - 10% lípidos totales
						Inositol: Fosfatidilinositol (PI) 10 - 15% lípidos totales
						Fosfatidilglicerol: Cardiolipina (CL) 2 - 5% lípidos totales
		Fosfoesfingolípidos (SP)	4989	 (AG + esfingosina) =ceramida + grupo polar	Membrana plasmática Vaina mielina	Fosfatidilcolina: Esfingomielina (SM) 5 - 10% lípidos totales
		Glucoesfingolípidos (SP)	1345	AG + esfingosina + glúcido 	2 - 5% lípidos totales Membrana plasmática Abundantes en células nerviosas Transmisión impulso nervioso Especificidad de grupo sanguíneo Reconocimiento virus y bacterias	Galactosa o glucosa: cerebrósidos
						Oligosacárido: globósidos
						Oligoglicosilceramidas + ácido siálico: gangliósidos

Tabla 2 (continuación). Características principales de los lípidos estudiados en esta tesis doctoral

Clasificación, categoría, composición, funciones principales en el organismo y ejemplos. Se añade la estimación más reciente de especies identificadas según LIPID MAPS por categorías y la proporción estimada de cada lípido estructural en la composición lipídica celular de un mamífero. Adaptado de (125).

Clasificación	Categoría	Especies identificadas LIPID MAPS	Composición	Funciones	Ejemplo
No basados en glicerol (o insaponificable)	Isoprenoides/terpenos (PR)	2485	Derivan del isopreno	Antioxidantes Intermediarios metabólicos	Vitaminas liposolubles A, E, K
	Esteroles (ST)	3878	 Derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno	Membrana plasmática Precursor de hormonas esteroideas Precursor de ácidos biliares	Colesterol 10-20% lípidos totales Vitamina D Estrógeno, progesterona, testosterona, cortisol, aldosterona Acido cólico

4.4.2 Proteómica

El metabolismo de las proteínas también tiene un papel fundamental en el desarrollo de la obesidad mediante cambios en sus niveles de expresión, modificaciones postraduccionales, interacciones proteína-proteína y señalización celular (126). Una proteína es una macromolécula compuesta por una cadena de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, cuya secuencia está determinada genéticamente. Las proteínas desempeñan funciones esenciales como la catalización de reacciones bioquímicas, el transporte de moléculas, la señalización celular, el soporte estructural de tejidos, y la regulación de procesos fisiológicos (119). Las treinta proteínas objeto de estudio en esta tesis doctoral y sus características se resumen en la tabla 3.

La proteómica es el campo de investigación que estudia las proteínas a gran escala; su estructura, su función y sus interacciones dentro del organismo. El estudio de las proteínas, como producto final de la transcripción genética y las modificaciones postranscripcionales, desempeña un papel fundamental en la comprensión de las enfermedades (126). Concretamente, medir los cambios en los niveles y perfiles de proteínas en el TA o el plasma de pacientes en condiciones de obesidad permite entender cómo la obesidad afecta a las células de los diferentes compartimentos. Dilucidar la compleja interacción entre las proteínas y la obesidad ofrece además objetivos potenciales para intervenciones terapéuticas y estrategias de tratamiento personalizado.

Tabla 3. Características principales de las 30 proteínas estudiadas en esta tesis doctoral, seleccionadas para el estudio del metabolismo, la inflamación y los circuitos de hambre y saciedad de nuestra cohorte, por orden alfabético. Adaptado de (127).

Proteína	Funciones principales
AGRP (*Agouti-related protein)*	Antagonista endógeno de los receptores de melanocortina MC3R y MC4R en el hipotálamo, impidiendo el efecto saciante y anorexígeno de la hormona estimulante de alfa-melanocitos.
CCL2 *(C-C motif chemokine 2)*	Actividad quimiotáctica para monocitos y basófilos. Implicada en la patogénesis de enfermedades caracterizadas por infiltrados monocíticos como la aterosclerosis.
CD36 *(Platelet glycoprotein 4)*	Receptor para lipoproteínas, fosfolípidos, ácidos grasos y lipopéptidos. La formación resultante de cúmulos de CD36 inicia la transducción de señales.
CSF1 *(Processed macrophage colony-stimulating factor 1)*	Citocina reguladora de la proliferación y diferenciación de células precursoras hematopoyéticas a macrófagos y monocitos. Promueve la liberación de quimiocinas proinflamatorias.
FGF2 *(Fibroblast growth factor 2)*	Regula la división, diferenciación y migración celulares. Potente mitógeno *in vitro*. Puede inducir la angiogénesis.
FGF21 *(Fibroblast growth factor 21)*	Controla la supervivencia celular. Importante regulador metabólico al estimular la captación de glucosa en el tejido adiposo.
FGF23 *(Fibroblast growth factor 23 C-terminal peptide)*	En presencia de KL (*kruppel-like factor*), aumenta la expresión de EGR1 (*Early Growth Response 1*). Regula genes involucrados en el desarrollo, la respuesta al estrés, la proliferación y diferenciación celulares.
FST *(Follistatin)*	Proteína gonadal que inhibe la liberación de la hormona estimulante del folículo (FSH). Se asocia al síndrome de ovario poliquístico.
GCG *(Glicentin-related polypeptide)*	Péptido derivado del proglucagón, que se escinde en glucagón, GLP-1 (glucagon-like peptide 1), GLP-2 y glicentina. Puede estar involucrado en la regulación de la función gastrointestinal y el metabolismo energético.
GDF2 *(Growth/differentiation factor 2)*	Ligando de varios receptores TGF-beta (*Transforming Growth factor*). Promueven la activación de factores de transcripción que regulan la expresión génica de la familia SMAD (proteínas de señalización celular).
GHRL *(Appetite-regulating hormone)*	Estimula el apetito y la secreción de ácido gástrico e induce adiposidad. Asociada con la regulación del crecimiento.
GIP *(Gastric inhibitory polypeptide)*	Participa en la homeostasis de la glucosa. Potente estimulador de la secreción de insulina tras la ingesta de alimentos y la absorción de nutrientes.
HSD11B1 *(Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isoenzyme 1)*	Cataliza la conversión de cortisol a cortisona y vice-versa. El exceso de cortisol se asocia con la obesidad central. Una variación en el gen de la HSD11B1 se ha asociado con obesidad y resistencia a la insulina en niños.
IFN gamma (*Interferon gamma)*	Proteína producida por linfocitos activados por antígenos específicos. Actividad antiviral e inmunorreguladora. Potente activadora de macrófagos.
IKBKG *(NF-kappa-B essential modulator)*	Subunidad reguladora del complejo IKK (*IK kinase*). Activa el factor de transcripción NF-kappaB y regula la expresión de genes involucrados en la inflamación, la supervivencia celular y la respuesta inmune.
IL 1 beta *(Interleukin-1 beta)*	Citoquina proinflamatoria potente. Induce la síntesis de prostaglandinas, la activación de neutrófilos, células T y células B, la proliferación de fibroblastos. Promueve la diferenciación de células T tipo Th17. En sinergia con IL12, induce la síntesis de IFN gamma en las células T helper 1.

Tabla 3 (continuación). Características principales de las 30 proteínas estudiadas en esta tesis doctoral, seleccionadas para el estudio del metabolismo, la inflamación y los circuitos de hambre y saciedad de nuestra cohorte, por orden alfabético. Adaptado de (127).

Proteína	Funciones principales
IL 18 *(Interleukin-18)*	Citoquina proinflamatoria. Estimula la producción de IFN gamma y regula las respuestas de células T helper 1 y 2.
IL 6 *(Interleukin-6)*	Potente inductora de la respuesta inmune aguda. Actúa sobre linfocitos B y T, monocitos, hepatocitos, células progenitoras hematopoyéticas y células del sistema nervioso central. Mioquina liberada tras la contracción muscular para aumentar la descomposición de grasas y mejorar la resistencia a la insulina.
IL10 *(Interleukin-10)*	Citoquina reguladora. Se une a los receptores IL10RA e IL10RB de macrófagos y monocitos, inhibiendo la liberación de citoquinas proinflamatorias.
IL15 (Interleukin-15)	Citoquina esencial en la inmunidad adaptativa e innata. Estimula la proliferación de linfocitos T y células NK y la actividad fagocítica de los neutrófilos.
IL4 *(Interleukin-4)*	Citoquina que promueve la activación de linfocitos B y la diferenciación de células T hacia un fenotipo Th2. Efecto antiinflamatorio al inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL12 o el IFN gamma.
LAMP3 *(Lysosome-associated membrane glycoprotein 3)*	Las células dendríticas utilizan LAMP3 para capturar y presentar antígenos a los linfocitos T. LAMP3 se usa como biomarcador ya que su expresión cambia en respuesta a la activación inmune.
OLR1 *(Oxidized low-density lipoprotein receptor 1, soluble form)*	Receptor que media la degradación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox) por las células endoteliales. Las reacciones inflamatorias resultantes dan lugar a la aterosclerosis. Induce la activación del factor de transcripción NF-kappa-B.
OSM *(Oncostatin-M)*	Inhibe la proliferación de diferentes líneas celulares tumorales. Estimula la producción de citoquinas como IL6, G-CSF (factor estimulante de granulocitos) y GM-CSF (factor estimulante de macrófagos y granulocitos) y modula la respuesta inflamatoria. Contribuye a la inflamación del tejido adiposo en condiciones de obesidad.
PER3 *(Period circadian protein homolog 3)*	Relacionada con el reloj circadiano. El metabolismo, el sueño, la temperatura corporal, la presión arterial, las funciones endocrinas, inmunitarias y cardiovasculares son funciones fisiológicas que cumplen un ritmo circadiano.
PYY *(Peptide YY (3-36))*	Proteína miembro de la familia del neuropéptido Y (NPY). Regula la secreción pancreática, la movilidad intestinal y la homeostasis energética. Variaciones raras en el gen que codifica para esta proteína podrían aumentar la susceptibilidad a la obesidad.
TGF-β1 *(Transforming growth factor beta-1 proprotein)*	Proteína multifuncional que regula el crecimiento y la diferenciación celular. Efecto inmunosupresor, inhibiendo la actividad de las células T y la producción de citoquinas proinflamatorias.
TLR1 *(Toll-like receptor 1)*	Participa en la respuesta inmune frente a lipoproteínas o lipopéptidos bacterianos. Inicia la respuesta inflamatoria activando el factor de transcripción NF-kappa-B.
TNF-α *(Tumoral Necrosis Factor alpha)*	Citoquina proinflamatoria secretada por macrófagos. Regula la proliferación, diferenciación y apoptosis celulares, el metabolismo de lípidos y la coagulación. Relacionada con la resistencia a la insulina.
VEGFA *(Vascular endothelial growth factor A)*	Induce la proliferación de células endoteliales y la permeabilización de los vasos sanguíneos. En la obesidad, está implicada en la regulación de la angiogénesis y la inflamación en el tejido adiposo.

5 El tejido adiposo como órgano clave en la obesidad y enfermedades metabólicas

5.1 Metabolismo del tejido adiposo

En condiciones de homeostasis y balance energético positivo, los adipocitos deben ser capaces de amortiguar y almacenar el exceso de lípidos en una forma inerte conocida como gotas lipídicas para prevenir la lipotoxicidad. Estas gotas son reservas energéticas compuestas de lípidos neutros principalmente triacilgliceroles (TAG). La captación de los TG procedentes de la dieta es mediada por la lipoproteina lipasa, enzima unida al endotelio vascular que hidroliza los TG transportados por los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en el torrente sanguíneo. Los ácidos grasos libres (FFA) y el monoacilglicerol (MAG) resultantes de dicha hidrólisis se movilizan y se absorben para su utilización y almacenamiento celular. La absorción de los productos hidrolizados se lleva a cabo mediante difusión pasiva o mediante translocasa de ácidos grasos/CD36, caveolina-1, proteína de unión a ácidos grasos (FABP) o proteína transportadora de ácidos grasos. Finalmente, estos productos son metabolizados por la sintasa de acetil coenzima A y la acetiltransferasa para la síntesis final de TAG y gotas lipídicas (128) (Figura 8).

En condiciones de homeostasis y balance energético negativo, el papel del TA es crucial para la supervivencia ya que aporta los lípidos necesarios para el metabolismo energético, la síntesis de membranas lipídicas y el mantenimiento de funciones vitales en otros tejidos. En situaciones como el ejercicio, la exposición al frío o el ayuno se redistribuye la energía almacenada en los adipocitos gracias a la lipólisis, liberando los FFA de las reservas de TAG. La lipólisis se desencadena principalmente por estímulos simpáticos de los receptores β-adrenérgicos, iniciando la hidrólisis secuencial de los TAG de las gotas lipídicas a través de una vía dependiente de AMPc que activa la proteína-quinasa A, la perilipina A y la lipasa sensible a hormonas (128). La homeostasis energética depende no solo del equilibrio entre la captación y liberación de lípidos, sino también de la sensibilidad a las señales activadoras e inhibidoras mediadas por el sistema nervioso simpático y el sistema hormonal (Figura 8). Los FFA no esterificados (NEFFA) son entonces beta-oxidados en la mitocondria para la obtención de energía en tejidos periféricos como el músculo esquelético y el hígado.

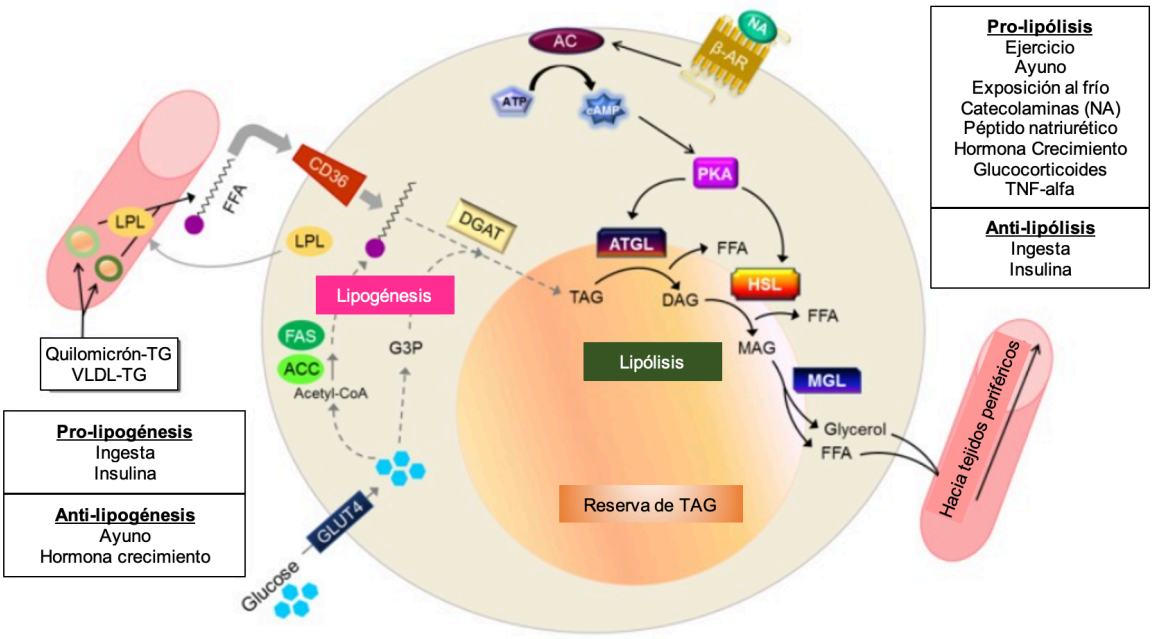


Figura 8. Equilibrio entre la lipogénesis y la lipólisis dentro de los adipocitos para mantener la sensibilidad a la insulina de todo el cuerpo y la homeostasis energética

La lipogénesis se muestra a la izquierda (flechas grises discontinuas). La lipólisis se muestra a la derecha (flechas negras). Se enumeran las señales nutricionales y hormonales que regulan ambos procesos. Adaptado de (129).

Abreviaturas. LPL: lipasa lipoproteica; ACC: acetil-CoA carboxilasa 1; FAS: sintasa de ácidos grasos; G3P: glicerol 3 fosfato; DGAT: diacilglicerol aciltransferasa; β-AR: receptor β-adrenérgico; NA: noradrenalina; AC: adenil ciclasa; PKA: proteína quinasa A; ATGL: adipo-triglicérido- lipasa; HSL: lipasa sensible a hormonas; MGL: lipasa monoacilglicerol.

Cuando los ácidos grasos actúan como mensajeros o lipokinas, la lipólisis puede determinar cómo los adipocitos se comunican con otros órganos, modulando la expresión génica y la función fisiológica de éstos. Cada especie lipídica desencadena vías de señalización específicas y difiere en sus propiedades, así como en su capacidad para interferir con la función celular. Así, las modificaciones del perfil lipidómico de los adipocitos en respuesta a estímulos externos fisiológicos como el ayuno desempeñan un papel fundamental en el metabolismo energético observado en esas condiciones (130).

En la obesidad, la capacidad de almacenamiento del TA se satura y el exceso de lípidos se sobre-cataboliza en el hígado y el músculo esquelético.

El aporte excesivo de NEFFA supera la capacidad de beta-oxidación de las mitocondrias provocando una acumulación anormal de radicales libres (especies reactivas de oxígeno) e intermediarios lipídicos como diacilgliceroles (DAG) y ceramidas en el citosol. Estas moléculas, a su vez, alteran las vías de señalización de la insulina y activan las vías de señalización inflamatoria, provocando así estrés en el retículo endoplásmico. Esta secuencia metabólica y la acumulación de intermediarios lipídicos es lo que conocemos como lipotoxicidad secundaria a la obesidad (4,117) (Figura 9).

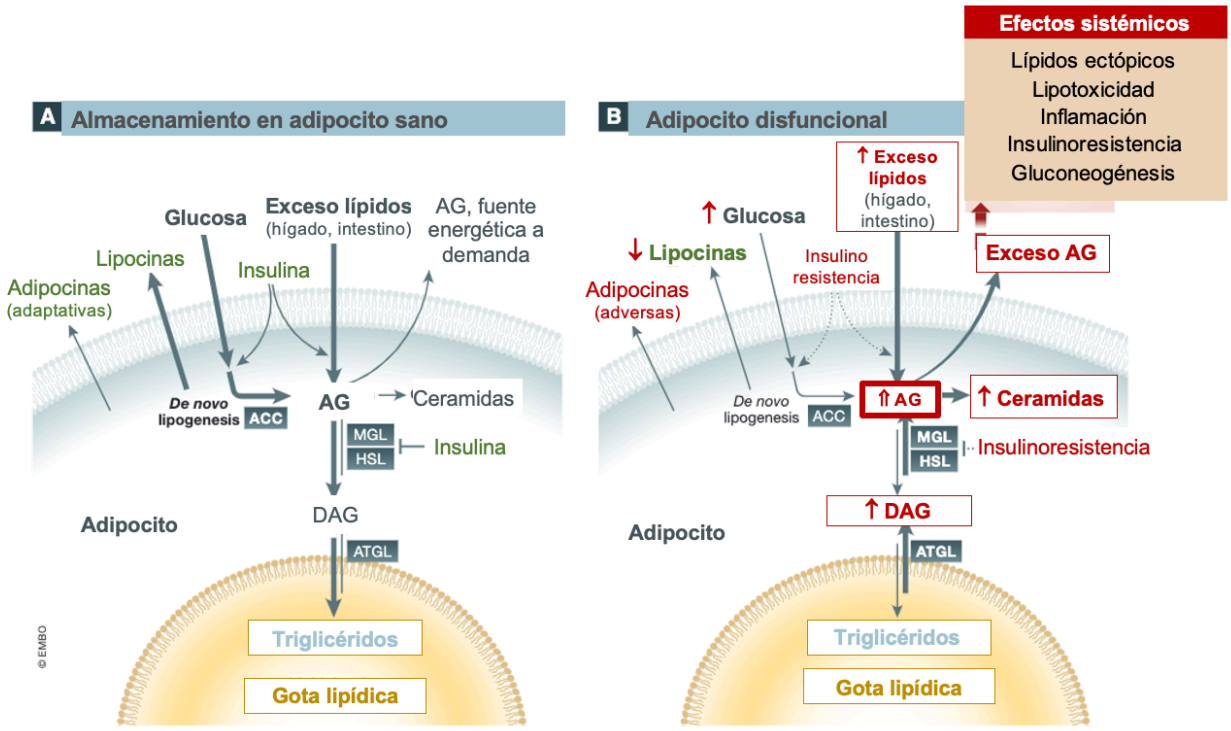


Figura 9. Almacenamiento y metabolismo en adipocitos sanos y disfuncionales

(A) Adipocito funcional. El exceso circulante de lípidos y glucosa se metaboliza y almacena en forma inerte de TG en la gota lipídica. Los ácidos grasos (AG) se movilizan por lipólisis según demanda. La insulina promueve la lipogénesis *de novo* y la captación/almacenamiento de lípidos circulantes. La secreción de adipocinas y lipocinas contribuye a la regulación metabólica sistémica. (B) Adipocito disfuncional por sobrecarga. El exceso de AG conlleva el acúmulo de DAG y ceramidas lipotóxicas en el citosol. La insulinoresistencia conlleva una reducción en la captación de glucosa y en la lipogénesis *de novo*. El adipocito secreta un perfil adverso de adipocinas y lipocinas que contribuye a la disfunción metabólica sistémica. Adaptado de (131).
Abreviaturas. MGL: monoglicérido- lipasa; HSL: lipasa sensible a hormonas; ATGL: adipo-triglicérido lipasa; ACC: carboxilasa de acetil-CoA.

5.2 Principales tipos de tejido adiposo: blanco, marrón, beige y rosa. Diferencias lipidómicas y metabólicas

Los adipocitos blancos, las células principales que componen el TA blanco (TAB), son células de grasa no termogénicas y de almacenamiento de energía. Contienen una gota lipídica unilocular que ocupa > 95% del volumen celular (Figura 10). El TAB se encuentra distribuido por todo el cuerpo humano en dos depósitos principales. El depósito subcutáneo se concentra principalmente en las zonas abdominal y glúteo-femoral. Actúa como barrera contra infecciones dérmicas, aislante para prevenir la pérdida de calor y amortiguador para proteger contra el estrés mecánico externo. El depósito visceral se encuentra en el omento mayor y el mesenterio, rodeando los órganos de la cavidad peritoneal (128).

Los adipocitos marrones son el tipo principal de células que constituyen el tejido adiposo marrón (TAM), el órgano clave responsable de mantener la temperatura corporal. Se encuentran principalmente en recién nacidos, alrededor de las escápulas, y también en la edad adulta, en las regiones cervical, supraclavicular y mediastínica (132,133). Estos adipocitos están especializados en utilizar y disipar la energía derivada de los lípidos y la glucosa para producir calor a través de la acción de la proteína desacoplante 1 (UCP-1) ubicada en la membrana interna de las mitocondrias. El color marrón es debido al alto contenido de mitocondrias y a la densa vascularización (128). Están compuestos por gotas lipídicas multiloculares dispersas en un citoplasma rico en mitocondrias (Figura 10).

Los adipocitos beige son células termogénicas inducibles por el frío que se encuentran agrupadas dentro de los depósitos de TAB y cumplen una función mixta de almacenamiento o gasto de energía al expresar más UCP-1 que el TAB. Se han identificado depósitos de TA metabólicamente activos con características similares a las del beige en adultos sanos en las regiones cervicales, supraclaviculares, axilares y paravertebrales (128).

Los adipocitos rosados fueron descritos por primera vez en ratones hembra en 2014. Aparecen durante el embarazo y persisten durante la lactancia. Son el fruto de la transdiferenciación reversible de adipocitos blancos y adoptan características similares a las células epiteliales para formar alvéolos

productores de leche. Se caracterizan por presentar gotas de lípidos compartimentadas y abundantes orgánulos con una estructura más típica de las células epiteliales (Figura 10). Todavía no hay evidencia concluyente de la existencia de adipocitos rosados en humanos (134).

Cada uno de los tipos de adipocitos tiene un lipidoma diferente, reflejo de su diferente composición de orgánulos y función celular. Los adipocitos termogénicos (marrón y beige) poseen mayores contenidos de fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilcolina (PC), con cadenas carbonadas más largas (C > 36) y más poliinsaturadas. Asimismo, tienen mayor abundancia de cardiolipina y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de cadena más larga, reflejo de su actividad termogénica. Sin embargo, en el TAB abundan los DAG y los TAG, reflejo de su capacidad de almacenamiento de lípidos neutros. De hecho, la forma en que los adipocitos termogénicos (marrón y beige) y los adipocitos blancos adaptan sus perfiles lipídicos en respuesta a estímulos adrenérgicos también difiere sustancialmente. La estimulación β-adrenérgica de los adipocitos marrones conlleva una mayor biosíntesis de lisofosfatidilcolina (LPC) saturada, como LPC16:0 (130).

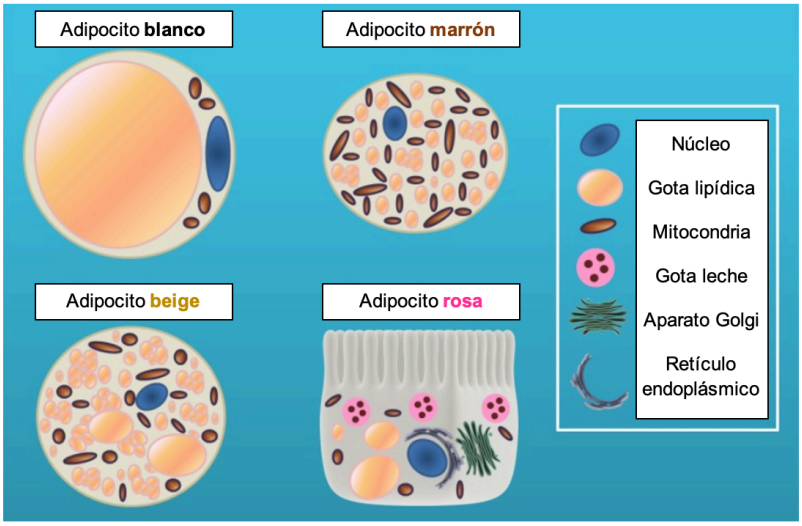


Figura 10. Tipos de adipocitos y su estructura

La característica principal de un adipocito es su capacidad para almacenar lípidos; todos ellos comparten esta propiedad. Sin embargo, cada subtipo tiene una distribución intracelular distinta de orgánulos y perfil de expresión génica acorde con su superespecialidad. Todas las células grasas tienen aparato de Golgi y retículo endoplásmico, pero estos orgánulos constituyen una parte más significativa de los adipocitos rosados que de otros tipos de adipocitos. Adaptado de (129).

5.3 Fisiopatología de la obesidad

5.3.1 Secretoma

El adipocito, en respuesta al aumento de adiposidad corporal modula su capacidad secretora o secretoma.

1. Induce la síntesis y liberación de:
    a. Angiotensinógeno: responsable de la hipertensión arterial.
    b. TNF- alfa (TNF-α): mediador proinflamatorio principal. Sintetizado principalmente en el TA de la cintura y de la cadera. Sus efectos son:
        i. Inductor de la síntesis de Factor de *Von Willebrand (*FVW*)*, *Plasminogen Activator Inhibitor-1 (*PAI-1) y TGF-β (77). Predisponen a fenómenos tromboembólicos.
        ii. Inductor principal de resistencia insulínica.
        iii. Inductor de la síntesis de IL6: responsable de la dislipemia e inductor de la síntesis hepática de proteínas de fase aguda como la Proteína C Reactiva (PCR), el Amiloide sérico A (responsable del descenso del nivel de HDL-c y de la aterosclerosis) y el Fibrinógeno (factor protrombótico).
    c. Leptina: hormona de la saciedad. Indicadora de masa adipocitaria. Se encuentra elevada en los adolescentes con obesidad debido al exceso de adiposidad y a la resistencia de los receptores de leptina (6,135).
2. Reduce la síntesis y liberación de:
    a. Adiponectina: citoquina antiinflamatoria. Hormona que aumenta la sensibilidad de los tejidos a la insulina. Sus niveles son bajos en los adolescentes con obesidad (6,135).

Todos estos cambios conllevan en su conjunto a un estado proinflamatorio persistente crónico responsable de las alteraciones metabólicas que conocemos como síndrome metabólico y de los factores de riesgo cardiovascular. Estos cambios se pueden revertir con la reducción ponderal y de adiposidad (1).

5.3.2 Expansión, inflamación y remodelación

En condiciones de obesidad, los depósitos de TAB experimentan una expansión anormal y excesiva, ya sea por un aumento en el número de adipocitos (hiperplasia) o en su tamaño (hipertrofia). Estos cambios conllevan la liberación de citocinas proinflamatorias como la MCP-1 (Proteína 1 quimioatrayente de monocitos), el TNF-α, la IL6 y la proteína de unión a ácidos grasos de adipocitos (A-FABP) e inhiben la secreción de citocinas antiinflamatorias como la adiponectina. Los altos niveles circulantes de MCP-1 provocan la infiltración de macrófagos en el TAB agravando la respuesta inflamatoria de bajo grado. TNF-α e IL6 modulan el TAB que pasa de almacenar a liberar NEFFA a la circulación, causando el depósito ectópico de lípidos y lipotoxicidad en órganos metabólicos vitales, como el hígado y el músculo esquelético. Los altos niveles de NEFFA inducen resistencia a la insulina mediante la fosforilación del sustrato del receptor de insulina o la inhibición de la fosforilación de la proteína Akt estimulada por insulina (128). Si bien la fisiopatología del TAB en la obesidad está ampliamente descrita, su rol en la predisposición a enfermedades cardiometabólicas puede ser heterogéneo, dada la existencia de personas con obesidad que son "metabólicamente saludables" y otras "metabólicamente no saludables". Los pacientes con obesidad metabólicamente saludable tienen menor sobrecarga hepática de TG, menor síndrome inflamatorio, mayor sensibilidad a la insulina y menor predisposición a enfermedades metabólicas que los pacientes metabólicamente no saludables. El aumento en la expresión de genes involucrados en la captación de glucosa y la lipogénesis en los depósitos subcutáneos de los individuos metabólicamente saludables podría actuar como elemento protector, al desviar el exceso de lípidos de los tejidos metabólicamente importantes (128) (Figura 11).

Por otra parte, para que la expansión del TA se pueda llevar a cabo sin perder la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática del adipocito, se produce una remodelación lipidómica de éste. Esta remodelación consiste en aumentar el número de átomos de carbono y dobles enlaces (136). Así, la acumulación de PUFA es una señal de que los adipocitos pueden compensar los cambios morfológicos drásticos propios de la obesidad extrema. Sin embargo, el mantenimiento de la integridad de la membrana ocurre a expensas de dos fenómenos patológicos.

El primero es la acumulación de ceramidas y esfingolípidos complejos, responsables de la resistencia insulínica y la esteatosis hepática. Este efecto se ve retroalimentado además por la secreción de TNF-α por los adipocitos. El segundo es la acumulación de plasmalógenos de etanolamina que contienen ácido araquidónico y favorecen el entorno proinflamatorio (4,130).

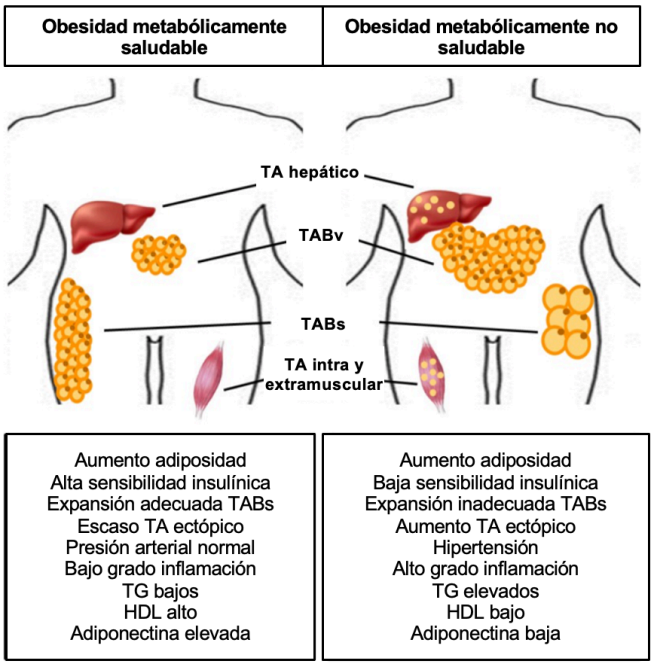


Figura 11. Factores clínicos y biológicos diferenciales entre la obesidad metabólicamente "saludable" y la obesidad metabólicamente "no saludable". TA: tejido adiposo; TABv: tejido adiposo blanco visceral, TABs: tejido adiposo blanco subcutáneo. Adaptado de (129).

Cabe destacar que la remodelación del TA también se produce en situaciones de balance energético negativo, como el frío (sobre todo en el TAM) y el ejercicio físico. En modelo experimental se han demostrado cambios altamente específicos en el lipidoma del TAB inducido por el ejercicio. Además de reducir la mayoría de los TG, también se reducen los niveles de algunas especies de fosfolípidos como el ácido fosfatídico (PA), las PC, las PE y las fosfatidilserinas (PS). Esta disminución en el contenido de fosfolípidos en el TA puede estar relacionada con la mejora en la resistencia insulínica secundaria al ejercicio (2).

5.4 Tejido adiposo blanco visceral vs. subcutáneo y su implicación metabólica

La ubicación anatómica puede explicar la heterogeneidad en la relevancia metabólica de cada depósito adiposo. El tejido adiposo visceral (TABv) drena al hígado por la vena porta hepática mientras que el tejido adiposo subcutáneo (TABs) drena por las venas cava inferior o superior. Mientras que los NEFFA y las citocinas proinflamatorias liberadas por los depósitos subcutáneos se diluyen en la circulación sistémica, aquellos liberados por los depósitos viscerales drenan directamente hacia el hígado, lo que explicaría que personas con acumulación anormal de depósitos viscerales sean particularmente propensas a desarrollar resistencia hepática a la insulina. Sin embargo, la contribución de los NEFFA por parte de los depósitos viscerales no es suficiente por sí sola para causar resistencia sistémica a la insulina, ya que sólo representa el 30% del total de los NEFFA y precisa indispensablemente de los efectos mediados por la IL6 para el desarrollo de la resistencia insulínica. Se han encontrado diferencias en la expresión de genes relacionados con el desarrollo y el patrón entre depósitos de TABs y TABv que no sólo respaldan que son intrínsecamente diferentes, sino que su implicación en la obesidad es diferente. Curiosamente, la expresión de genes de desarrollo también difiere entre los depósitos subcutáneos en la región abdominal y glútea tanto en adultos normopeso como con obesidad, aunque se desconoce su regulación (128).

Los preadipocitos en la fracción vascular estromal del TAB son las principales células progenitoras de nuevos adipocitos. Los preadipocitos clonales de depósitos subcutáneos tienen mayor capacidad proliferativa, y tienden a la hiperplasia mientras que los preadipocitos clonales de depósitos viscerales tienen menor capacidad proliferativa y tienden más a la hipertrofia. La hipertrofia de los adipocitos, que no la hiperplasia, se ha asociado con un mayor riesgo cardiometabólico lo que explicaría el peor perfil metabólico del TABv (128).

La heterogeneidad en los depósitos de TAB viene también condicionada por el género. En cuanto al TABs, el género masculino almacena lípidos preferentemente en el compartimento abdominal mientras que el género femenino en el femoral, lo que explica la predisposición androide (central, masculina) y ginecoide (periférica, femenina) de la distribución del TA. Asimismo, las mujeres expresan más lipoproteina-lipasa en el tejido subcutáneo que en el

visceral, almacenan predominantemente en el TABs y tienen mejor perfil metabólico (128).

En condiciones de obesidad, se produce un cambio en el patrón de almacenamiento a favor del TABs, al aumentar la expresión de lipoproteina-lipasa mediada por insulina en el tejido subcutáneo. Asimismo, la lipólisis se encuentra amplificada en el TABv. Estos cambios parecen ser más acusados en la obesidad central que en la periférica. Se han observado diferencias en el perfil lipidómico de cada depósito en cuanto a los niveles de glicerofosfolípidos, el grado de saturación de las cadenas lipídicas y la acumulación de oxisteroles, que probablemente reflejan la capacidad diferencial en adipogénesis, lipólisis y respuesta al estrés del retículo endoplásmico de cada depósito. Estas diferencias son menos evidentes en individuos normopeso, lo que sugiere una respuesta lipidómica específica del depósito a la acumulación excesiva de TAB (128).

La respuesta inflamatoria es también heterogénea entre depósitos. Los depósitos de TABv muestran un perfil más proinflamatorio con mayor infiltración de macrófagos y mayor capacidad secretora de citocinas proinflamatorias. Aunque ambos depósitos secretan citocinas proinflamatorias, el TABv libera predominantemente IL6, TNF-α, IL8, PCR, complemento C3, factor inhibidor de la migración de macrófagos y receptor de quimiocina CC 2 mientras que el TABs se caracteriza por, en condiciones de obesidad, producir menos citocinas antiinflamatorias como la adiponectina (128).

6 Últimos avances de la lipidómica en el estudio de la obesidad pediátrica

Se han identificado recientemente biomarcadores nutricionales que permiten predecir el metabolismo infantil, la programación metabólica y el pronóstico de salud a largo plazo. Tanto condiciones prenatales (hiperglucemia materna, restricción de crecimiento intrauterino) como el tipo de lactancia (materna, artificial o mixta) condicionan el metabolismo de fosfolípidos a corto plazo en la primera etapa de la vida (137). De hecho, algunos lípidos específicos tienen abundancias diferenciales según tipo de lactancia, como la esfingomielina SM 39:1 en lactancia artificial y SM 36:2 en lactancia materna. Por lo tanto, el lipidoma circulante en lactantes permite discriminar el tipo de lactancia y la

proporción de lactancia artificial recibidas, así como analizar el impacto de cada tipo de lactancia en el metabolismo precoz de los niños (138). Entre otros, la lipidómica en leche materna y suero infantil ha permitido correlacionar la composición de ácidos grasos con cadena C17 y proteínas en la leche materna con los niveles de LPC 14:0 en suero de lactantes. Dado que el nivel sérico de LPC 14:0 a los 6 meses de vida se correlaciona con la ganancia ponderal acelerada en los primeros 6 meses y el riesgo de sobrepeso/obesidad a los 6 años de vida, se ha propuesto la LPC 14:0 como marcador de la programación metabólica que asocia la ingesta proteica precoz con el riesgo de obesidad infantil (139). La lactancia materna no sólo condiciona el metabolismo lipídico en los primeros meses de vida, sino que, a través de los alquilgliceroles, mantiene el TABe en los lactantes y evita la transdiferenciación del TABe en TAB, ejerciendo un efecto protector contra la obesidad precoz y tardía (140). Por otra parte, la obesidad materna produce cambios duraderos en los niveles plasmáticos de las ceramidas d18:1/20:0, d18:1/22:0, d18:1/23:0 y d18:1/24:0 en su descendencia, planteando el uso de estos lípidos como predictores tempranos del riesgo de enfermedad metabólica secundario a la obesidad materna (141).

6.1 Estudios lipidómicos en suero, orina, saliva

Los niños tienen una característica única y fundamental a la hora de entender el desarrollo de la obesidad y la adaptación metabólica que ésta representa: son personas en crecimiento y desarrollo. Es concretamente la plasticidad tisular la que explica que la expansión del TA responda más a una hiperplasia que a una hipertrofia, dada la mayor tasa de reclutamiento de preadipocitos. Esto resulta en un perfil circulante de adipocinas diferente al observado en adultos con obesidad y un patrón diferente de la sensibilidad a la insulina con una hiperinsulinemia precoz y un deterioro tardío de la glucosa en ayunas (142).

Los estudios lipidómicos más recientes en población pediátrica con obesidad, obtenidos de diferentes de muestras biológicas -sangre, saliva, orina- destacan a los ácidos grasos, los glicerolípidos y los esfingolípidos como los metabolitos más relevantes en la patogenia de la obesidad, mediante procesos de inflamación de bajo grado, alteración de la membrana celular y alteración de la beta-oxidación.

La inflamación de bajo grado se refleja en múltiples procesos. Por una parte, el estrés oxidativo y la competición enzimática conllevan alteraciones en el metabolismo de los PUFA a favor de la síntesis de mediadores proinflamatorios. El estudio lipidómico de la membrana de los eritrocitos de niños con obesidad ha confirmado el perfil proinflamatorio de su composición de membrana, donde predominan los PUFA omega 6 (principalmente ácido araquidónico) y los ácidos grasos saturados (143). Por otra parte, cambios en la actividad de la lecitin-colesterol aciltransferasa (LCAT) potencian también el contexto proinflamatorio mediante el aumento en los niveles de algunas especies de LPC (mediadoras inflamatorias y de resistencia insulínica) y el descenso de HDL-c (144).

La resistencia a la insulina en contexto de obesidad pediátrica ocurre mediante diversos mecanismos. Así, la respuesta a la insulina precisa no sólo de la integridad de sus vías de señalización sino también de una correcta dinámica celular de las membranas plasmáticas en sus tejidos diana. Por ejemplo, los procesos oxidativos impiden la acción insulínica al disminuir la fluidez de la membrana celular del páncreas y del TA, mientras que los PUFA contribuyen a restaurar la capacidad de respuesta de estas membranas. La fluidez de membrana depende también de su composición lipídica. La predominancia de colesterol, esfingolípidos y glicerofosfolípidos formados de ácidos grasos saturados en la membrana plasmática conlleva un fenómeno de agrupación o empaquetado ajustado (*lipid raft* o balsa lipídica) de estos lípidos que aumenta la rigidez de membrana. La formación de estos *lipid raft* explica también que, en contexto de obesidad pediátrica, disminuyan los niveles circulantes de esfingomielinas saturadas -tipo SM 16:0- y de fosfatidilinositol (PI) al incorporarse a estos agregados. De hecho, niveles bajos de SM 16:0 y niveles altos de ceramida C16:0 son considerados marcadores de resistencia insulínica y deterioro de la beta oxidación mitocondrial de ácidos grasos en niños con obesidad (144).

Por otra parte, se ha descrito una alteración en la morfología y la función mitocondrial en los pacientes con obesidad secundaria a la resistencia a la insulina, aunque la disminución de la oxidación mitocondrial en tejidos periféricos ocurre incluso antes de que se establezca la resistencia insulínica. La disfunción mitocondrial conlleva la acumulación de diferentes sustratos energéticos y sus

derivados, como las acilcarnitinas, consideradas biomarcadores de resistencia insulínica (144,145).

Diversos estudios han investigado el lipidoma circulante de niños con obesidad con el objetivo de caracterizar el perfil lipidómico específico a la obesidad infantil (15,145–147) o incluso descifrar biomarcadores más específicos a algunos aspectos de la obesidad. Por ejemplo, se han descrito cambios específicos en especies de PI, PS, PE, SM y PC comunes a niños con obesidad o sobrepeso (14). También, se han identificado potenciales biomarcadores de aumento precoz de adiposidad (IMC y masa grasa corporal), principalmente ésteres de colesterol y PC, metabolizados por las enzimas estearoil-CoA desaturasa 1 (SCD1) y desaturasas de ácidos grasos FADS 1 y FAD2, y cuyos niveles plasmáticos aumentan como respuesta a la obesidad (148). Algunos estudios han propuesto SM d39:0 y SM d41:0, algunas especies de lisofosfatidiletanolamina (LPE) y alquildiacilglicerol como biomarcadores de esteatosis hepática en población infantil (146). Por otra parte, se han propuesto algunas especies de glicerofosfocolinas, como PC 18:2/0:0, PC 16:0/2:0 o PC 14:1/0:0 como biomarcadores de riesgo cardiovascular (149). También se han identificado adipocinas nuevas potencialmente involucradas en la obesidad precoz como la omentina-1 (150).

6.2 Estudios lipidómicos en tejido adiposo blanco subcutáneo y/o visceral

La mayor parte de la literatura referente al uso de la lipidómica en la caracterización de la obesidad pediátrica estudia muestras no invasivas, como el suero, la saliva y la orina. Los escasos trabajos publicados procedentes de TA se centran en la transcriptómica y los cambios en la expresión génica. Concretamente, el análisis transcriptómico de TABs en niños con obesidad ha demostrado la desregulación de la expresión génica de transcritos codificantes involucrados en el metabolismo de lípidos y de transcritos no codificantes (151), así como la sobreexpresión de genes involucrados en la neuroinflamación (152). Por otra parte, el análisis transcriptómico de TABv de niños con obesidad y diferentes grados de MASLD ha señalado la disfunción mitocondrial, la supresión de la señalización celular y la respuesta inflamatoria como mecanismos patogénicos involucrados en la progresión de la MASLD (153).

7 Últimos avances de la proteómica en el estudio de la obesidad pediátrica

En los últimos años, la bibliografía sobre el uso de la proteómica en el estudio de la obesidad infantil se ha expandido considerablemente. La investigación abarca una amplia variedad de problemáticas como la fisiopatología, las comorbilidades, la búsqueda de biomarcadores o la respuesta a la pérdida de peso.

De la misma manera que las adipocinas, las vesículas extracelulares son mensajeros mediante los cuáles las células y los órganos establecen comunicaciones cruzadas para mantener la homeostasis. Los niños con obesidad presentan una alteración cuantitativa y cualitativa de las vesículas extracelulares condicionada por el síndrome metabólico y modulable por el ejercicio y la dieta. Las más de 70 proteínas detectadas están vinculadas al transporte intracelular y plegamiento de proteínas, la respuesta al estrés, la activación de leucocitos, la respuesta inmune innata y la degranulación plaquetaria (154).

Por otra parte, los niños con obesidad y MASLD presentan un proteoma circulante diferente a los niños normopeso. Algunas de las proteínas significativamente alteradas como la afamina, la proteína de unión al retinol-4, los componentes del complemento y la hemopexina se relacionan con la respuesta inflamatoria (155). La proteína de estrés Hsp90 (*Heat shock protein*) involucrada en la supervivencia celular, la transducción de señales y la respuesta celular frente al estrés ha demostrado ser un biomarcador útil en el diagnóstico de MASLD en niños con obesidad. Concretamente, los niveles de la isoforma Hsp90 beta o el cociente Hsp alfa/Hsp beta tendrían una mayor capacidad discriminativa que los niveles de Hsp total (156).

Asimismo, mediante el análisis del proteoma circulante se ha detectado una asociación significativa entre los niveles de adiponectina y fetuina B, el déficit de vitamina D y la obesidad; asociación demostrada posteriormente en modelos experimentales (157,158).

The ActiveBrains project se creó con el objetivo de estudiar la salud cerebral en niños con obesidad. Los niños con obesidad deportistas presentan un perfil de marcadores cerebrales y cardiovasculares diferente a los niños con obesidad

sedentarios. Las proteínas identificadas se relacionan con la respuesta inmune/inflamatoria, la neurogénesis, la transducción de señales y los procesos metabólicos celulares (159). Además, la fuerza muscular se asocia a diez proteínas circulantes vinculadas con la respuesta antiinflamatoria, el metabolismo de lípidos, la eliminación de beta amiloide y la propagación del potencial de acción neuronal (160). Los niños con obesidad metabólicamente saludable tienen concentraciones distintas de CD38, LAIR2, MANF y NRP2 comparado con los niños con obesidad metabólicamente no saludable. A su vez, el síndrome metabólico en estos niños se correlaciona con nueve proteínas implicadas en la angiogénesis, el transporte de colesterol y el mantenimiento de la barrera hematoencefálica (161).

Al igual que en las otras ciencias ómicas, la proteómica ha permitido analizar la influencia de factores maternos en el desarrollo de obesidad precoz en la infancia. El análisis cuantitativo de citoquinas de inmunidad innata y adaptativa en el suero de más de 400 gestantes ha demostrado que niveles maternos aumentados de IL4 e IL13 asocian un menor riesgo de sobrepeso en su descendencia en los dos primeros años (162). También se ha estudiado el proteoma de la sangre venosa de cordón umbilical, observando diferencias significativas en el perfil de proteínas entre gestantes con y sin diabetes gestacional cuya descendencia tenía obesidad con 6-7 años. Las proteínas diferenciales están vinculadas al metabolismo de lípidos (163).

El análisis proteómico circulante de más de 900 adolescentes chinos con obesidad ha confirmado la asociación entre la galectina-3BP, la obesidad y el síndrome metabólico, proponiendo dicha proteína como biomarcador diagnóstico de síndrome metabólico (164).

Los niños prepuberales con obesidad y sobrepeso presentan alteraciones significativas en la expresión de apolipoproteínas en el plasma en comparación con niños normopeso. De hecho, los bajos niveles de apolipoproteína ApoA-I en suero podrían estar presentes en la infancia antes de que se documenten alteraciones significativas en las concentraciones de colesterol total o de HDL-c (165).

También se ha reportado la respuesta proteómica a la pérdida de peso 6 meses después de cirugía bariátrica en adolescentes, describiendo un descenso de las

proteínas PEDF, RBP4 y CLU y un aumento de PON1. Estos cambios podrían estar relacionados con la disminución de la adiposidad, la mejoría de la resistencia insulínica así como el aumento de HDL-c y de la actividad antioxidante (166).

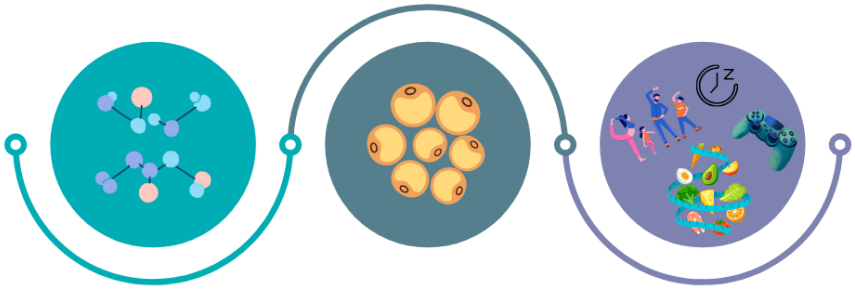
8 Justificación de este proyecto de investigación

Una vez resumida la evidencia actual entorno a los mecanismos causales y/o responsables de la progresión de la obesidad infantil y sus consecuencias metabólicas, destaca la ausencia de estudios que integren las diferentes ciencias ómicas y el contexto socioeconómico (exposoma, nutrioma) de la obesidad infantil y permitan identificar biomarcadores pronósticos, diagnósticos y/o terapéuticos aplicables en la práctica clínica. Gran parte de la literatura se centra en una única ciencia ómica de una muestra no invasiva (suero, orina, saliva), raramente de TABs, de menor relevancia o traducción metabólica que el TABv.

Por todo ello, proponemos un estudio novedoso en cuanto a la metodología y al análisis de resultados.

De manera preliminar, hemos recolectado sueros de pacientes adultos y niños con obesidad. Posteriormente, hemos recogido muestras de suero y TA (TABs y TABv) en niños, de manera que cada paciente hace de su propio control al comparar los depósitos. Combinamos el análisis lipidómico y proteómico de estas muestras para entender las alteraciones en la señalización celular de manera más integral. Finalmente, analizamos la influencia o el valor del contexto socioeconómico del paciente en los hallazgos ómicos previos.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



HIPÓTESIS

1. Las especies lipídicas circulantes que experimentan la misma evolución después de una intervención de control de peso en niños y adultos con obesidad podrían relacionarse con la obesidad precoz y el desarrollo de lipotoxicidad.

2. El perfil lipidómico del tejido adiposo de niños con obesidad será diferente al de los controles normopeso y ayudará a identificar especies lipídicas involucradas en la lipotoxicidad y la alteración metabólica secundaria a la obesidad.

3. Los niveles circulantes de proteínas claves en el metabolismo en niños con obesidad serán diferentes a los de los controles normopeso, mostrando nuevas claves en la alteración de las vías metabólicas e inflamatorias secundarias a la obesidad.

4. La adopción de hábitos saludables durante 6 meses modulará el perfil circulante de proteínas clave en el metabolismo y la inflamación en niños con obesidad.

5. Existirá una asociación significativa entre el estilo de vida y el perfil clínico y molecular de los niños con obesidad.

OBJETIVOS

1. Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso (ver el artículo Soria-Gondek et al. 2023).

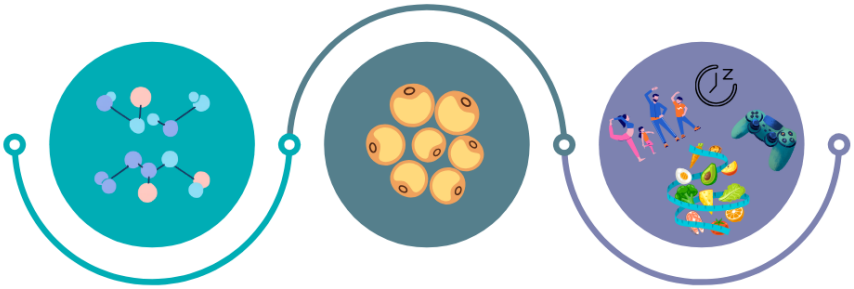
2. Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar.

3. Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar.

4. Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso.

5. Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos.

MATERIAL Y MÉTODOS



MATERIAL Y MÉTODOS

1 Objetivo 1: Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso

1.1 Pacientes

1.1.1 Cohorte pediátrica

Los pacientes con un IMC superior a 2 ds según curvas de referencia (22) fueron propuestos para el estudio. El protocolo consistía en recibir recomendaciones protocolizadas sobre dieta, ejercicio y estilo de vida (ver documento I) y realizar visitas de seguimiento mensuales durante 6 meses para monitorizar los cambios en los hábitos de vida y trabajar en el refuerzo positivo. Durante las visitas, la endocrinóloga y la nutricionista pediátricas realizaban una entrevista estandarizada sobre la ingesta dietética y la actividad física y recogían los datos clínicos y antropométricos (tabla 7). Además, se extraían dos muestras de sangre al inicio (0M) y al final (6M) del seguimiento. Para participar en el estudio, tanto los pacientes como sus padres/tutores debían dar su consentimiento para la totalidad del protocolo. Se reclutaron diez pacientes pediátricos (7 chicos y 3 chicas de entre 10 y 18 años) con obesidad, de los cuáles el 90% había alcanzado la pubertad.

1.1.2 Cohorte adulta

Se reclutaron treinta pacientes adultos (9 hombres y 21 mujeres de entre 18 y 65 años) con obesidad intervenidos de cirugía metabólica bariátrica mediante las técnicas de gastrectomía vertical (*Sleeve)* o bypass gástrico en Y de Roux. Se recogieron los datos clínicos y antropométricos (tabla 12) y muestras de sangre antes (0M) y 6 meses después (6M) de la intervención quirúrgica.

1.1.3 Consideraciones éticas

El Comité de Ética del centro (CEIC Germans Trias i Pujol), de acuerdo con la Declaración de Helsinki, aprobó el estudio (códigos PI17/01455 y PI20/00807). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito antes de la recolección de datos clínicos y muestras.

1.2 Muestra

Las muestras de suero se obtuvieron tras un período de ayuno de 12 horas. Las muestras 0M y 6M de la cohorte pediátrica y 6M de la cohorte adulta se tomaron en la consulta. Las muestras 0M de la cohorte adulta se tomaron en el quirófano el día de la intervención.

1.3 Pruebas

1.3.1 Bioquímica

En el laboratorio clínico del Hospital Germans Trias i Pujol se realizaron las siguientes medidas estándar: insulina, glucosa, HOMA-IR (modelo de evaluación de la resistencia a la insulina), hemoglobina glucosilada (HbA1c), urea, creatinina, AST (aspartato aminotransferasa), ALT (alanina aminotransferasa), GGT (gamma-glutamil transpeptidasa), TG, colesterol, HDL-c, LDL-c, proteína total, adiponectina, leptina, TNF-α, MCP-1, IL6, e IL8. El índice de hígado graso (FLI, *fatty liver index*) es una herramienta para estimar la presencia de MASLD en los pacientes. Un FLI por encima de 60 sugiere un riesgo elevado de MASLD y por debajo de 30 un riesgo bajo. El FLI se calculó con la siguiente fórmula (CC: circunferencia de la cintura):

$$FLI = \frac{exp(0.953 \times ln(TG) + 0.139 \times IMC + 0.718 \times ln(GGT) + 0.053 \times CC - 15.745)}{1 + exp(0.953 \times ln(TG) + 0.139 \times IMC + 0.718 \times ln(GGT) + 0.053 \times CC - 15.745)} \times 100$$

El HOMA-IR se calculó según la fórmula:

$$HOMA - IR = Insulina\ en\ ayunas\ (mUI/L) \times Glucosa\ en\ ayunas\ (mg/dL)/405$$

1.3.2 Lipidómica

1.3.2.1 Extracción de lípidos

Las fracciones de fosfolípidos, triglicéridos y esteroles se aislaron juntas mediante el siguiente método. Se colocaron las muestras de sangre seca, junto con muestras en blanco y de control de calidad (QCs) en una placa de vidrio de 96 pocillos, 2,4 mL/pocillo (Plate+™, Esslab, Hadleigh, UK). Se añadió agua (100 µL, MilliQ) a cada pocillo, seguida de metanol (250 µL, grado HPLC, con una mezcla de 0,6 µM de 1,2-di-O-octadecyl-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2 µM de 1,2-di-O-fitanil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 0,6 µM de C8-ceramida, 0,6 µM de n-heptadecanoil-D-eritroesfingosilfosforilcolina, 6,2 µM de ácido undecanoico y 0,6 µM de trilaurina), seguida de éter metil-terc-butilo (TMBE, 500 µL). Las placas se

sellaron (con cinta de sellado de microplacas de aluminio), se agitaron (10 min, 600 rpm) y se centrifugaron durante 10 minutos a 3200 g. Se utilizó un microdispensador de 96 cabezas para transferir 200 µL de la solución orgánica a una placa de vidrio de 96 pocillos, 240 µL (Plate+™, Esslab, Hadleigh, UK). La placa se transfirió a un evaporador Genevac EZ-2 (Genevac Ltd., Ipswich, UK) y se secó. Las muestras se reconstituyeron (TBME, 25 µL y una mezcla para MS [7,5 mM de acetato de amonio en IPA:CH3OH (2:1)], 90 µL) usando una Hydra Matrix, después de lo cual la placa se selló y se almacenó a -20°C.

1.3.2.2 Espectrometría de masas

Todas las muestras se introdujeron en el espectrómetro de masas Exactive Orbitrap (Thermo, Hemel Hampstead, UK), utilizando el sistema de nano-aspersión Triversa Nanomate (Advion, Ithaca, NY, EE. UU.) y una resolución de masa de 100,000. Las muestras se ionizaron a 1,2 kV. El Exactive comenzó a adquirir datos a los 20 segundos de comenzar la aspiración de la muestra. Las señales de fosfolípidos y triglicéridos obtenidas fueron de abundancia relativa ("semi-cuantitativa"), con la intensidad de la señal de cada lípido expresada en relación con la intensidad total de la señal de lípidos, para cada individuo, en porcentaje (%). Los datos de espectrometría de masas en alta resolución fueron procesados utilizando los paquetes de software XCMS (www.bioconductor.org) y Peakpicker v 2.0 (un script de R interno). El control de calidad se basó en un enfoque previamente publicado. Las señales de lípidos que no eran detectables de manera confiable o que no mostraban una respuesta lineal fueron eliminadas. Las señales de lípidos que estaban presentes en menos del 80% de todas las muestras de QC o que tenían una mala correlación con la concentración dentro del rango de dilución de las muestras de QC (correlación de Pearson $r < 0,95$) también fueron eliminadas. Luego se determinó el coeficiente de variación (CV) para cada señal de lípido, y se omitieron todos los lípidos con CV superiores al 25%.

1.4 Métodos estadísticos

1.4.1.1 Análisis descriptivo

En cuanto al análisis de datos clínicos de ambas cohortes, la normalidad de los datos para cada subconjunto se evaluó con las pruebas de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. La presencia de valores atípicos se evaluó para todas las variables, puntos de tiempo, grupos de edad y diferencias utilizando el método ROUT. Se utilizaron pruebas *t* de Student pareadas (variables paramétricas) o pruebas de rango con signo de Wilcoxon (variables no paramétricas) para la comparación de datos pareados. Se estableció un p-valor < 0,05 como el umbral de significación estadística. Para las variables categóricas, se calcularon frecuencias (total y porcentaje) y el intervalo de confianza exacto del 95%, y la significación estadística se evaluó con la prueba de Chi-cuadrado. Para las variables continuas, se calcularon la media y la desviación estándar. La correlación entre la edad o el sexo y las variables clínicas se evaluó utilizando la regresión lineal de Pearson (paramétrica) o de Spearman (no paramétrica).

1.4.1.2 Perfil lipidómico a tiempo 0 y 6 meses

El análisis estadístico se realizó utilizando el lenguaje estadístico "R" (versión 4.0.3 del 10 de octubre de 2020, The R Foundation for Statistical Computing ©, Viena, Austria) y las bibliotecas del Proyecto Bioconductor para el análisis de datos ómicos. Todos los valores se escalaron mediante una transformación logarítmica para normalizar la gran dispersión de las intensidades lipídicas. La selección de lípidos con concentraciones diferenciales se basó en un modelo lineal ajustado mediante la moderación de la varianza de Bayes. Para ajustar los efectos aleatorios asociados a la obtención de muestras de un mismo paciente, se calculó un factor de correlación entre sujetos y se incluyó en el modelo lineal. Dado que se realizaron simultáneamente muchas pruebas (una por cada lípido), se ajustaron los p-valores para controlar la tasa de falso descubrimiento (FDR, *False Discovery Rate*) utilizando el método de Benjamini y Hochberg. Los resultados de la lipidómica se ajustaron además por edad y sexo. Los nombres de los lípidos se convirtieron a una nomenclatura más simplificada y se agruparon por superclase, clase principal y subclase de acuerdo con los datos de la base de datos LipidLynxX. Las especies con p-valores ajustados <0,05 se

consideraron y se ordenaron por log2FC, donde los valores positivos se consideraron regulados al alza y los negativos regulados a la baja. Se construyeron tablas con los lípidos clasificados en orden decreciente de expresión, gráficos de volcán representando la relación entre el cambio de magnitud y el nivel de significancia, y heatmaps para presentar los perfiles de expresión de lípidos para cada comparación evaluada. Se contaron las especies de cada superclase, clase principal y subclase asignadas para cada cohorte y se graficaron como gráficos de columnas apiladas. También se exploraron las especies lipídicas coincidentes entre las dos cohortes.

1.4.1.3 Análisis de rutas metabólicas

Los datos crudos de lipidómica fueron convenientemente formateados y analizados con BioPan (www.lipidmaps.org/biopan). Las especies lipídicas fueron procesadas para análisis adicionales según las limitaciones de BioPan (aproximadamente 170 de ~650 especies fueron procesadas). Se generaron gráficos de conexión de vías metabólicas activadas y suprimidas para ambas cohortes. Se realizaron análisis estadísticos para datos emparejados, estableciendo $p < 0,05$ como el umbral (Zscore de BioPan > |1,645|). También se recuperaron datos de los genes potencialmente involucrados.

1.4.1.4 Correlación entre variables clínicas y lípidos diferencialmente regulados

Para estudiar la correlación entre las variables clínicas y los lípidos de interés se calculó el índice de correlación Rho de Spearman. Los lípidos se seleccionaron en base a dos criterios: p-valor ajustado < 0,01 y cambio de magnitud logarítmica absoluta > 3. Veintinueve lípidos cumplieron los requisitos y se eligieron para la comparación. Las variables clínicas incluidas fueron altura, peso, circunferencia de la cintura, IMC, insulina, glucosa, HOMA-IR, HbA1c, urea, creatinina, ALT, GGT, bilirrubina, TG, colesterol, HDL-c, LDL-c y proteína total. Se realizó un gráfico con los índices de correlación calculados en ambas cohortes. Se calcularon los p-valores ajustados por edad y sexo y las FDR para cada correlación, estableciendo $p < 0,05$ como umbral de significación estadística. Para evaluar posibles asociaciones entre los cambios lipidómicos y la reducción de IMC en la cohorte pediátrica, los pacientes se separaron en función de su

respuesta a la intervención conductual. Los pacientes con una reducción del peso > 0,5 kg y del IMC del 5% y/o una disminución del percentil de IMC se categorizaron como intervención exitosa. Se realizó una regresión logística multinomial ajustada por edad y sexo entre los niveles de las especies lipídicas modificadas por la intervención conductual y la reducción exitosa del IMC, estableciendo $p < 0,05$ como umbral de significación estadística.

Documento I. Protocolo de recomendaciones sobre dieta, ejercicio y estilo de vida

UNIDAD DE NUTRICIÓN INFANTIL. SERVICIO DE PEDIATRÍA

CONSEJOS GENERALES PARA EL TRATAMIENTO DEL EXCESO DE PESO

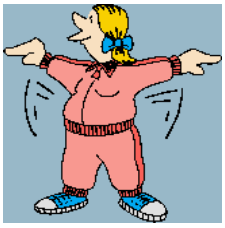
Se trata de crear unos hábitos alimentarios correctos que perduren, no es una dieta temporal si no un cambio de los hábitos y estilo de vida.

Es importante que coma tranquilo y relajado; a ser posible que no sea solo ni viendo la televisión.

Es mejor realizar 5 o 6 comidas al día, de menor tamaño, que 3 muy copiosas. Las 3 principales son: el desayuno, la comida y la cena. Se completan con una media mañana y una merienda. Así se evita llegar con mucho apetito a las otras comidas.

No saltarse ninguna comida y procurar seguir unos horarios regulares.

Sirva la comida en el plato y no deje la fuente en la mesa. Así evitará repetir.



Además de la dieta, se aconseja ejercicio físico, que puede ser desde caminar hasta alguna otra actividad, como la natación, tenis, fútbol, bicicleta... De 2 a 3 días a la semana, y si pueden ser más mejor!!!! Tenéis que encontrar la actividad a la que mejor se adapte y más se divierta.

Importante que esté activo, que no vea mucha TV, o que mientras la esté viendo, realice otras actividades como puzzles, manualidades, pintar, etc. Se recomienda que, entre ver la televisión, jugar con videojuegos y ordenador, no pase más de 2 horas diarias.

Sería aconsejable que toda la familia comiera lo mismo, que no se sintiera diferente a la hora de comer, porque no es necesario realizar una comida diferente al niño “porque está a dieta”, sino que todos en casa comáis lo más saludable posible.

Es muy importante que no se hagan platos distintos al niño, cuando la comida no le gusta. Hay que obligarle a comer lo que se hace en casa. Unos días le gustará más y otros le gustará menos.

Toda la familia (padres, madres, hermanos, abuelos, tíos...) tiene que colaborar en ayudar al niño en su nueva alimentación. Es una tarea difícil y larga.

CONSEJOS DIETÉTICOS PARA EL TRATAMIENTO DEL EXCESO DE PESO



¡¡Como es un niño en edad de crecimiento debe comer de todo!! Pero todo lo necesario para una correcta alimentación, es decir, evitar por ejemplo los dulces que no lo son.

Controlar la grasa, tanto la que contienen los alimentos, como la que se le añade (mantequilla, margarina, aceite, grasa de la carne o de los lácteos...).

Evitar dulces y bollería, y si se toma, mejor que sea casera o de pastelería (contiene mejores ingredientes que la comercial tipo *bollicao*), pero también con moderación y en ocasiones especiales. Así como todos los snacks, patatas fritas y aperitivos de bolsa.

Evitar las bebidas azucaradas: *Coca-Cola, Pepsi, Fanta, Sunny*, etc. Si le gustan, que los tome "light" y con moderación, tampoco conviene abusar mucho de ellos.



El agua debe ser la bebida principal. Tendría que tomar alrededor de 1.5L diario.

Los zumos naturales también se pueden tomar de forma ocasional, ya que son ricos en azúcares, mejor todavía tomar la fruta entera. Los zumos comerciales se deben evitar.

Se aconseja tomar 2-3 piezas de fruta al día, excepto coco y aguacate.

Los batidos de frutas: que sean de 1 fruta y 1 yogurt desnatado o 1 vaso de leche desnatada, mejor que de varias piezas de fruta.

También 2 raciones de verdura al día, cruda (ensaladas) o cocida; ya sea como de primer plato, guarnición o como ingrediente de otros platos.

Los lácteos son muy importantes. La leche y los yogures serán desnatados; y los quesos tiernos, frescos o bajos en grasa. Se aconseja tomar 3 raciones al día.



El pan, cereales y féculas deben estar presentes, a lo largo de todo el día. En comida y en cena tomará 1 rebanada de pan. Éste puede ser integral o blanco.

Los cereales de desayuno, que sean tipo *Corn Flakes*, que son también los más sencillos, y son los que llevan menos azúcares. O también integrales, como los

Special K o *Fitness*. Evitar los que están hechos con chocolate, miel, azúcar, rellenos...

Las galletas, mejor que sean de tipo María, que son las más sencillas.

Se aconseja comer más pescado que carne. Y más pescado blanco (merluza, gallo, lenguado, rape...) que pescado azul (salmón, atún, sardinas, jurel...). Este como máximo 3 veces por semana.

Las conservas de pescado (atún, sardinas, berberechos...) es mejor consumir las que vienen envasadas al natural, ya que no contienen aceite.

Elegir las carnes más magras: pollo, pavo, conejo y caballo. Son las que menos grasa tienen.

Las carnes semigrasas: lomo de cerdo y ternera. Dos veces por semana.

Evitar las carnes más grasas, que son: cordero, pato, resto de partes del cerdo. Una vez cada 15 días.

Los embutidos con menos grasa son: jamón dulce, jamón salado, jamón o pechuga de pavo o pollo y lomo curado. Se pueden utilizar para hacer el bocadillo de media mañana o de la merienda, tomando máximo 1 bocadillo al día.

No se aconseja tomar más de 2 o 3 huevos por semana.



Las cocciones serán principalmente: plancha, horno, vapor, hervido, papillote, microondas... Y máximo 2 veces por semana las frituras, guisos y rebozados, que llevan más cantidad de grasa.

El aceite será preferiblemente de oliva, para cocinar y aliñar, pero con moderación. También se puede utilizar el de girasol o maíz. Evitar el aceite de los bocadillos y del pan en general.

Evite los alimentos preparados con azúcar como caramelos, gominolas, frutas en almíbar, mermeladas, compotas, confituras, chocolate, cacao, pastelería y repostería.

No consuma alimentos precocinados como varitas de pescado frito, pollo empanado, empanadillas, croquetas, patatas chips, lasaña, etc.

Si se queda a comer en el comedor escolar, se aconseja que se solicite el menú "de régimen", es similar al menú normal, pero con menos cantidad de grasa. Será conveniente que se supervise y se planifique el menú de casa en función con el del colegio, para realizar una alimentación variada y equilibrada.

2 Objetivo 2: Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar

2.1 Pacientes

2.1.1 Proceso de selección

Los candidatos fueron seleccionados durante la visita preoperatoria en consultas externas en función de criterios de inclusión y exclusión preestablecidos. Una vez explicadas las características del estudio a los padres/tutores y al paciente se procedió a detallar las condiciones de participación en el estudio y del consentimiento legal. Los padres/tutores tenían derecho a revocar su decisión de participación en el estudio en cualquier momento del proceso. El tiempo de reclutamiento fue de tres años.

2.1.2 Criterios de inclusión

- Edad comprendida entre 1-17 años
- Cirugía abdominal intraperitoneal programada
- Consentimiento de los padres/tutor(es) legal(es)

2.1.3 Criterios de exclusión

- Cirugía urgente
- Presencia de patologías inflamatorias intraabdominales agudas y/o graves que pudieran alterar los resultados en marcadores de inflamación de interés del estudio
- Presencia de otras patologías de base: endocrinas (diabetes tipo I, metabolopatías), autoinmunes, neoplasias
- Tratamiento con corticoides orales (Lupus, síndrome nefrótico)

2.1.4 Consideraciones éticas

Tanto el plan de investigación como la documentación relacionada con este proyecto fueron aprobados por el comité de ética del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (referencia PI20/00807). El consentimiento informado se adjunta en el documento II (al final del apartado 2).

2.1.5 Grupos, clasificación y tamaño muestral

La clasificación de los pacientes en los grupos normopeso (NW) y sobrepeso/obesidad (OW/OB) se realizó según curvas de referencia (22). El tamaño muestral se determinó según la fórmula $n = 2(Z\alpha + Z\beta)^2 \frac{D^2}{d^2}$ donde:

- Zα es el valor crítico correspondiente al nivel de confianza deseado en el estudio. Si α= 0,05 (95% de confianza), Zα es aproximadamente 1,96.
- Zβ es el valor crítico relacionado con el poder estadístico (1−β) del estudio. Si el poder es 80% (β= 0,2), Zβ es aproximadamente 0,84.
- D representa la magnitud de la diferencia esperada entre los grupos NW y OW/OB
- d indica la precisión deseada para la estimación.

El tamaño muestral mínimo requerido para este estudio fue de n= 15 pacientes por grupo. Diecisiete niños NW (6 niños y 11 niñas) y trece niños OW/OB (7 niños y 6 niñas) fueron reclutados para el estudio. Las características clínicas de los pacientes se resumen en la tabla 15. Después de tres años, dos de los cuáles coincidieron con la pandemia por COVID-19, se tuvo que detener el reclutamiento. Las restricciones de ingresos hospitalarios e intervenciones quirúrgicas en pediatría afectaron al ritmo de reclutamiento, concretamente en el grupo OW/OB.

2.2 Recogida de datos

Los datos de los pacientes reclutados se registraron en una base de datos asegurando el anonimato y la confidencialidad de los participantes mediante un código numérico ordinal. Una vez registrados, los datos de los pacientes se trataron en base a esa asignación numérica y no al número de historia clínica. La investigadora principal fue la única en disponer del número de historia clínica y el código numérico asociado a cada paciente en un documento diferente de acceso restringido. Asimismo, la investigadora principal fue la única en disponer de acceso para modificar dicha base de datos.

2.2.1 Datos antropométricos y clínicos

Los datos registrados se predefinieron inicialmente en el plan de investigación.

- Etnia, género y edad en el momento de recogida de la muestra
- Antropometría (tabla 4)

- Antecedentes personales, tratamiento farmacológico de base
- Tipo de intervención
- Recogida de muestras antes o después de anestesia inhalatoria

Tabla 4. Resumen de las variables antropométricas registradas en el estudio

Cada variable se define por su método de obtención y la aplicación clínica. *ds: desviación estándar.* Adaptado de (22,167–176).

Variable	Método	Aplicación clínica
Peso (kg)	báscula con estadiómetro integrado	parámetros básicos en la práctica clínica
Altura (metros)		
Circunferencia de cintura (cm)	perímetro a nivel umbilical	indicador de obesidad pronóstico de síndrome metabólico en niños y adolescentes se correlaciona con IMC y porcentaje de adiposidad relativa
Percentil circunferencia de cintura	curvas de referencia	> p75: se recomienda descartar riesgo cardiovascular > p90: alto riesgo cardiovascular
Circunferencia cadera (cm)	perímetro en el punto más prominente de los glúteos coincidiendo con la sínfisis del pubis	parámetro básico en la práctica clínica
Índice masa corporal (IMC) o índice de Quetelet	$IMC\ \left(\frac{kg}{m^2}\right) = \frac{\text{peso}}{altura^2}$	variable de referencia más utilizada en el diagnóstico de obesidad
ds IMC	curvas de referencia $ds\ IMC = \frac{(\text{IMC paciente} - \text{IMC medio por edad y género})}{ds\ por\ edad\ y\ género}$	variable que define la normalidad en una población y permite la comparación con otros niños de misma edad y sexo
Índice masa triponderal (IMT)	$IMT\ \left(\frac{kg}{m^3}\right) = \frac{\text{peso}}{altura^3}$	mejor predictor de adiposidad que IMC en niños de 8-17 años, caucásicos no hispanoamericanos
ds IMT	curvas de referencia $ds\ IMT = \frac{(\text{IMT paciente} - \text{IMT medio por edad y género})}{ds\ por\ edad\ y\ género}$	variable que define la normalidad en una población y permite la comparación con otros niños de misma edad y sexo
Índice circunferencia cintura/talla (ICT)	$ICT = \frac{\text{circunferencia cintura (cm)}}{\text{altura (cm)}}$	no precisa curvas de referencia estable durante el crecimiento, sobre todo en la franja 6 - 14 años OB: niños > 0,5, niñas > 0,51 OW: niños > 0,47, niñas > 0,48 mayor capacidad predictiva de riesgo metabólico que IMC o suma de los pliegues subescapular y tricipital
Índice circunferencia cintura/cadera (ICC)	$ICC = \frac{\text{circunferencia cintura (cm)}}{\text{circunferencia cadera (cm)}}$	mejor predictor de adiposidad central, síndrome metabólico y riesgo cardiovascular que IMC alto riesgo cardiovascular: niños > 0,94, niñas > 0,85
Adiposidad corporal relativa (%)	Fórmula no inferior a la expresión de Siri en predecir la adiposidad relativa Niños: $\%\ G = 106{,}50 \times ICT - 28{,}36$ Niñas: $\%\ G = 89{,}73 \times ICT - 15{,}14$	complementario al IMC en el diagnóstico de obesidad
Percentil de adiposidad corporal	curvas de referencia	> p75: adiposidad de alto grado

2.3 Muestras

2.3.1 Suero

La muestra de sangre se obtuvo tras un período de ayuno de 12 horas mediante punción de una vena periférica por una enfermera. La extracción se realizó en el quirófano en el momento de la inducción anestésica. Dicha punción es inherente al proceso quirúrgico ya que es indispensable para mantener a los pacientes bajo anestesia general. La petición administrativa se predefinió en el plan de investigación inicial, de manera que se extrajo la misma cantidad de sangre a todos los pacientes (16,5 mL) y se midieron los mismos valores en todos ellos. Para facilitar esta tarea, se configuró una petición automática con la etiqueta "Estudio FIS" que incluía todos los parámetros definidos al inicio del proyecto. Los tubos de extracción contenían un activador de coagulación y un gel separador para la obtención de suero mediante centrifugación.

2.3.2 Tejido adiposo blanco subcutáneo y visceral

La toma de muestras de TA fue realizada por la investigadora principal durante procedimientos quirúrgicos programados que tuvieran lugar dentro de la cavidad peritoneal, fueran laparoscópicos o abiertos. El método de obtención de muestras fue siempre el mismo. La muestra de TABs, de 1 cm^3, se extrajo del compartimento subcutáneo en la misma herida quirúrgica. La muestra de TABv, de 1 cm^3, se extrajo del omento o epiplón mayor. El epiplón mayor es un pliegue peritoneal de cuatro capas – una de ellas adiposa- que cuelga desde la curvatura mayor del estómago y la porción proximal del duodeno (Figura 12). Dado el pequeño volumen de las muestras y la amplia extensión de los compartimentos adiposos subcutáneo y visceral, la toma de dichas muestras no implicó consecuencias fisiológicas ni estéticas valorables. Las muestras se resecaron sin electrocoagulación para evitar el daño tisular por calor y se conservaron inicialmente un mínimo de 24 horas en nevera en solución RNAlater® para proteger el ARN celular *in situ* en las muestras frescas sin la necesidad de congelar inmediatamente. Antes de congelar las muestras a -80ºC como método de conservación a largo plazo en los laboratorios del Institut Germans Trias i Pujol o de la Universitat de Barcelona, se mantuvieron previamente 24 horas a 4ºC.

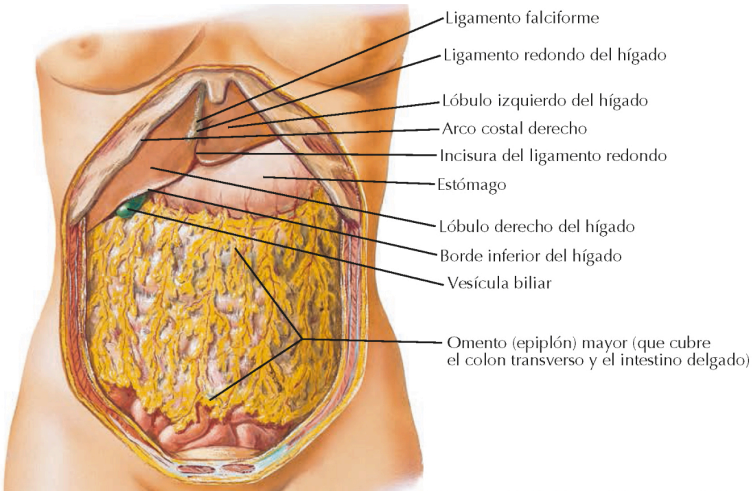


Figura 12. Anatomía de la cavidad peritoneal. Extraído de Atlas de Anatomía Humana, FH. Netter (177).

2.4 Pruebas

2.4.1 Bioquímica

Una vez extraída la muestra de sangre, se mandó por circuito ordinario al laboratorio del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol donde se realizaron las siguientes mediciones estándar:

- Perfil glucémico: insulina (mUI/L), glucosa (mg/dL), HbA1c (mmol/mol)
- Función renal: urea (mg/dL), creatinina (mg/dL), filtrado glomerular (mL/min/1,73m^2), proteína total (g/L)
- Perfil hepático: AST (U/L), ALT (U/L)
- Perfil lipídico: TG (mg/dL), colesterol total (mg/dL), HDL-c (mg/dL), LDL-c (mg/dL)
- Perfil hormonal: tirotropina (TSH) (µUI/mL), tiroxina no unida a proteína (ng/dL), hormona luteinizante LH (UI/L), hormona foliculoestimulante FSH (UI/L), estradiol (pg/mL), testosterona (ng/mL), cociente LH/FSH

2.4.2 Lipidómica

2.4.2.1 Homogeneización tisular y extracción de lípidos

Para la extracción de lípidos, se empleó el método de Folch (178). Se cortaron aproximadamente 50 mg de TA para el análisis de LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)*, congelado sobre hielo, y se recogieron en un tubo Eppendorf de 2 mL. Para la homogeneización de la muestra, se añadió 1 mL de MeOH frío por cada 50 mg de tejido. Se aplicó sonicación para la lisis del tejido usando un homogeneizador ultrasónico (10 pulsos, de 0,3 segundos cada uno, y al 40% de intensidad) (178). Luego, el homogeneizado de tejido se transfirió a un tubo de vidrio usando pipetas Pasteur de vidrio. Los tubos de lisis se lavaron con 400 µL de MeOH y 1000 µL de $CHCl_3$, y la solución resultante se transfirió al tubo de vidrio. Se añadieron 1,8 mL de $CHCl_3$ para obtener una proporción $CHCl_3$ de 2:1 (v/v). Las muestras se mezclaron en un rodillo a 4ºC, 210 rpm durante una hora. Posteriormente, se añadieron 840 µL de H_2O para reconstituir la proporción $CHCl_3$:$MeOH_2O$ (8:4:3, v/v), incubando a 4ºC, 2000 rpm durante 10 minutos para lograr la separación de fases. La fase inferior se recogió y se transfirió a un vial de UHPLC con inserto. Finalmente, se añadieron 4 µL de SPLASH® Lipidomix® y los viales se centrifugaron a 2000 g a 15°C durante 10 minutos antes de la inyección en el sistema. Las muestras QC se prepararon agrupando volúmenes iguales (100 µL) de cada homogeneizado preparado y se procesaron en paralelo con el resto de las muestras del estudio. Luego, se colocaron 150 µL de cada mezcla en un vial con inserto y se analizaron a lo largo del proceso para evaluar la estabilidad y el rendimiento del sistema y la reproducibilidad del procedimiento de tratamiento de muestras (179). Además, se prepararon muestras QC por grupo de estudio para ambos tipos de TA (TABv y TABs), agrupando 50 µL de cada muestra, respectivamente, para ser analizadas al final del análisis en modo iterativo. Finalmente, se prepararon cuatro muestras en blanco junto con el resto de las muestras, siguiendo el mismo procedimiento de extracción de lípidos. Estas muestras en blanco se analizaron al inicio y al final de la secuencia analítica para identificar contaminantes comunes. El proceso completo se resume en la figura 13.

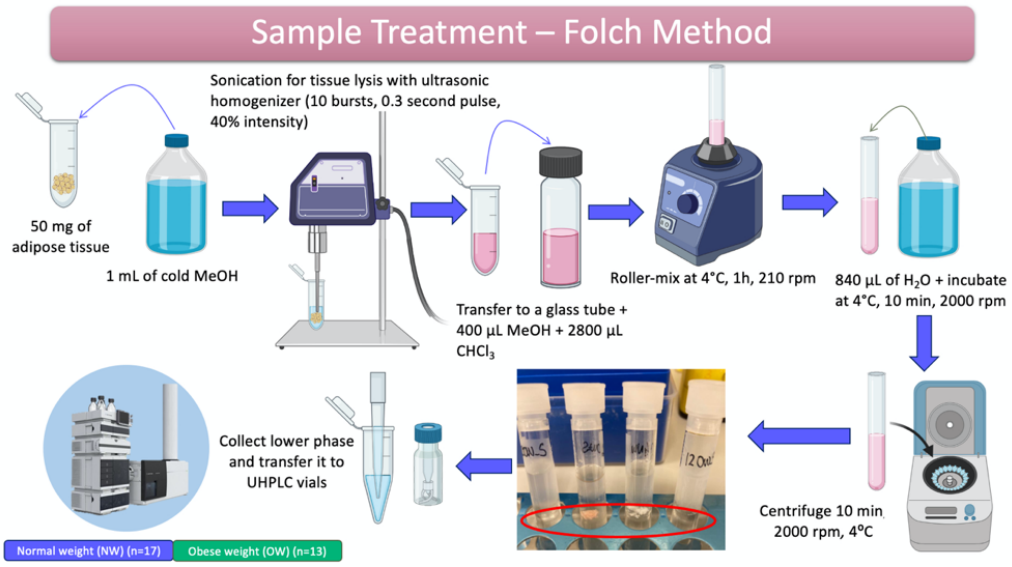


Figura 13. Procesado de las muestras de TA previo a la cromatografía UHPLC y espectrometría de masas. Técnica de Folch

UHPLC: Ultra-High-Performance-Liquid-Chromatography

2.4.3 Cromatografía UHPLC y espectrometría de masas ESI-QTOF

El análisis de los extractos de TA se realizó en un sistema UHPLC Agilent 1290 Infinity II acoplado a un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo cuadrupolar (QTOF, *Quadrupole Time-Of-Flight*) Agilent 6545, en modos de ionización positiva y negativa, usando condiciones analíticas previamente descritas (179). Se empleó un sistema Agilent 1290 Infinity II Multisampler (Agilent Technologies, EE.UU.) para inyectar 1 µL de muestras extraídas para el análisis. La temperatura del compartimento de muestras se mantuvo a 15°C para conservar la estabilidad de los compuestos lipídicos y prevenir su precipitación. La separación cromatográfica se realizó en una columna Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (3,0 × 100 mm, tamaño de partícula de 2,7 µm) junto con una columna de guarda Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (3,0 × 5 mm, tamaño de partícula de 2,7 µm). Ambas columnas se controlaron termostáticamente a 50°C. La fase móvil en los modos de ionización positiva y negativa consistió en dos solventes: fase móvil A (10 mM de acetato de amonio, 0,2 mM de fluoruro de amonio en una solución 9:1 de agua/metanol) y fase móvil B (10 mM de acetato de amonio, 0,2 mM de fluoruro de amonio en una mezcla 2:3:5 de acetonitrilo/metanol/isopropanol). Se utilizó una estrategia de lavado

múltiple con una mezcla de metanol (50:50, v/v) con un tiempo de lavado de 15 segundos, junto con una fase acuosa (30:70, v/v) para ayudar a restablecer las condiciones iniciales. El gradiente de cromatografía se programó de la siguiente manera: 70% de fase móvil B de 0 a 1 minuto, aumentando al 86% B a los 3,5 minutos y manteniéndose hasta los 10 minutos. La fase móvil B se aumentó al 100% a los 11 minutos y se mantuvo hasta los 17 minutos, seguido de un retorno a las condiciones iniciales en 17 minutos. El sistema se reequilibró durante 2 minutos, resultando en un tiempo total de análisis de 19 minutos. La tasa de flujo se fijó en 0,6 mL/min durante todo el análisis. La detección y análisis se realizaron en un espectrómetro de masas QTOF Agilent 6545 equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI) Jet Stream dual (AJS) de Agilent. Se usaron los siguientes parámetros del instrumento: voltaje del fragmentador de 150V, voltaje del skimmer de 65V, voltaje de la capilar de 3500V, voltaje de frecuencia de radio del octopolo de 750V, y un rango de escaneo de 40 a 1700 m/z a una velocidad de 3 espectros/s. La temperatura del gas se mantuvo a 200°C, con un flujo de gas de 10 L/min y una presión del nebulizador de 50 psi. El gas de recubrimiento se mantuvo a una temperatura de 300°C con una tasa de flujo de 12 L/min. La adquisición de datos se realizó en corridas separadas para los modos de ionización positiva y negativa. Se aplicó una corrección de masa continua durante el análisis infundiendo una solución de masa de referencia a una tasa de flujo de 1 mL/min usando una bomba Iso Agilent 1260 con una proporción de división de 1:100. Las masas de referencia para el modo de ion positivo fueron purina ($C_5H_4N_4$) a m/z 121,0509 y HP-0921 ($C_{18}H_{18}O_6N_3P_3F_{24}$) a m/z 922,0098. Para el modo de ion negativo, las masas de referencia fueron purina a m/z 119,0363 y HP-0921 + acetato a m/z 980,0163. Adicionalmente, se utilizó el modo de adquisición iterativa MS/MS para ambos modos de ionización. Para esto, se realizaron 10 corridas de una muestra QC, usando dos energías de colisión diferentes: 20eV y 40eV (cinco mediciones para cada energía). En cada corrida, el software seleccionó automáticamente los tres iones precursores más intensos para la fragmentación, generando espectros MS/MS para esos iones en un momento determinado. En la corrida subsiguiente de la misma muestra, los iones precursores previamente seleccionados fueron excluidos, y se fragmentaron los siguientes tres iones más intensos.

Este proceso de selección iterativo permitió cubrir de manera integral el lipidoma más amplio de los macrófagos, generando miles de espectros MS/MS a lo largo del análisis.

2.4.4 Procesamiento de datos

Los datos obtenidos después del análisis de LC-MS fueron depurados para eliminar el ruido de fondo e iones no relacionados mediante un análisis recursivo en el software MassHunter Profinder (B.10.0.2, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). Primero, se utilizó el algoritmo de extracción de características moleculares (MFE) para realizar la deconvolución cromatográfica y construir las características de todos los datos espectrales de masas, que consistieron en la suma de iones coeluentes relacionados por carga, patrón isotopológico y/o la presencia de diferentes aductos y dímeros en las muestras analizadas. Paralelamente, MFE alineó las características moleculares en todas las muestras del estudio utilizando la masa y el tiempo de retención para construir un solo espectro por cada grupo de compuestos.

Posteriormente, los resultados de MFE fueron utilizados para realizar una extracción recursiva de características, en la cual el algoritmo de extracción de características "search-by-ion" (FbI) utiliza la masa media, el tiempo de retención medio y el espectro compuesto calculado a partir de las características alineadas para mejorar la confiabilidad. Para detectar aductos coeluentes con las mismas características, se seleccionaron los siguientes aductos: [M+H]^+, [M+Na]^+, [M+K]^+, [M+NH4]^+ y [M+C2H6N2+H]^+ en LC-ESI (+)-MS; [M-H]^-, [M+Cl]^-, [M+CH3COOH - H]^- y [M+CH3COONa-H]^- en LC-ESI (-)-MS. La pérdida neutra (NL) de agua también se consideró para ambos modos de ionización.

2.5 Métodos estadísticos

2.5.1 Normalización de datos lipidómicos

La normalización y filtrado de datos se realizaron antes del análisis estadístico. Primero, se calcularon los coeficientes de variación (CV) de ambos estándares internos (SI). Las matrices obtenidas de datos sin procesar se normalizaron a la intensidad del SI correspondiente para corregir la variación no deseada relacionada con la preparación de muestras y el análisis. Luego se determinó el

CV para cada señal de lípido, y se omitieron todos los lípidos con CV superiores al 20%. Las señales de lípido con valores promedio en blanco superiores al 10% del valor promedio de la muestra se consideraron irrelevantes.

2.5.2 Análisis de datos lipidómicos

Las diferencias entre grupos se investigaron utilizando análisis de datos univariantes (UVDA) y multivariantes (MVDA). En cuanto al UVDA, las diferencias para cada lípido se evaluaron en MATLAB (2022, MathWorks, Natick, MA, EE. UU.) mediante la prueba *t* de Student ($p < 0,05$). Finalmente, se controló la tasa de falsos descubrimientos a $\alpha = 0,05$ mediante la corrección de Benjamini-Hochberg. Para el MVDA (SIMCA P+ 16.0), se aplicaron escalado de Pareto y transformación logarítmica antes de generar modelos de análisis de componentes principales (PCA-X), análisis discriminante de cuadrados parciales (PLS-DA) y análisis discriminante ortogonal de cuadrados parciales (OPLS-DA). La agrupación de QCs en los gráficos de PCA sirvió para evaluar la fiabilidad de los procedimientos analíticos. El análisis de PLS-DA se utilizó para exponer cambios globales en la lipidómica debido al IMC, y los grupos se compararon mediante OPLS-DA para maximizar la discriminación de clases. Se calcularon los índices de Importancia de Variables en la Proyección (VIP) utilizando el modelo OPLS-DA, manteniendo los lípidos con un VIP ≥ 1 y un intervalo de confianza de *Jackknife* distinto de cero. Los modelos OPLS-DA se validaron mediante validación cruzada y la herramienta CV-ANOVA del software SIMCA-P+ (179). Se construyeron heatmaps para presentar los perfiles de expresión de lípidos en ambos grupos con MetaboAnalyst 6.0. Finalmente, se realizó un análisis de correlación de Pearson para encontrar correlaciones significativas ($p \leq 0,05$) entre los lípidos afectados en TABv y TABs utilizando MATLAB.

2.5.3 Anotación de lípidos

La anotación inicial de características lipídicas basada en datos de MS1 se llevó a cabo utilizando la plataforma en línea CEU Mass Mediator (CMM) (http://ceumass.eps.uspceu.es/mediator/). Posteriormente, los datos de LC-MS/MS se reprocesaron mediante el software Lipid Annotator (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EE. UU.) y la plataforma MS-DIAL para una

mayor anotación. Se realizó una inspección manual de los espectros MS y MS/MS utilizando el software Agilent MassHunter Qualitative Analysis (versión 10.0) para mejorar la fiabilidad de las anotaciones y detectar especies lipídicas potencialmente novedosas (180). La nomenclatura utilizada en este estudio se ajusta a la última actualización del sistema de anotación abreviada (181).

Documento II. Consentimiento informado

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

DATOS DEL ESTUDIO

Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases

Investigador Principal:
Dr. David Sánchez-Infantes
Dra. Andrea Soria Gondek
Dr. Alejandro Manzanares Quintela

Referencia: PI20/00807
Centro: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

Nos dirigimos a usted como tutor legal del niño/a para informarle sobre un proyecto de investigación en pediatría en el que se le invita a participar. Este proyecto ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de nuestro Centro.

Nuestra intención es que reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no incluir a su hijo/a en este proyecto. Para ello, lea esta hoja informativa con atención, y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Puede consultar con el Dr. David Sánchez-Infantes, la Dra. Andrea Soria Gondek, el Dr. Alejandro Manzanares Quintela, investigadores de este proyecto, y con las personas que considere oportuno.

1.- ANTECEDENTES

La obesidad es un problema de salud pública de primer orden, especialmente durante la edad pediátrica. El cambio en el estilo de vida, la realización de ejercicio y el seguimiento de una dieta saludable, tiene efectos positivos sobre el metabolismo. Sin embargo, algunas veces no es suficiente un cambio en el estilo de vida para evitar el desarrollo de enfermedades derivadas de la obesidad como son la diabetes tipo 2. Un mejor estudio de las causas y efectos de la acumulación de grasa en el organismo abriría nuevas posibilidades de prevención y/o tratamiento.

2.- OBJETIVO DEL ESTUDIO

Este proyecto pretende detectar moléculas claves en el desarrollo de inflamación y diabetes tipo 2 secundarios a la obesidad. Estos nuevos marcadores de salud

metabólica permitirían abrir nuevas opciones de prevención, diagnóstico y/o tratamiento.

3.- CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

Este proyecto pretende estudiar la sangre y/o la grasa de más de ochenta niños con y sin obesidad para compararlas y detectar las moléculas más relevantes relacionadas con la obesidad precoz. En el caso de su hijo/a, participar en este estudio no modifica el tratamiento quirúrgico que va a recibir. No deberá tomar ninguna medicación más allá de la que el médico le paute en relación con la cirugía ni prolongará su estancia en el hospital. Tampoco deberá acudir a más controles ambulatorios de los requeridos por la propia intervención.

4.- CONSENTIMIENTO

La participación en este estudio consistirá en la obtención de los datos y de las muestras biológicas que se indican a continuación:

- *Datos clínicos, antropométricos y encuestas:*

Se recogerán los datos referentes a edad, sexo, antecedentes personales y tratamiento farmacológico, así como medidas antropométricas (peso, talla, circunferencias de cintura y cadera).

- *Datos socioeconómicos*:

Mediante un cuestionario cedido por la *Gasol Foundation* se recogerá información sobre su hijo/a entorno a los hábitos de alimentación y ejercicio, la calidad del sueño, el uso de pantallas tecnológicas y el estatus socioeconómico familiar.

- *Recogida de muestra de grasa:*

Se realizará la recogida de dos muestras muy pequeñas de grasa (1 cm^3) durante la cirugía llevada a cabo a su hijo/a.

-Determinaciones analíticas:

Se obtendrá una muestra de sangre en el momento de la cirugía. Esta muestra de sangre se consigue en el mismo acto de colocación de la vía venosa periférica por lo que no supondrá ningún daño añadido. Con esta muestra, nosotros determinaremos los niveles sanguíneos de varias moléculas con un papel importante en la obesidad.

5.- USO DE SU MUESTRA BIOLÓGICA

La muestra biológica y la información personal recogida de su hijo/a como parte del proyecto **Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases**, serán utilizados para la investigación sobre la obesidad y la diabetes tipo 2 que se lleva a cabo en el hospital Germans Trias i Pujol. Todos los estudios científicos que utilicen dicha muestra biológica primero deberán pasar por el

Comité Ético y el Comité Científico de nuestra institución para supervisar la ética, la seguridad y la actividad científica de los mismos.

El tratamiento y uso de las muestras se realizará siguiendo lo especificado en la Ley de Investigación Biomédica (14/2007), y el RD 1716/2011. Las muestras se almacenarán en las instalaciones del Hospital Germans Trias i Pujol, en congelador de -80ºC y -20ºC por un periodo de al menos 3 años. Algunas de estas muestras podrían utilizarse en un futuro para uso científico, y ser compartidas con otros grupos de investigación con fines únicamente científicos. Como se indica en este consentimiento, el paciente puede retirar la muestra del estudio en cualquier momento sin dar explicaciones.

6.- INFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Los estudios que se puedan incluir en el plan de investigación de nuestro proyecto no se hacen para diagnosticar una determinada enfermedad en una persona concreta, sino para profundizar en el mayor conocimiento del comportamiento de la grasa en situaciones de obesidad. Los tiempos de la investigación van a depender de los resultados que se vayan produciendo y no se corresponden con los tiempos de la atención clínica, generalmente más cortos. Aun así, los resultados obtenidos con este estudio podrían tener una aplicación clínica a corto-medio plazo identificando nuevas dianas terapéuticas para estas enfermedades.

En el caso de que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínicamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtener información relevante para su familia; si se produce esta situación, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo.

7.- PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

La participación en esta investigación es voluntaria. Si usted elige no participar, esta decisión no afectará la asistencia médica de su hijo/a.

Asimismo, usted puede retirar a su hijo/a del estudio en cualquier momento, sin dar explicaciones. En este caso, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos, y se procederá a la destrucción de las muestras identificables, previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.
Para solicitar la destrucción de su muestra deberá contactar con el Dr. David Sánchez-Infantes, la Dra. Andrea Soria Gondek o el Dr. Alejandro Manzanares Quintela (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860).

8.- COSTE, RIESGOS, Y PROTECCIÓN FRENTE A DAÑOS

La extracción de las muestras no supondrá ningún coste económico para usted.

La intervención quirúrgica se realiza bajo anestesia general y por lo tanto, precisa de la colocación de una vía venosa periférica. La muestra de sangre se obtiene durante la colocación de dicha vía periférica por lo que no supone ningún acto añadido. El riesgo de una extracción de sangre es muy pequeño, pero puede conllevar molestias leves: dolor local, sangrado autolimitado, ansiedad frente a las agujas y, ocasionalmente, un pequeño hematoma residual al retirar la vía periférica. Se tomarán precauciones para evitar estos inconvenientes.
La muestra de grasa obtenida durante la cirugía es muy pequeña, por lo que no tiene repercusiones en la salud ni en la estética del paciente.

9.- BENEFICIOS

Aunque este proyecto no le promete ninguna ventaja directa para su hijo/a, usted contribuirá a una mayor comprensión de la obesidad. Además, los resultados de la futura investigación con muestras biológicas pueden ayudar a pacientes con la misma enfermedad, y al público en general.

10.- PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Se garantiza el cumplimiento de la normativa vigente de protección de datos (Ley orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de datos personales y garantía de derechos digitales, y Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, del 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que se refiere al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos; RGPD)).

Durante este estudio se generará información sensible y esta normativa quiere ayudar a evitar accesos involuntarios a esta información que podrían exponer a los pacientes, y a sus familias, a efectos adversos económicos, legales, psicológicos, y/o sociales.

A continuación se detalla la información que debe saber en cuanto al tratamiento de datos personales y su legislación.

El Hospital Universitari Germans Trias i Pujol es, en relación con el cumplimiento de la normativa de protección de datos personales, el responsable legal del tratamiento de estos datos en el marco del proyecto. Ello no implica que pueda tener acceso a la identidad de su hijo/a o al formulario de consentimiento informado, excepto por obligación legal (por ejemplo, si alguien presenta una

reclamación ante la autoridad de control de protección de datos o ante un juez o tribunal).

De acuerdo con el Reglamento general de protección de datos personales de la Unión Europea, le informamos que los datos de contacto del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol son Carretera de Canyet, s/n, 08916 Badalona, Barcelona y 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860.

El delegado de protección de datos es la Dra. Andrea Soria Gondek (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860, asoriag.germanstrias@gencat.cat).

La finalidad del tratamiento de datos personales es la gestión y ejecución de este proyecto de investigación.

La base jurídica que hace licito el tratamiento de datos: Ley Orgánica 2/2023, de 22 de marzo, del Sistema Universitario, y la Ley 1/2003, de 19 de febrero, de Universidades de Cataluña.

Usted debe dar el consentimiento explícito para compartir los datos personales de su hijo/a considerados especiales (como la etnia o los datos relativos a la salud). Al igual que el resto de los datos, tienen derecho a retirarlo en cualquier momento, sin efectos retroactivos.

Usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de los datos; para ello, deberá contactar con el Investigador Principal del proyecto. Asimismo, puede solicitar la destrucción de las muestras. Estos derechos deberán ejercerse por escrito con un documento al que deberá adjuntarse una fotocopia del DNI del padre/madre/tutor legal solicitante.

Si considera que los derechos de su hijo/a no han sido adecuadamente atendidos, tiene derecho a presentar una reclamación ante la Autoridad Catalana de Protección de Datos (https://apdcat.gencat.cat/es/inici/index.html).

Para proteger la privacidad de su hijo/a, las muestras de sangre y/o grasa se identificarán con un código alfanumérico y serán pseudoanonimizados. Solamente los investigadores responsables del proyecto podrán conectarlos con el nombre de su hijo/a.

Igualmente, los datos personales de su hijo/a estarán identificados mediante un código, manteniendo así la confidencialidad de estos. Sólo los investigadores responsables del proyecto podrán conectarlos con el nombre de su hijo/a. En ningún momento su nombre, dirección, o cualquier otra información que le identifique será dada para los propósitos de la investigación.

El acceso a la información personal de su hijo/a quedará restringido a los investigadores del proyecto, las autoridades sanitarias y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de estos de acuerdo con la legislación vigente.

El material biológico y los datos personales de su hijo/a serán almacenados hasta que el estudio esté concluido, y entonces será destruido. La decisión de terminar el estudio será tomada por los investigadores, siendo el plazo mínimo de 3 años.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

He sido informado de los riesgos o inconvenientes y de las posibles ventajas de la participación de mi hijo/a en el proyecto **Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases.** Entiendo:

1. Que no tenemos obligación de participar en este proyecto, y que la negativa a hacerlo no implicará ninguna pena o pérdida de los derechos que le corresponden a mi hijo/a.

2. Que puedo retirar las muestras en cualquier momento sin dar explicaciones.

3. Que los resultados de la investigación que utiliza la muestra biológica podrán ser publicados, pero mis datos personales no serán revelados a menos que sean requeridos por ley.

4. En caso de que haya problemas médicos o preguntas, me han comunicado que puedo llamar a los investigadores (Dr. David Sánchez-Infantes, Dra. Andrea Soria Gondek, Dr. Alejandro Manzanares Quintela) al teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860.

5. Que puedo hacer cualquier pregunta en cualquier momento acerca de este proyecto.

6. El propósito del proyecto y como el material biológico será utilizado.

7. Mis derechos como padre/madre/tutor legal del paciente de la investigación, y voluntariamente consiento ceder el material biológico.

    - Declaro haber leído la información relativa al tratamiento de datos personales:

☐ Si ☐ No

- Consiento el tratamiento de los datos personales especiales:

☐ Si ☐ No

- Deseo ser informado de los resultados clínicamente relevantes:

☐ Si ☐ No

- Accedo a que se me contacte en un futuro en el caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos inicialmente, o muestras biológicas adicionales.

☐ Si ☐ No

- ¿Desea incluir alguna restricción en el uso de las muestras biológicas?

☐ Si ☐ No

En caso afirmativo, ¿cuál? ……

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA LEÍDO Y ENTIENDE LA INFORMACIÓN ANTEDICHA, QUE USTED HA DISCUTIDO ESTE ESTUDIO CON LA PERSONA QUE OBTIENE ESTE CONSENTIMIENTO, QUE USTED HA DECIDIDO PARTICIPAR BASADO EN LA INFORMACIÓN PROPORCIONADA, Y QUE SE LE HA DADO A USTED UNA COPIA DE ESTE FORMULARIO.

	O	
Nombre y firma del paciente (mayores de 14 años)		Nombre y firma del familiar o Tutor (en caso necesario)

Fecha: _____ / _____ / _____

POR FAVOR, GUARDE UNA COPIA ÍNTEGRA DE ESTE FORMULARI

3 Objetivos 3, 4 y 5

Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar.

Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso.

Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos.

3.1 Pacientes

3.1.1 Proceso de selección

Los candidatos se seleccionaron durante la visita en consultas externas por la cirujana (cohorte quirúrgica) o la endocrinóloga referente (cohorte médica) en función de criterios de inclusión y exclusión preestablecidos. Una vez explicadas las características del estudio a los padres/tutores y al paciente se procedió a detallar las condiciones de participación en el estudio y del consentimiento legal. Los padres/tutores tenían derecho a revocar su decisión de participación en el estudio en cualquier momento del proceso. El tiempo de reclutamiento fue de 36 meses.

Los pacientes con obesidad de la cohorte médica entraron en un programa de intervención conductual. El protocolo consistía en recibir recomendaciones protocolizadas sobre dieta, ejercicio y estilo de vida (ver documento I) y realizar visitas de seguimiento mensuales durante 6 meses para monitorizar los cambios en los hábitos de vida y trabajar en el refuerzo positivo.

3.1.2 Criterios de inclusión

- Edad comprendida entre 2-17 años
- Intervención quirúrgica programada (cohorte quirúrgica)
- Seguimiento por la Unidad de Endocrinología pediátrica (cohorte médica)
- Consentimiento de los padres/tutor(es) legal(es)

3.1.3 Criterios de exclusión

- Patologías inflamatorias agudas y/o graves intercurrentes el día de la intervención quirúrgica (cohorte quirúrgica)
- Presencia de otras patologías de base: endocrinas (diabetes tipo I, metabolopatías), autoinmunes, neoplasias
- Tratamiento con corticoides orales (Lupus, síndrome nefrótico)

3.1.4 Consideraciones éticas

Tanto el plan de investigación como la documentación relacionada con este proyecto fueron aprobados por el comité de ética del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (referencia PI20/00807). Los consentimientos informados correspondientes se adjuntan en los documentos III y IV (al final del apartado 3).

3.1.5 Grupos, clasificación y tamaño muestral

La clasificación de los pacientes en los grupos normopeso (NW) y sobrepeso/obesidad (OW/OB) se realizó según curvas de referencia (22). El tamaño muestral se determinó según la fórmula $n = 2(Z\alpha + Z\beta)^2 \frac{D^2}{d^2}$ (véase apartado 2.1.5). El tamaño muestral mínimo requerido para este estudio fue de n= 15 pacientes por grupo. El proceso de reclutamiento de los pacientes se detalla en la figura 14. Las características clínicas de los pacientes se resumen en la tabla 17.

3.2 Recogida de datos

Véase apartado 2.2 y 2.2.1

3.3 Muestras

La muestra de sangre se obtuvo tras un período de ayuno de 12 horas mediante punción de una vena periférica por una enfermera. En la cohorte quirúrgica, la extracción se realizó en el quirófano en el momento de la inducción anestésica. En la cohorte médica, la punción se realizó durante la visita en consultas externas en la visita de inicio y de fin de la intervención conductual (6 meses). Al igual que para el objetivo 2, se extrajo la misma cantidad de sangre a todos los pacientes (16,5 mL) y se midieron los mismos valores en todos ellos.

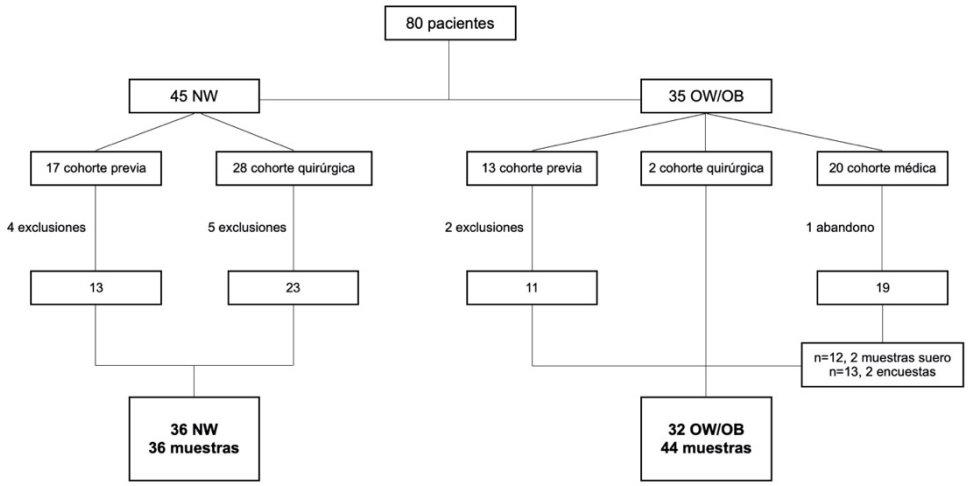


Figura 14. Diagrama de flujo. Proceso de reclutamiento

Representación visual del proceso del proceso de selección y exclusión o admisión de los participantes. *NW*: cohorte normopeso; *OW/OB*: cohorte con sobrepeso/obesidad.

Cohorte previa (cohorte objetivo 2), cohorte quirúrgica (muestra de suero y encuesta relacionadas con una intervención quirúrgica), cohorte médica (muestra de suero y encuesta al inicio y final de una intervención conductual de 6 meses).

3.4 Pruebas

3.4.1 Bioquímica

Una vez extraída la muestra de sangre, se mandó por circuito ordinario al laboratorio del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Las mediciones realizadas se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Valores medidos en el laboratorio del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Lista de indicadores analizados, con sus unidades y rangos normales en población pediátrica (182–184).

Parámetro	Unidad	Rango
Glucosa	mg/dL	68 - 110
Hb Glicada	mmol/mol	20 - 42
Proteína total	g/L	65 - 81
Urea	mg/dL	11 - 38
Creatinina	mg/dL	0,31 - 0,61
Aspartato aminotransferasa (AST)	U/L	9 - 25
Alanina aminotransferasa (ALT)	U/L	18 - 36
Colesterol total	mg/dL	112 - 208
HDL-c	mg/dL	> 40
LDL-c	mg/dL	< 130
TG	mg/dL	< 130
TSH	µUI/mL	0,70 – 4,17
Tiroxina	ng/dL	0,89 – 1,37
Insulina	mUI/L	1,6 - 37
SHBG	nmol/L	15 - 108

3.4.2 Proteómica dirigida

3.4.2.1 Ensayo de extensión de proximidad

Para analizar proteínas en suero, se eligió el panel 48 Cytokine/FLEX de Olink (Olink Proteomics, Uppsala, Suecia), que permite seleccionar las proteínas específicas a analizar a partir de todos los paneles disponibles. Se escogieron 30 proteínas relevantes por su asociación con procesos metabólicos, inmunológicos, inflamatorios, el ritmo circadiano y la regulación de hambre y saciedad. Sus características se resumen en la tabla 3. Los niveles de estas 30 proteínas se analizaron mediante el ensayo de extensión de proximidad (PEA, *Proximity Extension Assay*), empleando un formato de placa de 96 pocillos (185). El análisis fue realizado por Cobiomic Bioscience, S.L., en Córdoba, España. Los detalles de esta técnica se resumen en la figura 15.

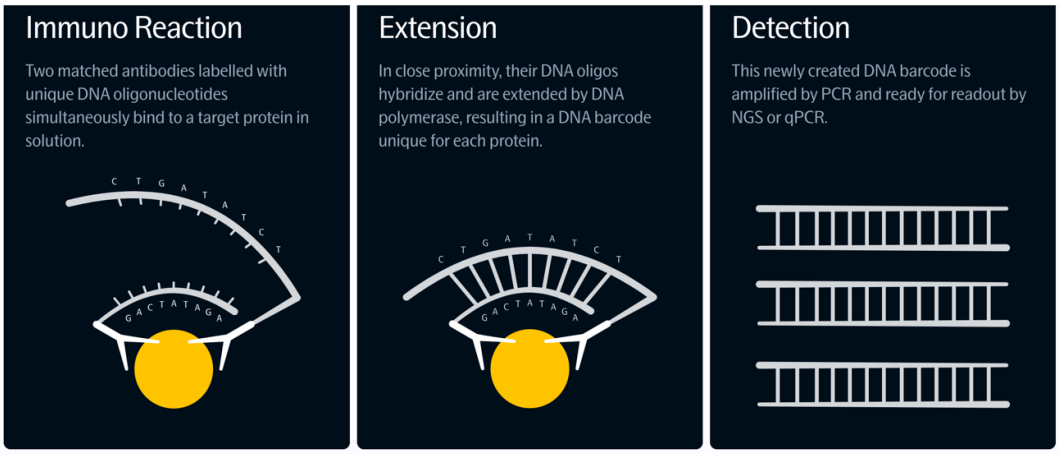


Figura 15. Ensayo de extensión de proximidad, principios fundamentales

El PEA es un inmunoensayo de doble reconocimiento que utiliza anticuerpos emparejados, cada uno marcado con oligonucleótidos de ADN únicos, que se unen simultáneamente a una proteína objetivo en solución (izquierda). Esto permite que los dos anticuerpos converjan y que sus oligonucleótidos de ADN se hibriden, sirviendo como plantilla para un paso de extensión dependiente de ADN polimerasa. Esto genera un "código de barras" de ADN de doble hebra específico para cada proteína (centro). La hibridación y extensión son seguidas por amplificación por PCR. La concentración del producto de PCR resultante es proporcional a la concentración inicial de la proteína objetivo (derecha). Extraído de https://olink.com/technology/what-is-pea

3.4.2.2 Características del ensayo

Las 80 muestras se aleatorizaron y se distribuyeron en dos placas, manteniendo una representación proporcional de los dos grupos. Cada placa de ensayo se

componía de 40 muestras con tres controles internos cada una (control de incubación, extensión y detección) y tres controles externos, el control de muestra (triplicado), el control negativo (duplicado) y el calibrador (triplicado) (Figura 16). Los niveles relativos de las proteínas se informaron en una escala arbitraria de Log2 basada en la expresión proteica normalizada (NPX). Los controles internos y externos permitieron monitorizar la calidad de las muestras, de la ejecución y del ensayo en varias etapas del proceso para cada muestra.

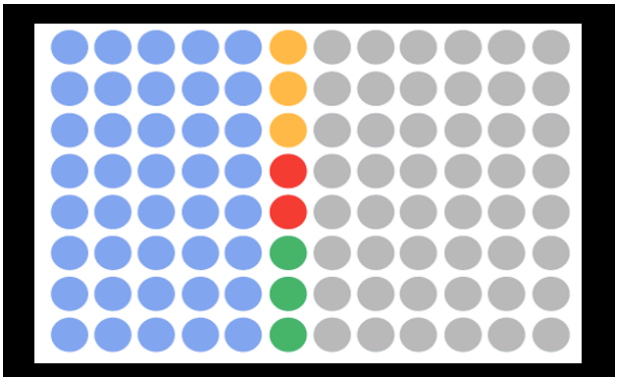


Figura 16. Composición de la placa de ensayo y controles de calidad

Cada una de las 40 muestras (azul) contiene tres controles internos. El control de extensión sirve para la normalización de los datos. Los controles de incubación y detección se usan para comprobar la consistencia de los datos. El calibrador (verde) se utiliza para la normalización entre placas. Consiste en un conjunto de muestras nativas, enriquecidas con antígenos recombinantes. El control de muestra (amarillo) evalúa la exactitud y precisión de los datos. Consiste en un conjunto de muestras nativas, enriquecidas con antígenos recombinantes. El control negativo (rojo) detecta las posibles señales de fondo o contaminación no específica en el ensayo. No contiene las proteínas objetivo ni moléculas que puedan generar una señal específica. Los pocillos vacíos se representan en gris.

3.4.2.3 Controles de calidad

El calibrador y el control interno de extensión se utilizaron para calcular los valores de NPX normalizados. Los datos se ajustaron de manera que la mediana de NPX de cada proteína en cada placa se alineara con la mediana global. El hecho de que las placas presentaran una mediana uniforme para todos los ensayos incrementó la precisión y la consistencia del análisis. Para asegurar la consistencia de los datos, se comprobó que la desviación estándar de los valores NPX de los controles de incubación y de detección fuera < 0,2 para las muestras y < 0,5 para los controles externos en cada ensayo. Asimismo, se verificó que la

desviación estándar de los valores NPX de los controles de incubación y de detección con respecto a la mediana de la placa para dichos controles fuera < 0,3 NPX. Para asegurar la precisión de los resultados, la concentración media del control de muestra debía estar dentro de +/- 30% de la concentración conocida. El CV intraensayo, refleja la consistencia de las concentraciones medidas en un mismo ensayo. El CV intraensayo para el control de muestra debía ser inferior al 30%. Los datos de al menos dos pocillos del control de muestra debían ser válidos para considerar el ensayo fiable. El CV intraensayo del calibrador también debía ser inferior al 30% para asegurar que las mediciones fueran consistentes y precisas dentro de un mismo ensayo.

3.4.2.4 Cálculo de las concentraciones e interpretación del método

Olink, durante el desarrollo de su producto, calculó una curva estándar precisa y predefinida para cada proteína, aplicando un modelo de ajuste 4-PL (*Four-Parameter Logistic Regression*). Esta curva permite traducir el valor NPX medido en el ensayo a la concentración de proteína en pg/mL. La interpretación de esta curva se detalla en la figura 17.

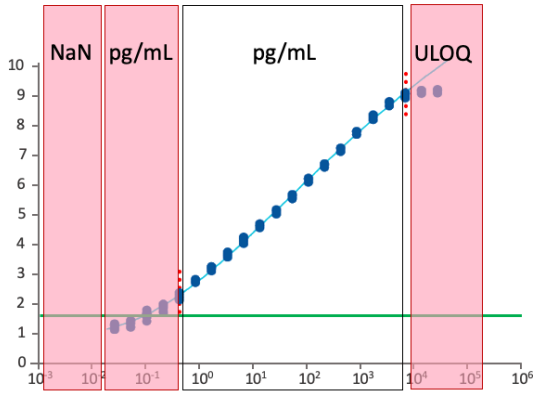


Figura 17. Definición de los parámetros de detección durante el ensayo de extensión de proximidad. El límite de detección para cada placa (línea verde) se define como tres desviaciones estándar por encima del promedio de los controles negativos en esa placa. Los datos válidos (pg/mL, en blanco) se sitúan dentro de los límites de cuantificación (líneas rojas punteadas). Los datos por encima del nivel cuantificable más alto (ULOQ, *Upper Limit Of Quantification*) no se reportan debido al elevado riesgo de interpretación errónea. Los datos por debajo del nivel cuantificable más bajo son reportados pero deben tratarse con precaución debido a la menor precisión y exactitud en el rango inferior (pg/mL, en rosa). Los datos por debajo del ajuste de la curva no pueden calcularse (NaN, *Not a Number*, en rosa).

3.4.3 Encuestas del estilo de vida

Los pacientes reclutados completaron una encuesta entorno a la alimentación, la actividad física, la rutina de sueño, el uso de pantallas tecnológicas y el nivel socioeconómico familiar. Las encuestas fueron cedidas por la *Gasol Foundation* contra la obesidad infantil (www.gasolfoundation.org) previa sesión formativa sobre la metodología de las encuestas. Esta encuesta se realizó presencialmente en consultas externas, supervisada por la cirujana (cohorte quirúrgica) o la enfermera (cohorte médica) responsables, y participaron tanto padres/tutores legales como pacientes. En el caso de los pacientes que se sometieron a la intervención conductual se realizaron dos encuestas, una al inicio y otra al final de dicha intervención. Estas encuestas se encuentran en el marco del estudio PASOS dirigido por la *Gasol Foundation* desde 2019 cuyo objetivo es aportar nuevos resultados y conclusiones sobre los estilos de vida, el estado de salud y la prevalencia de exceso de peso infantil de la población infantojuvenil residente en España (26) (ver documento V al final del apartado 3).

3.4.3.1 Actividad física

El cuestionario PAU-7S consta de 7 ítems que permiten evaluar los niveles de actividad física, la frecuencia semanal y la duración en cada niño o adolescente (186). El conjunto de respuestas permite calcular el tiempo dedicado al ejercicio físico moderado o intenso (*MVPA en inglés, Moderate to Vigorous Physical Activity*) a la semana o al día. El tiempo mínimo recomendado de MVPA al día es de 60 minutos.

3.4.3.2 Sedentarismo

El cuestionario sobre el uso de pantallas tecnológicas permite evaluar el sedentarismo de los niños o adolescentes. Pregunta específicamente sobre el tiempo dedicado a ver la televisión, jugar videojuegos en el ordenador o en la consola por separado y usar un teléfono móvil, discriminando los días de semana y los fines de semana (186). El tiempo máximo recomendado de uso de pantallas al día es de 120 minutos.

3.4.3.3 Hábitos dietéticos

El cuestionario KIDMED de 16 ítems permite evaluar el nivel de adherencia de los niños y adolescentes a la dieta mediterránea. En base a los patrones dietéticos mediterráneos, los ítems que denotan una menor adherencia se puntúan en negativo y los de mayor adherencia se puntúan en positivo (186). La puntuación total oscila entre -4 y 12 y se estratifica en tres niveles de adherencia: bajo (- 4 a 3 puntos), intermedia (4 - 7 puntos) y alta (8 - 12 puntos).

3.4.3.4 Duración y calidad de sueño

El cuestionario de hábitos de sueño para niños y adolescentes permite registrar la duración del sueño entre semana y durante el fin de semana. Posteriormente, se compara con las recomendaciones de sueño infantil de la *National Sleep Foundation*, clasificadas por grupos de edad, para calcular las tasas de cumplimiento de dichas recomendaciones en la muestra (1 - 2,9 años: 11 - 14.9 horas; 3 - 5,9 años: 10 - 13,9 horas; 6 - 13,9 años: 9 - 11,9 horas; 14 - 17,9 años: 7 -9,9 horas). Asimismo, el cuestionario BEARS evalúa la calidad del sueño de los participantes a través de cinco ítems: problemas para acostarse o quedarse dormido, somnolencia excesiva durante el día, despertares durante la noche, regularidad y duración del sueño y ronquidos (186).

3.4.3.5 Nivel socioeconómico familiar

Los padres/tutores legales completaron un formulario sobre la comarca de residencia, el nivel educativo de los progenitores y la renta anual media por unidad familiar.

3.5 Métodos estadísticos

3.5.1 Análisis proteómica

Se analizaron los datos clínicos y proteómicos de las cohortes NW, OW/OB y OB sometidos a intervención conductual. La normalidad de los datos para cada subconjunto se evaluó con las pruebas de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnoff. Se utilizaron pruebas *t* de Student (variables paramétricas) o la prueba U de Mann-Whitney (variables no paramétricas) para la comparación de muestras independientes (NW vs OW/OB). Se utilizaron pruebas *t* de Student para

muestras emparejadas (variables paramétricas) o la prueba de los rangos con signos de Wilcoxon (variables no paramétricas) para la comparación de datos antes y después de la intervención en participantes OW/OB. El nivel de significancia estadística se fijó en $p < 0,05$. Para las variables continuas, se calcularon la media y la desviación estándar (ds). Se realizó un análisis de la covarianza (ANCOVA) para controlar las múltiples variables evaluadas entre los grupos NW y OW/OB por las covariables edad y sexo. Para estudiar la correlación entre las principales proteínas alteradas en la obesidad y las variables clínicas, se calculó el índice de correlación de rho de Spearman.

3.5.2 Análisis encuestas

La distribución de las variables continuas se verificó utilizando las pruebas de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilk, según correspondiera. Para la comparación entre los grupos NW y OW/OB, las variables continuas con distribución normal se analizaron mediante la prueba t de Student para muestras independientes y se expresaron como medias y desviaciones estándar. Las variables continuas no normales se compararon utilizando la prueba U de Mann-Whitney y se presentaron como medianas y rangos intercuartílicos. Las variables cualitativas se expresaron en frecuencias absolutas (n) y relativas (%) y se analizaron con la prueba de Chi cuadrado. Se consideró un nivel de significancia de $p < 0,05$.

En la comparación de las variables del grupo OB entre los momentos 0 y 6 meses de la intervención conductual, las diferencias en las variables continuas se expresaron como medias y desviaciones estándar y se analizaron mediante la prueba t de Student para muestras emparejadas o la prueba de rangos con signos de Wilcoxon, según procediera. Las diferencias en las variables cualitativas se expresaron en frecuencias absolutas (n) y relativas (%) y se analizaron con la prueba de McNemar. El nivel de significancia se mantuvo en $p < 0,05$.

Para explorar la relación entre el tiempo frente a pantallas y las horas de sueño, se calculó una correlación multivariante ajustada por edad y sexo para el tiempo dedicado a cada tipo de pantalla (televisión, ordenador, videojuegos y móvil) y el tiempo de sueño, tanto entre semana como en fin de semana. En el análisis de

las correlaciones entre el estilo de vida y las alteraciones metabólicas en los grupos NW y OW/OB, primero se identificaron las variables analíticas y proteómicas destacadas en el objetivo 3. Posteriormente, se realizaron correlaciones multivariantes ajustadas por edad y sexo para cada variable cuantitativa del estilo de vida (y), permitiendo evaluar su relación con las variables independientes (x) seleccionadas según modelos lineales multivariantes con la estructura: $y = \beta_1 x_1 + \beta_{edad} Edad + \beta_{sexo} Sexo + k$, donde β=coeficientes de correlación parcial y k = constante. Para cada correlación multivariante se determinó la β de cada variable de interés en el modelo, y se consideraron estadísticamente significativas si $p < 0,05$.

En el grupo sometido a intervención conductual, el análisis de las correlaciones entre el estilo de vida y las alteraciones metabólicas se llevó a cabo de manera secuencial. Primero, se realizó un análisis multivariante ajustado por edad y sexo para cada variable cuantitativa del estilo de vida antes de la intervención. Luego, se aplicó un análisis de regresión lineal múltiple corregido por edad y sexo según el mismo modelo indicado en el párrafo anterior, tanto antes como después de la intervención. Para realizar comparaciones entre variables dicotómicas de los cuestionarios referentes al seguimiento de las recomendaciones y variables independientes, se analizaron y las diferencias (deltas) de las variables independientes en cada grupo de cada variable dicotómica mediante ANCOVA ajustada por sexo y edad, incorporando en estos análisis las variables analíticas y proteómicas más relevantes de la comparación entre los 6 y 0 meses en el grupo OB.

Documento III. Consentimiento informado cohorte quirúrgica

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

DATOS DEL ESTUDIO

Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases

Investigador Principal:
Dr. David Sánchez-Infantes
Dra. Andrea Soria Gondek

Referencia: PI20/00807
Centro: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

Nos dirigimos a usted como tutor legal del niño/a para informarle sobre un proyecto de investigación en pediatría en el que se le invita a participar. Este proyecto ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de nuestro Centro.

Nuestra intención es que reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no incluir a su hijo/a en este proyecto. Para ello, lea esta hoja informativa con atención, y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Puede consultar con el Dr. David Sánchez-Infantes o la Dra. Andrea Soria Gondek, investigadores de este proyecto, y con las personas que considere oportuno.

1.- ANTECEDENTES

La obesidad es un problema de salud pública de primer orden, especialmente durante la edad pediátrica. El cambio en el estilo de vida, la realización de ejercicio y el seguimiento de una dieta saludable, tiene efectos positivos sobre el metabolismo. Sin embargo, algunas veces no es suficiente un cambio en el estilo de vida para evitar el desarrollo de enfermedades derivadas de la obesidad como son la diabetes tipo 2. Un mejor estudio de las causas y efectos de la acumulación de grasa en el organismo abriría nuevas posibilidades de prevención y/o tratamiento.

2.- OBJETIVO DEL ESTUDIO

Este proyecto pretende detectar moléculas claves en el desarrollo de inflamación y diabetes tipo 2 secundarios a la obesidad. Estos nuevos marcadores de salud

metabólica permitirían abrir nuevas opciones de prevención, diagnóstico y/o tratamiento.

3.- CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

Este proyecto pretende estudiar la sangre y/o la grasa de más de ochenta niños con y sin obesidad para compararlas y detectar las moléculas más relevantes relacionadas con la obesidad precoz. En el caso de su hijo/a, participar en este estudio no modifica el tratamiento quirúrgico que va a recibir. No deberá tomar ninguna medicación más allá de la que el médico le paute en relación con la cirugía ni prolongará su estancia en el hospital. Tampoco deberá acudir a más controles ambulatorios de los requeridos por la propia intervención.

4.- CONSENTIMIENTO

La participación en este estudio consistirá en la obtención de los datos y de las muestras biológicas que se indican a continuación:

- *Datos clínicos y antropométricos:*

Se recogerán los datos referentes a edad, sexo, antecedentes personales y tratamiento farmacológico, así como medidas antropométricas (peso, talla, circunferencias de cintura y cadera).

- *Datos socioeconómicos*:

Mediante un cuestionario cedido por la *Gasol Foundation* se recogerá información sobre su hijo/a entorno a los hábitos de alimentación y ejercicio, la calidad del sueño, el uso de pantallas tecnológicas y el estatus socioeconómico familiar.

-Determinaciones analíticas:

Se obtendrá una muestra de sangre en el momento de la cirugía. Esta muestra de sangre se consigue en el mismo acto de colocación de la vía venosa periférica por lo que no supondrá ningún daño añadido. Con esta muestra, nosotros determinaremos los niveles sanguíneos de varias moléculas con un papel importante en la obesidad.

5.- USO DE SU MUESTRA BIOLÓGICA

La muestra biológica y la información personal recogida de su hijo/a como parte del proyecto **Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases**, serán utilizados para la investigación sobre la obesidad y la diabetes tipo 2 que se lleva a cabo en el hospital Germans Trias i Pujol. Todos los estudios científicos que utilicen dicha muestra biológica primero deberán pasar por el Comité Ético y el Comité Científico de nuestra institución para supervisar la ética, la seguridad y la actividad científica de los mismos.

El tratamiento y uso de las muestras se realizará siguiendo lo especificado en la

Ley de Investigación Biomédica (14/2007), y el RD 1716/2011. Las muestras se almacenarán en las instalaciones del Hospital Germans Trias i Pujol, en congelador de -80ºC y -20ºC por un periodo de al menos 3 años. Algunas de estas muestras podrían utilizarse en un futuro para uso científico, y ser compartidas con otros grupos de investigación con fines únicamente científicos. Como se indica en este consentimiento, el paciente puede retirar la muestra del estudio en cualquier momento sin dar explicaciones.

6.- INFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Los estudios que se puedan incluir en el plan de investigación de nuestro proyecto no se hacen para diagnosticar una determinada enfermedad en una persona concreta, sino para profundizar en el mayor conocimiento del comportamiento de la grasa en situaciones de obesidad. Los tiempos de la investigación van a depender de los resultados que se vayan produciendo y no se corresponden con los tiempos de la atención clínica, generalmente más cortos. Aun así, los resultados obtenidos con este estudio podrían tener una aplicación clínica a corto-medio plazo identificando nuevas dianas terapéuticas para estas enfermedades.

En el caso de que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínicamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtener información relevante para su familia; si se produce esta situación, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo.

7.- PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

La participación en esta investigación es voluntaria. Si usted elige no participar, esta decisión no afectará la asistencia médica de su hijo/a.

Asimismo, usted puede retirar a su hijo/a del estudio en cualquier momento, sin dar explicaciones. En este caso, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos, y se procederá a la destrucción de las muestras identificables, previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

Para solicitar la destrucción de su muestra deberá contactar con el Dr. David Sánchez-Infantes o la Dra. Andrea Soria Gondek (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860).

8.- COSTE, RIESGOS, Y PROTECCIÓN FRENTE A DAÑOS

La extracción de las muestras no supondrá ningún coste económico para usted.

La intervención quirúrgica se realiza bajo anestesia general y por lo tanto, precisa de la colocación de una vía venosa periférica. La muestra de sangre se obtiene durante la colocación de dicha vía periférica por lo que no supone ningún acto añadido. El riesgo de una extracción de sangre es muy pequeño, pero puede conllevar molestias leves: dolor local, sangrado autolimitado, ansiedad frente a las agujas y, ocasionalmente, un pequeño hematoma residual al retirar la vía periférica. Se tomarán precauciones para evitar estos inconvenientes.

9.- BENEFICIOS

Aunque este proyecto no le promete ninguna ventaja directa para su hijo/a, usted contribuirá a una mayor comprensión de la obesidad. Además, los resultados de la futura investigación con muestras biológicas pueden ayudar a pacientes con la misma enfermedad, y al público en general.

10.- PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Se garantiza el cumplimiento de la normativa vigente de protección de datos (Ley orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de datos personales y garantía de derechos digitales, y Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, del 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que se refiere al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos; RGPD)).

Durante este estudio se generará información sensible y esta normativa quiere ayudar a evitar accesos involuntarios a esta información que podrían exponer a los pacientes, y a sus familias, a efectos adversos económicos, legales, psicológicos, y/o sociales.

A continuación se detalla la información que debe saber en cuanto al tratamiento de datos personales y su legislación.

El Hospital Universitari Germans Trias i Pujol es, en relación con el cumplimiento de la normativa de protección de datos personales, el responsable legal del tratamiento de estos datos en el marco del proyecto. Ello no implica que pueda tener acceso a la identidad de su hijo/a o al formulario de consentimiento informado, excepto por obligación legal (por ejemplo, si alguien presenta una reclamación ante la autoridad de control de protección de datos o ante un juez o tribunal).

De acuerdo con el Reglamento general de protección de datos personales de la Unión Europea, le informamos que los datos de contacto del Hospital Universitari

Germans Trias i Pujol son Carretera de Canyet, s/n, 08916 Badalona, Barcelona y 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860.

El delegado de protección de datos es la Dra. Andrea Soria Gondek (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860, asoriag.germanstrias@gencat.cat).

La finalidad del tratamiento de datos personales es la gestión y ejecución de este proyecto de investigación.

La base jurídica que hace licito el tratamiento de datos: Ley Orgánica 2/2023, de 22 de marzo, del Sistema Universitario, y la Ley 1/2003, de 19 de febrero, de Universidades de Cataluña.

Usted debe dar el consentimiento explícito para compartir los datos personales de su hijo/a considerados especiales (como la etnia o los datos relativos a la salud). Al igual que el resto de los datos, tienen derecho a retirarlo en cualquier momento, sin efectos retroactivos.

Usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de los datos; para ello, deberá contactar con el Investigador Principal del proyecto. Asimismo, puede solicitar la destrucción de las muestras. Estos derechos deberán ejercerse por escrito con un documento al que deberá adjuntarse una fotocopia del DNI del padre/madre/tutor legal solicitante.

Si considera que los derechos de su hijo/a no han sido adecuadamente atendidos, tiene derecho a presentar una reclamación ante la Autoridad Catalana de Protección de Datos (https://apdcat.gencat.cat/es/inici/index.html).

Para proteger la privacidad de su hijo/a, las muestras de sangre y/o grasa se identificarán con un código alfanumérico y serán pseudoanonimizados. Solamente los investigadores responsables del proyecto podrán conectarlos con el nombre de su hijo/a.

Igualmente, los datos personales de su hijo/a estarán identificados mediante un código, manteniendo así la confidencialidad de estos. Sólo los investigadores responsables del proyecto podrán conectarlos con el nombre de su hijo/a. En ningún momento su nombre, dirección, o cualquier otra información que le identifique será dada para los propósitos de la investigación.

El acceso a la información personal de su hijo/a quedará restringido a los investigadores del proyecto, las autoridades sanitarias y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de

estos de acuerdo con la legislación vigente.
El material biológico y los datos personales de su hijo/a serán almacenados hasta que el estudio esté concluido, y entonces será destruido. La decisión de terminar el estudio será tomada por los investigadores, siendo el plazo mínimo de 3 años.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

He sido informado de los riesgos o inconvenientes y de las posibles ventajas de la participación de mi hijo/a en el proyecto **Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases.** Entiendo:

1. Que no tenemos obligación de participar en este proyecto, y que la negativa a hacerlo no implicará ninguna pena o pérdida de los derechos que le corresponden a mi hijo/a.

2. Que puedo retirar las muestras en cualquier momento sin dar explicaciones.

3. Que los resultados de la investigación que utiliza la muestra biológica podrán ser publicados, pero mis datos personales no serán revelados a menos que sean requeridos por ley.

4. En caso de que haya problemas médicos o preguntas, me han comunicado que puedo llamar a los investigadores (Dr. David Sánchez-Infantes, Dra. Andrea Soria Gondek) al teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860.

5. Que puedo hacer cualquier pregunta en cualquier momento acerca de este proyecto.

6. El propósito del proyecto y como el material biológico será utilizado.

7. Mis derechos como padre/madre/tutor legal del paciente de la investigación, y voluntariamente consiento ceder el material biológico.

   - Declaro haber leído la información relativa al tratamiento de datos personales:

     ☐ Si ☐ No

   - Consiento el tratamiento de los datos personales especiales:

     ☐ Si ☐ No

- Deseo ser informado de los resultados clínicamente relevantes:

  ☐ Si ☐ No

- Accedo a que se me contacte en un futuro en el caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos inicialmente, o muestras biológicas adicionales.

  ☐ Si ☐ No

- ¿Desea incluir alguna restricción en el uso de las muestras biológicas?

  ☐ Si ☐ No

En caso afirmativo, ¿cuál? ……

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA LEÍDO Y ENTIENDE LA INFORMACIÓN ANTEDICHA, QUE USTED HA DISCUTIDO ESTE ESTUDIO CON LA PERSONA QUE OBTIENE ESTE CONSENTIMIENTO, QUE USTED HA DECIDIDO PARTICIPAR BASADO EN LA INFORMACIÓN PROPORCIONADA, Y QUE SE LE HA DADO A USTED UNA COPIA DE ESTE FORMULARIO.

	O	
Nombre y firma del paciente (mayores de 14 años)		Nombre y firma del familiar o Tutor (en caso necesario)

Fecha: _____ / _____ / _____

POR FAVOR, GUARDE UNA COPIA ÍNTEGRA DE ESTE FORMULARIO

Documento IV. Consentimiento informado cohorte médica

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

DATOS DEL ESTUDIO

Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases

Investigador Principal:
Dr. David Sánchez-Infantes
Dra. Marta Murillo Vallés

Responsable de Proyecto:
Dra. Marta Murillo Vallés
Dra. Aina Valls

Referencia: PI20/00807
Centro: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

Nos dirigimos a usted como tutor legal del niño/a para informarle sobre un proyecto de investigación en pediatría en el que se le invita a participar. Este proyecto ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de nuestro Centro.

Nuestra intención es que reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no incluir a su hijo/a en este proyecto. Para ello, lea esta hoja informativa con atención, y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Puede consultar con el Dr. David Sánchez-Infantes, la Marta Murillo Vallés o la Dra. Aina Valls, investigadores de este proyecto, y con las personas que considere oportuno.

1.- ANTECEDENTES

La obesidad es un problema de salud pública de primer orden, especialmente durante la edad pediátrica. El cambio en el estilo de vida, la realización de ejercicio y el seguimiento de una dieta saludable, tiene efectos positivos sobre el metabolismo. Sin embargo, algunas veces no es suficiente un cambio en el estilo de vida para evitar el desarrollo de enfermedades derivadas de la obesidad como son la diabetes tipo 2. Un mejor estudio de las causas y efectos de la acumulación de grasa en el organismo abriría nuevas posibilidades de prevención y/o tratamiento.

2.- OBJETIVO DEL ESTUDIO

Este proyecto pretende detectar moléculas claves en el desarrollo de inflamación y diabetes tipo 2 secundarios a la obesidad. Estos nuevos marcadores de salud

metabólica permitirían abrir nuevas opciones de prevención, diagnóstico y/o tratamiento.

3.- CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

Este proyecto pretende estudiar la sangre y/o la grasa de más de ochenta niños con y sin obesidad para compararlas y detectar las moléculas más relevantes relacionadas con la obesidad precoz. En el caso de su hijo/a, participar en este estudio no modifica el tratamiento que va a recibir. No deberá tomar ninguna medicación suplementaria ni deberá acudir a más controles ambulatorios de los normalmente requeridos.

4.- CONSENTIMIENTO

La participación en este estudio consistirá en la obtención, al inicio y seis meses después, de los datos y de las muestras biológicas que se indican a continuación:

- *Datos clínicos y antropométricos:*
Se recogerán los datos referentes a edad, sexo, antecedentes personales y tratamiento farmacológico, así como medidas antropométricas (peso, talla, circunferencias de cintura y cadera).
- *Datos socioeconómicos*:
Mediante un cuestionario cedido por la *Gasol Foundation* se recogerá información sobre su hijo/a entorno a los hábitos de alimentación y ejercicio, la calidad del sueño, el uso de pantallas tecnológicas y el estatus socioeconómico familiar.
-Determinaciones analíticas:
Se obtendrá una muestra de sangre durante la visita ambulatoria con su endocrinólogo. Esta analítica de sangre forma parte del protocolo de seguimiento habitual por lo que no supondrá ningún daño añadido. Con esta muestra, nosotros determinaremos los niveles sanguíneos de varias moléculas con un papel importante en la obesidad.

5.- USO DE SU MUESTRA BIOLÓGICA

La muestra biológica y la información personal recogida de su hijo/a como parte del proyecto **Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases**, serán utilizados para la investigación sobre la obesidad y la diabetes tipo 2 que se lleva a cabo en el hospital Germans Trias i Pujol. Todos los estudios científicos que utilicen dicha muestra biológica primero deberán pasar por el Comité Ético y el Comité Científico de nuestra institución para supervisar la ética, la seguridad y la actividad científica de los mismos.

El tratamiento y uso de las muestras se realizará siguiendo lo especificado en la Ley de Investigación Biomédica (14/2007), y el RD 1716/2011. Las muestras se almacenarán en las instalaciones del Hospital Germans Trias i Pujol, en congelador de -80ºC y -20ºC por un periodo de al menos 3 años. Algunas de estas muestras podrían utilizarse en un futuro para uso científico, y ser compartidas con otros grupos de investigación con fines únicamente científicos. Como se indica en este consentimiento, el paciente puede retirar la muestra del estudio en cualquier momento sin dar explicaciones.

6.- INFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Los estudios que se puedan incluir en el plan de investigación de nuestro proyecto no se hacen para diagnosticar una determinada enfermedad en una persona concreta, sino para profundizar en el mayor conocimiento del comportamiento de la grasa en situaciones de obesidad. Los tiempos de la investigación van a depender de los resultados que se vayan produciendo y no se corresponden con los tiempos de la atención clínica, generalmente más cortos. Aun así, los resultados obtenidos con este estudio podrían tener una aplicación clínica a corto-medio plazo identificando nuevas dianas terapéuticas para estas enfermedades.

En el caso de que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínicamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtener información relevante para su familia; si se produce esta situación, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo.

7.- PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

La participación en esta investigación es voluntaria. Si usted elige no participar, esta decisión no afectará la asistencia médica de su hijo/a.

Asimismo, usted puede retirar a su hijo/a del estudio en cualquier momento, sin dar explicaciones. En este caso, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos, y se procederá a la destrucción de las muestras identificables, previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

Para solicitar la destrucción de su muestra deberá contactar con el Dr. David Sánchez-Infantes, la Dra. Marta Murillo Vallés o la Dra. Aina Valls (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860).

6.- COSTE, RIESGOS, Y PROTECCIÓN FRENTE A DAÑOS

La extracción de las muestras no supondrá ningún coste económico para usted.

Como hemos mencionado anteriormente, la extracción de sangre ya está prevista en el protocolo de seguimiento de su hijo, por lo que no supondrá ningún daño añadido. El riesgo de una extracción de sangre es muy pequeño, pero puede conllevar molestias leves: dolor local, sangrado autolimitado, ansiedad frente a las agujas y, ocasionalmente, un pequeño hematoma residual. Se tomarán precauciones para evitar estos inconvenientes.

9.- BENEFICIOS

Aunque este proyecto no le promete ninguna ventaja directa para su hijo/a, usted contribuirá a una mayor comprensión de la obesidad. Además, los resultados de la futura investigación con muestras biológicas pueden ayudar a pacientes con la misma enfermedad, y al público en general.

10.- PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Se garantiza el cumplimiento de la normativa vigente de protección de datos (Ley orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de datos personales y garantía de derechos digitales, y Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, del 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que se refiere al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos; RGPD)).

Durante este estudio se generará información sensible y esta normativa quiere ayudar a evitar accesos involuntarios a esta información que podrían exponer a los pacientes, y a sus familias, a efectos adversos económicos, legales, psicológicos, y/o sociales.

A continuación se detalla la información que debe saber en cuanto al tratamiento de datos personales y su legislación.

El Hospital Universitari Germans Trias i Pujol es, en relación con el cumplimiento de la normativa de protección de datos personales, el responsable legal del tratamiento de estos datos en el marco del proyecto. Ello no implica que pueda tener acceso a la identidad de su hijo/a o al formulario de consentimiento informado, excepto por obligación legal (por ejemplo, si alguien presenta una reclamación ante la autoridad de control de protección de datos o ante un juez o tribunal).

De acuerdo con el Reglamento general de protección de datos personales de la Unión Europea, le informamos que los datos de contacto del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol son Carretera de Canyet, s/n, 08916 Badalona, Barcelona y 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860.

El delegado de protección de datos es la Dra. Andrea Soria Gondek (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860, asoriag.germanstrias@gencat.cat).

La finalidad del tratamiento de datos personales es la gestión y ejecución de este proyecto de investigación.

La base jurídica que hace licito el tratamiento de datos: Ley Orgánica 2/2023, de 22 de marzo, del Sistema Universitario, y la Ley 1/2003, de 19 de febrero, de Universidades de Cataluña.

Usted debe dar el consentimiento explícito para compartir los datos personales de su hijo/a considerados especiales (como la etnia o los datos relativos a la salud). Al igual que el resto de los datos, tienen derecho a retirarlo en cualquier momento, sin efectos retroactivos.

Usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de los datos; para ello, deberá contactar con el Investigador Principal del proyecto. Asimismo, puede solicitar la destrucción de las muestras. Estos derechos deberán ejercerse por escrito con un documento al que deberá adjuntarse una fotocopia del DNI del padre/madre/tutor legal solicitante.

Si considera que los derechos de su hijo/a no han sido adecuadamente atendidos, tiene derecho a presentar una reclamación ante la Autoridad Catalana de Protección de Datos (https://apdcat.gencat.cat/es/inici/index.html).

Para proteger la privacidad de su hijo/a, las muestras de sangre y/o grasa se identificarán con un código alfanumérico y serán pseudoanonimizados. Solamente los investigadores responsables del proyecto podrán conectarlos con el nombre de su hijo/a.

Igualmente, los datos personales de su hijo/a estarán identificados mediante un código, manteniendo así la confidencialidad de estos. Sólo los investigadores responsables del proyecto podrán conectarlos con el nombre de su hijo/a. En ningún momento su nombre, dirección, o cualquier otra información que le identifique será dada para los propósitos de la investigación.

El acceso a la información personal de su hijo/a quedará restringido a los investigadores del proyecto, las autoridades sanitarias y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de estos de acuerdo con la legislación vigente.

El material biológico y los datos personales de su hijo/a serán almacenados hasta que el estudio esté concluido, y entonces será destruido. La decisión de terminar el estudio será tomada por los investigadores, siendo el plazo mínimo de 3 años.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

He sido informado de los riesgos o inconvenientes y de las posibles ventajas de la participación de mi hijo/a en el proyecto **Unravelling childhood obesity: a new perspective on lipid storage and utilization and their role in the development of metabolic diseases.** Entiendo:

1. Que no tenemos obligación de participar en este proyecto, y que la negativa a hacerlo no implicará ninguna pena o pérdida de los derechos que le corresponden a mi hijo/a.

2. Que puedo retirar las muestras en cualquier momento sin dar explicaciones.

3. Que los resultados de la investigación que utiliza la muestra biológica podrán ser publicados, pero mis datos personales no serán revelados a menos que sean requeridos por ley.

4. En caso de que haya problemas médicos o preguntas, me han comunicado que puedo llamar al Dr. David Sánchez-Infantes, la Dra. Marta Murillo Vallés o la Dra. Aina Valls (teléfono 930330518 o 93.245.12.60 ext. 8860).

5. Que puedo hacer cualquier pregunta en cualquier momento acerca de este proyecto.

6. El propósito del proyecto y como el material biológico será utilizado.

7. Mis derechos como padre/madre/tutor legal del paciente de la investigación, y voluntariamente consiento ceder el material biológico.

   - Declaro haber leído la información relativa al tratamiento de datos personales:

     ☐ Si ☐ No

   - Consiento el tratamiento de los datos personales especiales:

     ☐ Si ☐ No

   - Deseo ser informado de los resultados clínicamente relevantes:

     ☐ Si ☐ No

- Accedo a que se me contacte en un futuro en el caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos inicialmente, o muestras biológicas adicionales.

  ☐ Si ☐ No

- ¿Desea incluir alguna restricción en el uso de las muestras biológicas?

  ☐ Si ☐ No

En caso afirmativo, ¿cuál? ……

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA LEÍDO Y ENTIENDE LA INFORMACIÓN ANTEDICHA, QUE USTED HA DISCUTIDO ESTE ESTUDIO CON LA PERSONA QUE OBTIENE ESTE CONSENTIMIENTO, QUE USTED HA DECIDIDO PARTICIPAR BASADO EN LA INFORMACIÓN PROPORCIONADA, Y QUE SE LE HA DADO A USTED UNA COPIA DE ESTE FORMULARIO.

	O	
Nombre y firma del paciente (mayores de 14 años)		Nombre y firma del familiar o Tutor (en caso necesario)

Fecha: _____ / _____ / _____

POR FAVOR, GUARDE UNA COPIA ÍNTEGRA DE ESTE FORMULARIO

Documento V. Cuestionarios

CUESTIONARIO HÁBITOS ACTIVIDAD FÍSICA NIÑOS/AS

Piensa en tu última semana, los últimos 7 días. Señala con una cruz "X" tu respuesta para cada una de las preguntas. No dejes en blanco ninguna pregunta.

1) ¿Qué días de la semana vas a **caminar**? (Para ir a la escuela/instituto por la mañana, por la tarde después de la escuela/instituto, fines de semana, excursión caminando). Piensa en cualquier desplazamiento a pie. Más o menos, ¿**cuánto tiempo caminas** cada uno de los días?

		lunes	**martes**	**miércoles**	**jueves**	**viernes**	**sábado**	**domingo**
¿Cuánto tiempo has caminado?	0 minutos. No hice actividad.							
	Menos de 30 minutos							
	Entre 30 minutos - 1 hora							
	Entre 1 hora - 1 hora y 30 minutos							
	Más de 1 hora y 30 minutos							

2) A la **hora de recreo en la escuela/instituto** (patio media mañana o patio mediodía), ¿qué días has jugado a **juegos que implican movimiento**, **correr o saltar**? (deportes, pilla-pilla, saltar a la cuerda). Y más o menos, ¿**cuánto tiempo** cada uno de los días? (Sumando patio media mañana y patio medio día).

		lunes	**martes**	**miércoles**	**jueves**	**viernes**
¿Cuánto tiempo has jugado a juegos con movimiento?	0 minutos. No hice actividad.					
	Menos de 30 minutos					
	Entre 30 minutos - 1 hora					
	Entre 1 hora - 1 hora y 30 minutos					
	Más de 1 hora y 30 minutos					

3) ¿Qué días has hecho **clase de educación física** en la escuela/instituto?

	lunes	**martes**	**miércoles**	**jueves**	**viernes**	**No hice Educación Física**
¿Qué días has hecho educación física?						

4) ¿Qué días has jugado a **deportes de equipo** en un **club o en una actividad extraescolar**? (fútbol, baloncesto, balonmano, hockey, waterpolo). Piensa en los **entrenamientos y los partidos**. Y más o menos, ¿**cuánto tiempo** cada uno de los días?

		lunes	**martes**	**miércoles**	**jueves**	**viernes**	**sábado**	**domingo**
¿Cuánto tiempo has jugado a deportes de equipo?	0 minutos. No hice actividad.							
	Menos de 30 minutos							
	Entre 30 minutos - 1 hora							
	Entre 1 hora - 1 hora y 30 minutos							
	Más de 1 hora 30 minutos							

5) ¿Qué días has jugado a **deportes individuales** en un **club o en una actividad extraescolar**? (atletismo, gimnasia rítmica, danza-ballet, tenis, Judo-Karate-Taekwondo, patinaje, natación, etc.). Piensa en los **entrenamientos y las competiciones**. Y más o menos, ¿**cuánto tiempo** cada uno de los días?

		lunes	**martes**	**miércoles**	**jueves**	**viernes**	**sábado**	**domingo**
¿Cuánto tiempo has jugado a deportes individuales ?	0 minutos. No hice actividad.							
	Menos de 30 minutos							
	Entre 30 minutos - 1 hora							
	Entre 1 hora - 1 hora y 30 minutos							
	Más de 1 hora 30 minutos							

6) A parte de los deportes de equipo e individuales, después de la escuela/instituto o el fin de semana (en tu tiempo libre), qué días has jugado a juegos que implican **movimiento, correr o saltar** (pilla-pilla, cuerda, bicicleta, patinar). Y más o menos, ¿**cuánto tiempo** cada uno de los días?

		lunes	**martes**	**miércoles**	**jueves**	**viernes**	**sábado**	**domingo**
¿Cuánto tiempo has jugado a juegos con movimiento?	0 minutos. No hice actividad.							
	Menos de 30 minutos							
	Entre 30 minutos - 1 hora							
	Entre 1 hora - 1 hora y 30 minutos							
	Más de 1 hora y 30 minutos							

7) ¿**Esta última semana estuviste enfermo/a** (resfriado/a, dolor en la pierna, etc.) o **algo no te dejó hacer las actividades como haces normalmente?**

sí	
no	

Si tu respuesta es SÍ, ¿qué pasó?:

_____

CUESTIONARIO HÁBITOS DE ALIMENTACIÓN

Para empezar, piense en la **alimentación habitual de su hijo / hija**.

Marque con una X la respuesta más adecuada.	(1) **Sí**	(0) **No**
1. Se salta el desayuno		
2. Desayuna un lácteo (leche, yogur, etc.)		
3. Desayuna un cereal (cereales de desayuno, pan, etc.)		
4. Desayuna bollería industrial, galletas o pastelitos.		
5. Toma una fruta o un zumo de fruta natural cada día		
6. Toma una segunda fruta todos los días		
7. Toma un lácteo en otro momento que no sea el desayuno (leche, yogur, etc.)		
8. Toma verduras frescas o cocinadas una vez al día		
9. Toma verduras frescas o cocinadas más de una vez al día		
10. Toma pescado como mínimo 2 ó 3 veces a la semana		
11. Come una vez o más a la semana en un centro de comida rápida (*Mc Donalds, Burger King*, etc.)		
12. Come nueces y semillas como mínimo 2 ó 3 veces a la semana (nueces, almendras, avellanas, semillas de girasol etc.)		
13. Le gusta comer legumbres y comes más de una vez a la semana (lentejas, garbanzos, judías blancas, habas, etc.)		
14. Toma dulces y golosinas varias veces al día		
15. Toma pasta o arroz casi a diario (5 o más veces / semana)		
16. Utiliza aceite de oliva en su casa		

Índice que mide el nivel de adherencia a la dieta mediterránea.

Serra-Majem Ll, Ribas L, Ngo J, Ortega RM, García A, Pérez-Rodrigo C, Aranceta J Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. Public Health Nutr. 2004; 7(7): 931-5.

Piense en **una semana habitual**, e indica para cada día de la semana, cuál de las siguientes comidas **hace su hijo/a** con **uno o más adultos de vuestra familia** (incluyéndose a usted)?

	Nunca	**Lunes**	**Martes**	**Miércoles**	**Jueves**	**Viernes**	**Sábado**	**Domingo**
Desayuno								
Comida mediodía								
Cena								

CUESTIONARIO HORAS DEDICADAS A PANTALLAS

Piense en el **tiempo aproximado** que **su hijo/a dedica** a cada una de las **siguientes actividades**. Piense en un **día habitual de entre semana y del fin de semana**.

Marque con una X la respuesta correcta.

1. ¿Cuánto tiempo suele ver la **televisión/vídeo/DVD al día**?

	(0) Nada en absoluto	*(1) 0-30 minutos por día*	*(2) 30-60 minutos por día*	*(3) 1-2 horas por día*	*(4) 2-3 horas por día*	*(5) + de 3 horas por día*
Entre semana						
Sábado/domingo						

2. ¿Cuánto tiempo suele **usar el ordenador** (para navegar por Internet, chatear, practicar juegos interactivos, etc.) **al día**?

	(0) Nada en absoluto	*(1) 0-30 minutos por día*	*(2) 30-60 minutos por día*	*(3) 1-2 horas por día*	*(4) 2-3 horas por día*	*(5) + de 3 horas por día*
Entre semana						
Sábado/domingo						

3. ¿Cuánto tiempo suele **usar videojuegos** (portátil o para usar con el televisor) **al día**?

	(0) Nada en absoluto	*(1) 0-30 minutos por día*	*(2) 30-60 minutos por día*	*(3) 1-2 horas por día*	*(4) 2-3 horas por día*	*(5) + de 3 horas por día*
Entre semana						
Sábado/domingo						

4. ¿Cuánto tiempo suele **usar el teléfono móvil al día**?

	(0) Nada en absoluto	*(1) 0-30 minutos por día*	*(2) 30-60 minutos por día*	*(3) 1-2 horas por día*	*(4) 2-3 horas por día*	*(5) + de 3 horas por día*
Entre semana						
Sábado/domingo						

Screen time-based Sedentary Behaviour Questionnaire.

Rey-López JP, Ruiz JR, Ortega FB, Verloigne M, Vicente-Rodriguez G, Gracia-Marco L, Gottrand F, Molnar D, Widhalm K, Zaccaria M, Cuenca-García M, Sjöström M, De Bourdeaudhuij I, Moreno LA; HELENA Study Group. Reliability and validity of a screen time- based sedentary behaviour questionnaire for adolescents: The HELENA study. Eur J Public Health. 2012; 22(3): 373-7.

CUESTIONARIO HORAS DE SUEÑO

Piense en **una semana habitual de su hijo/a**:

1. ¿A qué hora **se va a la cama** en los días de **entre semana** (lunes a viernes)?

____ ____ / ____ ____
h h m m

2. ¿A qué hora **se levanta** en los días de **entre semana** (lunes a viernes)?

____ ____ / ____ ____
h h m m

3. ¿A qué hora **se va a la cama** el **fin de semana** (sábado y domingo)?

____ ____ / ____ ____
h h m m

4. ¿A qué **hora se levanta** el **fin de semana** (sábado y domingo)?

____ ____ / ____ ____
h h m m

Sleep Habits Survey for Adolescents.

Wolfson AR, Carskadon MA, Acebo C, Seifer R, Fallone G, Labyak SE, Martin JL.Evidence for the validity of a sleep habits survey for adolescents. Sleep. 2003; 26(2): 213-6.

CUESTIONARIO CALIDAD DEL SUEÑO

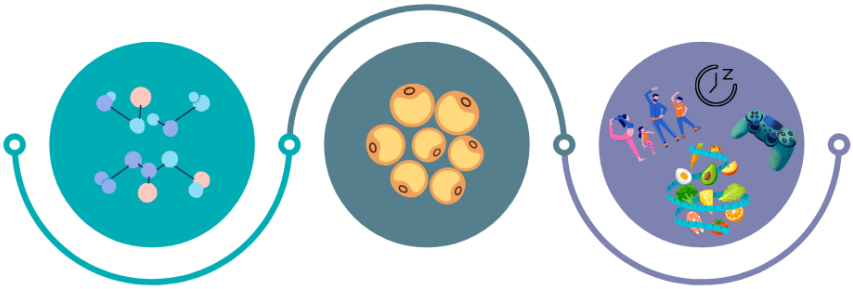
Ahora le pedimos que piense en la **calidad del sueño de su hijo/a**:

	(1) **Sí**	(0) **No**
5. ¿Su hijo/a tiene algún **problema a la hora de acostarse**?		
6. ¿Su hijo/a tiene algún **problema para quedarse dormido**?		
7. ¿Su hijo/a **le cuesta despertarse por las mañanas**, parece adormitado durante el día o duerme siestas?		
8. ¿Su hijo/a parece que se **despierte mucho durante la noche**?		
9. ¿Tiene **sonambulismo o pesadillas**?		
10. ¿Crees que está **durmiendo lo suficiente**?		
11. ¿Su hijo/a **ronca fuerte** por las noches o tiene **dificultad para respirar**?		

Cuestionario de calidad del sueño.

Owens J.A. & Dalzell V. Use of the "BEARS" sleep screening tool in a pediatric residents continuity clinic: a pilot study. Sleep Medicine. 2005; 6: 63–69.

RESULTADOS



RESULTADOS

1 Objetivo 1: Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso

1.1 Cohorte pediátrica

1.1.1 Clínica

Los cambios en el estilo de vida resultantes de la intervención conductual se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Resumen de los cambios en el estilo de vida después de 6 meses de intervención conductual en la cohorte pediátrica

Registro del picoteo descontrolado (*out of control snacking*), del consumo de azúcar (*sugar craving*), de la introducción de alimentos saludables (*introduction oh healthy nutrients*) y del ejercicio físico (*exercise,* 2 a 3 veces por semana, al menos 30 minutos). Las conductas saludables se resaltan en verde, mientras que las no saludables se destacan en rojo (187).

			T0				T6			
ID	Gender	Age (Age; Months)	Out of control snacking	Sugar craving	Introduction of healthy nutrients	Exercise	Out of control snacking	Sugar craving	Introduction of healthy nutrients	Exercise
1	Male	11;6	no	no	partial	no	no	no	partial	no
2	Male	13	yes	yes	no	yes	yes	yes	no	yes
3	Female	14;5	yes	yes	yes	no	no	no	yes	yes
4	Male	17;9	no	no	partial	no	no	no	partial	yes
5	Female	17;1	yes	yes	partial	no	no	no	partial	no
6	Male	15;1	no	yes	no	no	yes	no	yes	yes
7	Male	13;9	no	no	no	no	no	no	partial	no
8	Male	10;2	yes	no	partial	no	no	no	partial	yes
9	Female	14;1	yes	yes	no	no	no	no	yes	yes
10	Male	13;6	yes	yes	yes	no	yes	yes	no	yes

Al inicio del tratamiento, 7 pacientes presentaban un IMC por encima del percentil 99, 2 por encima del percentil 98 y 1 por encima del percentil 97. Al final del tratamiento, 6 pacientes tenían un IMC por encima del percentil 99, 2 por encima del percentil 98, 1 por encima del percentil 97 y 1 por encima del percentil 92. Los niveles de LDL-c disminuyeron significativamente (114,9 *vs.* 105,4, p = 0,04). El resto de las variables clínicas alteradas inicialmente como el peso, la circunferencia de cintura, el FLI, el IMC y el HOMA-IR disminuyeron después de la intervención, aunque no de forma significativa (Tabla 7). No se observaron asociaciones dependientes de la edad o el sexo en esta cohorte.

Tabla 7. Características antropométricas y clínicas de la cohorte pediátrica antes (T0) y después (T6) de la intervención conductual

Las variables cuantitativas se expresan como media y desviación estándar, las cualitativas en frecuencia absoluta (n) y relativa (%). Las casillas verdes señalan significancia estadística (187). *IMC:* índice de masa corporal; *HbA1c:* hemoglobina glicada; *HOMA-IR: homeostatic model assessment,* modelo para evaluar la resistencia a la insulina; *FLI: Fatty liver index,* < 30 baja probabilidad, 30 – 59 probabilidad intermedia, > 60 alta probabilidad de esteatosis.

	Cohorte pediátrica (n= 10)		
	n (%)		
Género masculino	7 (70)		
	media (ds)		
Edad (años)	14 (2,3)		
	media (ds)	media (ds)	p-valor
	T0	T6	
Altura (cm)	160 (10)	160 (10)	0,72
Peso (kg)	86 (21,3)	83,5 (22,1)	0,42
Circunferencia cintura (cm)	111,6 (11)	110 (14)	0,86
IMC (kg/m^2)	34 (5,5)	33,1 (6,1)	0,36
IMC Rango	(27,5 - 43,3)	(25,8 - 42,8)	
Glucosa (mg/dL)	88,1 (5,7)	87,6 (4,8)	1
Insulina (mUI/L)	17,6 (7)	16,5 (6)	0,85
HbA1c (mmol/mol)	33,3 (1,3)	33,3 (1,3)	0,75
HOMA-IR	3,9 (1,7)	3,5 (1,3)	0,56
Urea (mg/dL)	27,1 (4)	27,6 (6,5)	0,65
Creatinina (mg/dL)	0,6 (0,1)	0,7 (0,1)	0,15
AST (UI/L)	24,8 (10,2)	24,5 (7,8)	1
ALT (UI/L)	33,1 (30,3)	23,6 (19,6)	0,19
GGT (UI/L)	16,8 (4,0)	16,5 (3,1)	0,76
TG (mg/dL)	119,4 (53,2)	103,3 (33,6)	0,23
LDL-c (mg/dL)	114,9 (28,6)	105,4 (24,2)	**0,04**
HDL-c (mg/dL)	43,9 (9,7)	45,4 (8,7)	0,39
Colesterol (mg/dL)	177,2 (38,6)	171,1 (32,1)	0,44
Proteína total (g/L)	73,4 (4,1)	74,8 (4,5)	0,72
FLI *(Fatty Liver Index)*	79,2 (16,0)	75,7 (18,7)	0,29

Por otra parte, se detectó una reducción significativa en los niveles de marcadores inflamatorios TNF-α, MCP-1 e IL6 pero no en los niveles de adipocinas (Figura 18).

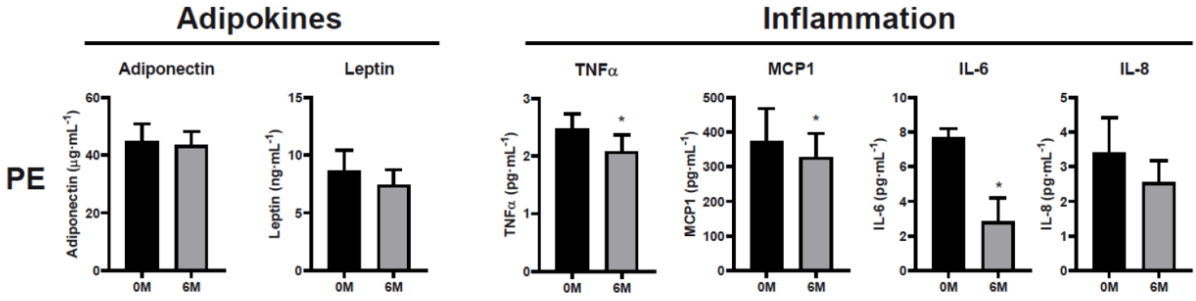


Figura 18. Niveles de adipocinas y biomarcadores inflamatorios después de intervención conductual en la cohorte pediátrica

Los datos mostrados son medias ± error estándar de la media. Se comparan TNF-α (factor de necrosis tumoral alfa), MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos-1), IL8 (interleucina-8) e IL6 (interleucina-6). *: $p < 0,05$ (187).

1.1.2 Lipidómica

En cuanto a los niveles circulantes de lípidos, se observaron cambios significativos después de la intervención conductual. La figura 19 muestra las 71 especies lipídicas cuyas concentraciones en suero cambiaron significativamente, 15 al alza y 56 a la baja. Las familias lipídicas que más se incrementaron fueron los glicerofosfolípidos, glicerofosfoinositoles y fosfatidilinositoles mientras que las familias que más disminuyeron fueron los glicerofosfolípidos, glicerofosfoserinas y O-fosfatidilserinas (Figura 20). Específicamente, PI(37:4), SM(41:0), SM(39:1), SM(34:2) y CE(22:6) fueron los lípidos cuyos niveles circulantes más aumentaron, mientras que PS(O-36:3), PS(38:4), PS(O-38:5), PG(44:0) y DG(44:9) fueron los que más se redujeron (Figura 21). Los cambios en los lípidos circulantes fueron independientes de la reducción del IMC (Tabla 8). El análisis de rutas metabólicas detectó la activación de la biosíntesis de PI a partir de PA (Figura 22).

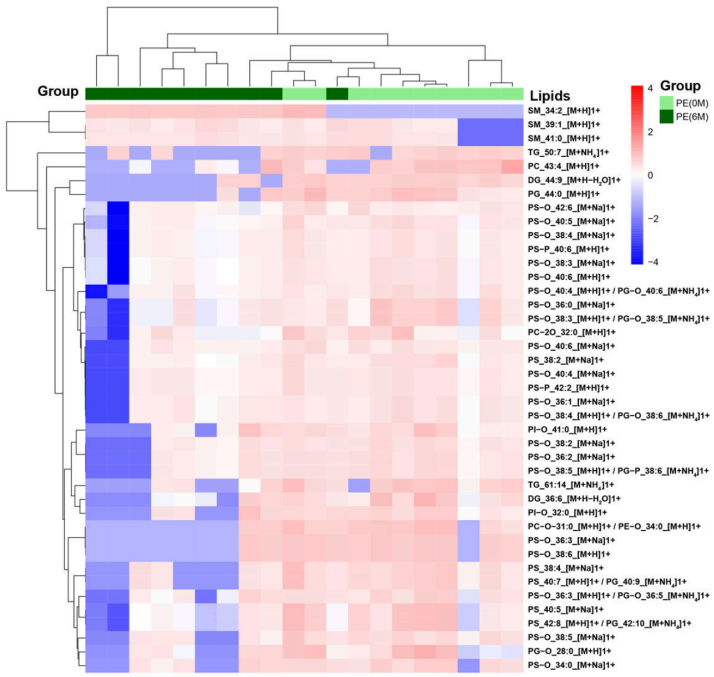


Figura 19. Heatmap. Especies lipídicas significativamente reguladas antes y después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica

Los colores de las casillas representan la intensidad de expresión lipídica. Los tonos azules indican menores niveles de concentración, mientras que los tonos rojos señalan niveles mayores. Los cuadros verde claro representan las muestras tomadas al inicio (0M) y los verde oscuro las muestras tomadas a los 6 meses de la intervención (6M) (187).

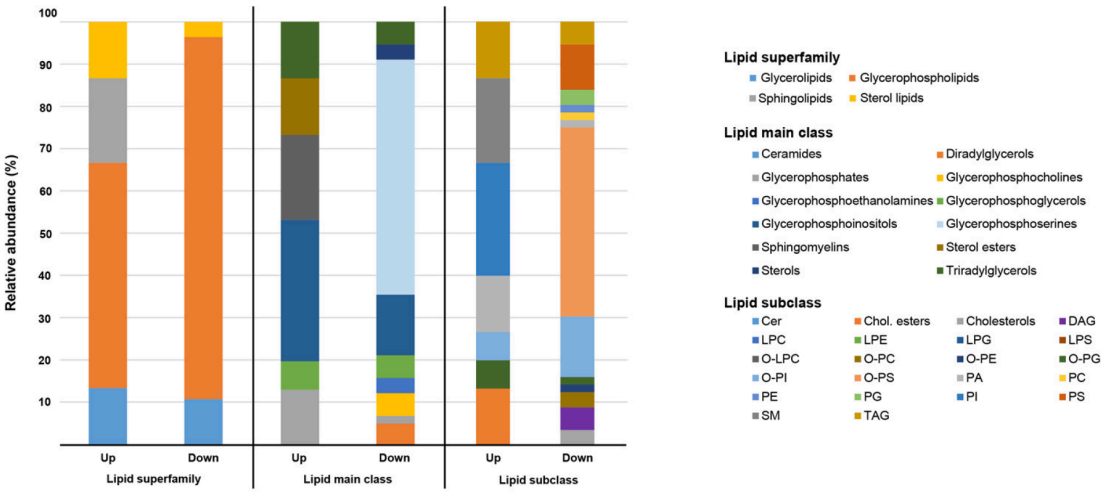


Figura 20. Abundancia relativa de las especies lipídicas reguladas después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica

Clasificadas por superfamilias (izquierda), clases principales (centro) y subclases (derecha) (187).

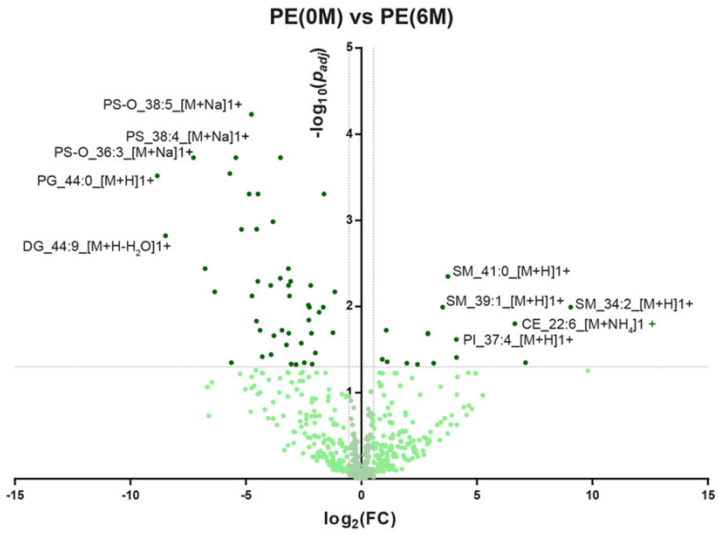
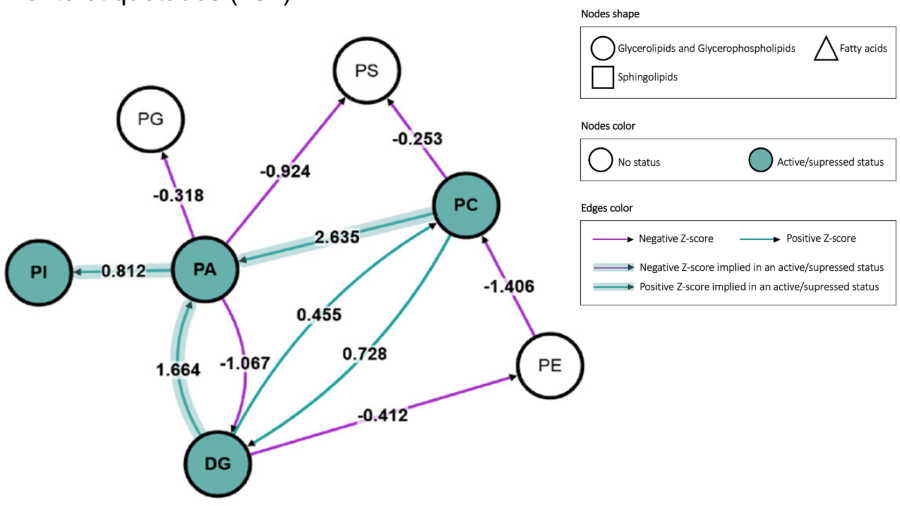


Figura 21. Gráfico de volcán. Especies lipídicas reguladas después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica

Los lípidos se muestran en un tono verde oscuro cuando el p-valor ajustado es < 0,01, y el cambio absoluto de magnitud logarítmica es > 0,5 unidades. Los lípidos más significativos y regulados están específicamente etiquetados (187).



Reactions chains	Z-score	Predicted genes
PC→PA→PI	2.437	*PLD1, PLD2, CDS1, CDIPT*
DG→PA→PI	1.751	*DGKA, DGKB, DGKD, DGKE, DGKG, DGKH, DGKI, DGKK, DGKQ, DGKZ, CDS1, CDIPT*

Figura 22. Vía de activación de la biosíntesis de fosfatidilinositol a partir de ácido fosfatídico derivado de diacilglicéridos o fosfatidilcolina en la cohorte pediátrica

En cada flecha se indica la medida del efecto (valores de Z-score). Las vías reguladas de manera significativa están marcadas con una flecha sombreada. Para cada vía activada, se incluye una tabla que muestra los pasos metabólicos específicamente activados, el Z-score asociado y los genes involucrados en cada paso (187).

Tabla 8. Análisis de regresión logística multivariante ajustado por edad y sexo que evalúa la relación entre los niveles circulantes de las especies lipídicas significativamente aumentadas o disminuidas tras la intervención conductual y la reducción exitosa del índice de masa corporal (sí, n = 4; no, n = 6) en la cohorte pediátrica.

Se muestran el R^2 de Cox-Snell de los modelos de regresión múltiple y el p valor. Las asociaciones se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Lipid species	Cox-Snell R^2	*p*-value
DG 36:6; [M+H-H2O]1+	0.215	0.572
DG 44:9; [M+H-H2O]1+	0.293	0.235
PC 43:4; [M+H]1+	0.143	0.707
PC-O-31:0; [M+H]1+ / PE-O 34:0; [M+H]1+	0.229	0.314
PG 44:0; [M+H]1+	0.190	0.415
PG-O 28:0; [M+H]1+	0.182	0.447
PI-O 32:0; [M+H]1+	0.198	0.477
PI-O 41:0; [M+H]1+	0.151	0.632
PS 38:2; [M+Na]1+	0.131	0.945
PS 38:4; [M+Na]1+	0.299	0.220
PS 40:7; [M+H]1+ / PG 40:9; [M+NH4]1+	0.289	0.199
PS-O 34:0; [M+Na]1+	0.239	0.290
PS-O 36:1; [M+Na]1+	0.242	0.380
PS-O 36:2; [M+Na]1+	0.137	0.782
PS-O 36:3; [M+H]1+ / PG-O 36:5; [M+NH4]1+	0.248	0.282
PS-O 36:3; [M+Na]1+	0.258	0.274
PS-O 38:2; [M+Na]1+	0.590	0.241
PS-O 38:4; [M+H]1+ / PG-O 38:6; [M+NH4]1+	0.242	0.380
PS-O 38:5; [M+H]1+ / PG-P 38:6; [M+NH4]1+	0.137	0.782
PS-O 38:5; [M+Na]1+	0.188	0.430
PS-O 38:6; [M+H]1+	0.258	0.274
PS-O 40:4; [M+Na]1+	0.349	0.285
PS-O 40:6; [M+Na]1+	0.182	0.499
PS-P 42:2; [M+H]1+	0.348	0.285
SM 34:2; [M+H]1+	0.460	0.179
SM 39:1; [M+H]1+	0.154	0.600
SM 41:0; [M+H]1+	0.113	0.878
TG 50:7; [M+NH4]1+	0.446	0.168
TG 61:14; [M+NH4]1+	0.232	0.309

1.1.3 Correlación entre clínica y lipidómica

Los análisis de correlación revelaron asociaciones entre la regulación de diferentes lípidos y parámetros clínicos como el peso, IMC, circunferencia de cintura, insulina, colesterol, TG, LDL-c, función renal y marcadores hepáticos (Figura 23, tabla 9). Al inicio (0M), se detectó una asociación negativa entre la circunferencia de cintura y los niveles de adiponectina, y una asociación positiva entre la insulina, el HOMA-IR, los TG y los niveles de TNF-α. A los 6 meses (6M), se identificó una relación proporcional entre los TG y los niveles de TNF-α, y una relación inversamente proporcional entre el HDL-c y los niveles de IL8 (Tabla 10). No se observaron correlaciones significativas entre la variación del FLI y los lípidos seleccionados (Figura 24). Sin embargo, sí se encontraron abundantes asociaciones positivas entre FLI y algunas especies detectables de DAG. Dichas correlaciones muestran un patrón diferencial después de los 6 meses de intervención, favoreciendo las asociaciones con especies de cadena más larga (Tabla 11).

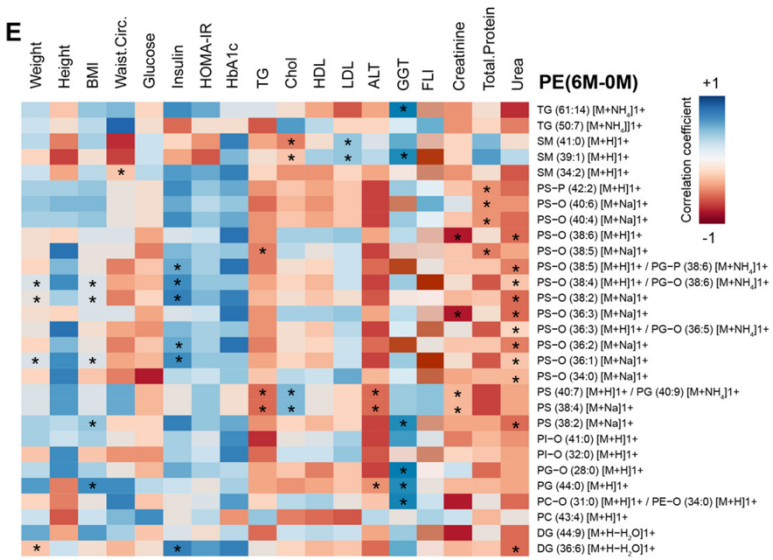


Figura 23. Heatmap. Correlación entre variables clínicas y lípidos significativamente regulados después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica

Las celdas azules indican asociaciones positivas (r > 0) y las celdas rojas indican asociaciones negativas (r < 0). *: Correlaciones significativas (p < 0,05) (187).

Tabla 9. Correlaciones significativas entre los cambios en variables clínicas y los lípidos diferencialmente regulados después de la intervención conductual en la cohorte pediátrica

Índices de correlación entre los lípidos y las variables clínicas preseleccionadas. Se calcularon los p-valores ajustados por edad y sexo y las tasas de detección falsa (FDR, *False Discovery Rate*) para cada correlación (187).

Expression Pattern	Subclass	Lipid Species	Clinical Variable	Correlation Coefficient	*p*-Value	FDR
		PE (6 M-0 M)				
Upregulated	SM	SM (39:1) [M+H]1+	Chol	0.6848	0.0289	0.1430
		SM (41:0) [M+H]1+	Chol	0.8303	0.0029	0.0410
		SM (39:1) [M+H]1+	LDL	0.7356	0.0153	0.1046
		SM (41:0) [M+H]1+	LDL	0.8389	0.0024	0.0365
		SM (34:2) [M+H]1+	Waist Circ.	−0.8857	0.0188	0.1108
Downregulated	O-PS	PS-O (36:1) [M+Na]1+	BMI	0.6833	0.0424	0.1821
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	BMI	0.6778	0.0448	0.1864
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	BMI	0.6833	0.0424	0.1821
		PS-O (36:1) [M+Na]1+	Weight	0.7667	0.0159	0.1057
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	Weight	0.7448	0.0213	0.1206
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	Weight	0.7667	0.0159	0.1057
		PS-O (36:2) [M+Na]1+	Insulin	0.6442	0.0444	0.1854
		PS-O (36:1) [M+Na]1+	Insulin	0.6809	0.0302	0.1452
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	Insulin	0.6809	0.0302	0.1452
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	Insulin	0.7301	0.0165	0.1082
		PS-O (38:5) [M+H]1+/PG-P (38:6) [M+NH4]1+	Insulin	0.6442	0.0444	0.1854
		PS-O (34:0) [M+Na]1+	Urea	−0.7150	0.0201	0.1158
		PS-O (36:1) [M+Na]1+	Urea	−0.7256	0.0175	0.1108
		PS-O (36:2) [M+Na]1+	Urea	−0.8923	0.0005	0.0131
		PS-O (36:3) [M+H]1+/PG-O (36:5) [M+NH4]1+	Urea	−0.7323	0.0160	0.1057
		PS-O (36:3) [M+Na]1+	Urea	−0.7330	0.0159	0.1057
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	Urea	−0.9354	0.0001	0.0030
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	Urea	−0.7256	0.0175	0.1108
		PS-O (38:5) [M+H]1+/PG-P (38:6) [M+NH4]1+	Urea	−0.8923	0.0005	0.0131
Downregulated	O-PS	PS-O (38:6) [M+H]1+	Urea	−0.7330	0.0159	0.1057
		PS-O (36:3) [M+Na]1+	Creatinine	−0.6507	0.0416	0.1806
		PS-O (38:6) [M+H]1+	Creatinine	−0.6507	0.0416	0.1806
		PS-O (38:5) [M+Na]1+	TG	−0.6868	0.0283	0.1413
		PS-O (38:5) [M+Na]1+	Total Protein	−0.7254	0.0176	0.1108
		PS-O (40:4) [M+Na]1+	Total Protein	−0.9179	0.0002	0.0060
		PS-O (40:6) [M+Na]1+	Total Protein	−0.7720	0.0089	0.0707
		PS-P (42:2) [M+H]1+	Total Protein	−0.9179	0.0002	0.0060
	PS	PS (38:2) [M+Na]1+	BMI	0.7000	0.0358	0.1639
		PS (38:2) [M+Na]1+	Urea	−0.7561	0.0114	0.0868
		PS (38:4) [M+Na]1+	ALT	−0.7241	0.0274	0.1383
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	ALT	−0.7241	0.0274	0.1383
		PS (38:4) [M+Na]1+	Chol	−0.6659	0.0356	0.1637
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	Chol	−0.6659	0.0356	0.1637
		PS (38:4) [M+Na]1+	Creatinine	−0.7393	0.0146	0.1008
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	Creatinine	−0.7393	0.0146	0.1008
		PS (38:4) [M+Na]1+	TG	−0.7847	0.0072	0.0622
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	TG	−0.7847	0.0072	0.0622
	DG	DG (36:6) [M+H-H_2O]1+	Insulin	0.7128	0.0207	0.1183
		DG (36:6) [M+H-H_2O]1+	Weight	0.7120	0.0314	0.1503
		DG (36:6) [M+H-H_2O]1+	Urea	−0.8655	0.0012	0.0250
	PG	PG (44:0) [M+H]1+	BMI	0.6832	0.0425	0.1821
		PG (44:0) [M+H]1+	ALT	−0.7250	0.0271	0.1383

Tabla 10. Correlación entre adipocinas, biomarcadores inflamatorios y clínicos en la cohorte pediátrica

Las celdas verdes indican correlaciones significativas (p < 0,05). Los índices de correlación Rho de Spearman se encuentran en su casilla correspondiente. Índice 0 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena. Delta: cambios tras la intervención conductual.

		0M						6M						Delta					
		Adiponectin	Leptin	TNF-a	MCP1	IL-6	IL-8	Adiponectin	Leptin	TNF-a	MCP1	IL-6	IL-8	Adiponectin	Leptin	TNF-a	MCP1	IL-6	IL-8
Adiponectin	Spearman's rho		-0,236	-0,146	0,006	-0,800	0,286		0,152	0,636	-0,564	-0,400	0,167		-0,200	-0,115	-0,249		-0,262
	Sig. (bilateral)		0,511	0,687	0,987	0,200	0,493		0,676	0,048	0,090	0,600	0,693		0,580	0,751	0,487		0,531
	N		10	10	10	4	8		10	10	10	4	8		10	10	10		8
Leptin	Spearman's rho	-0,236		0,348	0,152	0,400	0,143	0,152		0,067	-0,273	-0,400	0,643	-0,200		-0,127	0,006		0,524
	Sig. (bilateral)	0,511		0,325	0,676	0,600	0,736	0,676		0,855	0,446	0,600	0,086	0,580		0,726	0,987		0,183
	N	10		10	10	4	8	10		10	10	4	8	10		10	10		8
TNF-a	Spearman's rho	-0,146	0,348		-0,037	0,800	-0,491	0,636	0,067		-0,006	0,200	-0,167	-0,115	-0,127		0,146		-0,595
	Sig. (bilateral)	0,687	0,325		0,920	0,200	0,217	0,048	0,855		0,987	0,800	0,693	0,751	0,726		0,688		0,120
	N	10	10		10	4	8	10	10		10	4	8	10	10		10		8
MCP1	Spearman's rho	0,006	0,152	-0,037		0,400	0,000	-0,564	-0,273	-0,006		0,800	-0,500	-0,249	0,006	0,146			-0,683
	Sig. (bilateral)	0,987	0,676	0,920		0,600	1,000	0,090	0,446	0,987		0,200	0,207	0,487	0,987	0,688			0,062
	N	10	10	10		4	8	10	10	10		4	8	10	10	10			8
IL6	Spearman's rho	-0,800	0,400	0,800	0,400		0,400	-0,400	-0,400	0,200	0,800		0,500						
	Sig. (bilateral)	0,200	0,600	0,200	0,600		0,600	0,600	0,600	0,800	0,200		0,667						
	N	4	4	4	4		4	4	4	4	4		3						
IL8	Spearman's rho	0,286	0,143	-0,491	0,000	0,400		0,167	0,643	-0,167	-0,500	0,500		-0,262	0,524	-0,595	-0,683		
	Sig. (bilateral)	0,493	0,736	0,217	1,000	0,600		0,693	0,086	0,693	0,207	0,667		0,531	0,183	0,120	0,062		
	N	8	8	8	8	4		8	8	8	8	3		8	8	8	8		
Weight	Spearman's rho	-0,248	0,491	0,384	0,067		-0,238	-0,267	0,533	-0,200	-0,033	0,500	0,500	-0,082	0,119	-0,157	0,243	-0,341	-0,032
	Sig. (bilateral)	0,489	0,150	0,273	0,855		0,570	0,488	0,139	0,606	0,932	0,667	0,207	0,666	0,547	0,444	0,213	0,233	0,887
	N	10	10	10	10		8	9	9	9	9	3	8	30	28	26	28	14	22
BMI	Spearman's rho	-0,164	0,612	0,311	0,261	-0,200	0,190	-0,450	0,483	-0,033	0,200	0,500	0,643	0,113	0,165	-0,174	0,004	-0,024	0,041
	Sig. (bilateral)	0,651	0,060	0,382	0,467	0,800	0,651	0,224	0,187	0,932	0,606	0,667	0,086	0,553	0,402	0,395	0,982	0,935	0,855
	N	10	10	10	10	4	8	9	9	9	9	3	8	30	28	26	28	14	22
Waist Circumference	Spearman's rho	-0,775	0,685	0,482	0,144	0,738	-0,116	0,143	0,600	0,371	0,314		0,429	0,022	-0,054	-0,195	0,211	0,182	0,270
	Sig. (bilateral)	0,041	0,090	0,274	0,758	0,262	0,827	0,787	0,208	0,468	0,544		0,397	0,922	0,820	0,438	0,372	0,592	0,294
	N	7	7	7	7	4	6	6	6	6	6		6	22	20	18	20	11	17
Insulin	Spearman's rho	-0,248	0,442	0,927	-0,018		-0,452	-0,418	0,406	-0,115	0,358	0,800	0,429	-0,426	0,134	0,334	0,064	0,500	-0,216
	Sig. (bilateral)	0,489	0,200	0,000	0,960		0,260	0,229	0,244	0,751	0,310	0,200	0,289	0,220	0,713	0,345	0,861	0,667	0,608
	N	10	10	10	10		8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	3	8
Glucose	Spearman's rho	-0,518	0,055	0,543	-0,104	0,400	-0,790	-0,036	-0,188	0,182	0,024	0,200	-0,012	-0,463	0,616	0,140	0,180		0,422
	Sig. (bilateral)	0,125	0,880	0,105	0,776	0,600	0,020	0,920	0,602	0,614	0,947	0,800	0,978	0,177	0,058	0,699	0,618		0,298
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10		8
HOMAIR	Spearman's rho	-0,345	0,503	0,896	0,079		-0,476	-0,285	0,370	0,176	0,297	0,800	0,500	-0,370	0,297	0,358	0,274	0,500	-0,238
	Sig. (bilateral)	0,328	0,138	0,000	0,829		0,233	0,425	0,293	0,627	0,405	0,200	0,207	0,293	0,405	0,310	0,444	0,667	0,570
	N	10	10	10	10		8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	3	8
HbA1c	Spearman's rho	0,301	-0,408	-0,060	0,125	0,316	-0,398	-0,325	0,188	-0,375	-0,069	-0,316	0,049	-0,056	0,477	-0,646	-0,604		0,756
	Sig. (bilateral)	0,398	0,242	0,869	0,730	0,684	0,329	0,359	0,604	0,285	0,850	0,684	0,909	0,877	0,164	0,044	0,064		0,030
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10		8
TG	Spearman's rho	0,049	0,644	0,771	0,061	0,200	-0,310	0,492	0,620	0,657	-0,176	-0,400	0,286	0,042	0,127	0,794	-0,079	0,500	-0,381
	Sig. (bilateral)	0,894	0,044	0,009	0,868	0,800	0,456	0,148	0,056	0,039	0,626	0,600	0,493	0,907	0,726	0,006	0,828	0,667	0,352
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	3	8
Chol	Spearman's rho	0,237	0,188	0,187	0,347	-0,400	-0,500	0,164	0,091	0,539	0,406	-0,400	-0,571						
	Sig. (bilateral)	0,510	0,602	0,606	0,327	0,600	0,207	0,651	0,803	0,108	0,244	0,600	0,139						
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8						
HDL	Spearman's rho	-0,055	-0,006	-0,110	0,321	-0,400	-0,238	0,055	-0,091	0,224	0,164	-0,400	-0,857	0,760	-0,109	-0,231	0,012		-0,452
	Sig. (bilateral)	0,881	0,987	0,763	0,365	0,600	0,570	0,881	0,803	0,533	0,651	0,600	0,007	0,011	0,763	0,521	0,973		0,260
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10		8
LDL	Spearman's rho	0,049	0,158	0,006	0,584	0,200	-0,143	0,109	-0,049	0,450	0,365	0,200	-0,476	0,359	-0,018	-0,723	-0,256	0,500	0,405
	Sig. (bilateral)	0,894	0,663	0,987	0,077	0,800	0,736	0,763	0,894	0,192	0,300	0,800	0,233	0,309	0,960	0,018	0,475	0,667	0,320
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	3	8
Urea	Spearman's rho	0,213	0,055	0,303	0,395	0,800	0,144	0,328	-0,091	0,225	-0,219	-1,000	-0,611						
	Sig. (bilateral)	0,555	0,881	0,395	0,258	0,200	0,734	0,354	0,802	0,532	0,544		0,108						
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8						
Creatinine	Spearman's rho	-0,055	0,127	-0,030	0,358	0,200	-0,452	-0,024	0,036	0,043	0,304	-0,800	-0,479						
	Sig. (bilateral)	0,881	0,726	0,933	0,310	0,800	0,260	0,947	0,920	0,907	0,393	0,200	0,230						
	N	10	10	10	10	4	8	10	10	10	10	4	8						
AST	Spearman's rho	0,192	-0,201	0,165	0,351		-0,786												
	Sig. (bilateral)	0,620	0,604	0,672	0,354		0,036												
	N	9	9	9	9		7												
ALT	Spearman's rho	-0,164	-0,316	0,217	0,109	0,105	-0,802	0,059	0,151	0,050	0,286	-0,949	-0,703						
	Sig. (bilateral)	0,650	0,374	0,547	0,763	0,895	0,017	0,881	0,698	0,897	0,456	0,051	0,078						
	N	10	10	10	10	4	8	9	9	9	9	4	7						

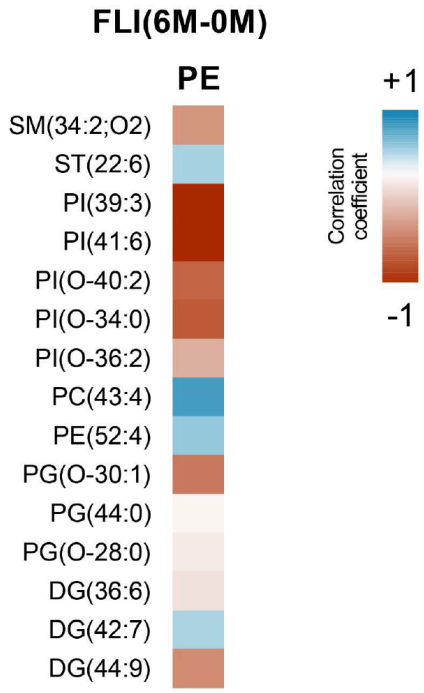


Figura 24. Heatmap. Coeficientes de correlación de las regresiones lineales entre los cambios en el FLI y los lípidos seleccionados en la cohorte pediátrica después de la intervención conductual

Las celdas azules indican asociaciones positivas (r > 0) y las celdas rojas indican asociaciones negativas (r < 0). *FLI: Fatty liver index, (6M-0M):* cambios tras la intervención conductual. *PE:* cohorte pediátrica.

Tabla 11. Correlaciones estadísticamente significativas entre el FLI y los DAG detectables antes (0M) y después (6M) de la intervención conductual en la cohorte pediátrica (PE)

Las correlaciones estadísticamente significativas (valor p de Spearman < 0,05) se indican en negrita.

	FLI 0M		FLI 6M	
	Rho	***p*-value**	**Rho**	***p*-value**
	PE			
DG (36:3); [M+NH4]1+	-0.036	0.939	**0.821**	**0.023**
DG (36:3); [M+H-H2O]1+	0.036	0.939	**0.857**	**0.014**
DG (36:2); [M+NH4]1+	0.179	0.702	**0.857**	**0.014**
DG (36:2); [M+H-H2O]1+	0.071	0.879	**0.857**	**0.014**
DG (35:5); [M+NH4]1+	0.630	0.129	**0.775**	**0.052**
DG (35:3); [M+NH4]1+	-0.450	0.310	**-0.847**	**0.016**
DG (35:2); [M+H-H2O]1+	0.643	0.119	**0.821**	**0.023**
DG (34:3); [M+H-H2O]1+	0.179	0.702	**0.929**	**0.003**
DG (34:2); [M+NH4]1+	0.286	0.535	**0.821**	**0.023**
DG (34:2); [M+H-H2O]1+	0.143	0.760	**0.964**	**<0.001**
DG (33:4); [M+H-H2O]1+	**0.768**	**0.044**	0.556	0.195
DG (33:1); [M+H-H2O]1+	**0.857**	**0.014**	0.643	0.119
DG (32:1); [M+H-H2O]1+	**0.758**	**0.119**	0.643	0.119
DG (30:1); [M+H-H2O]1+	**0.857**	**0.014**	0.286	0.535
DG (30:0); [M+H-H2O]1+	**0.821**	**0.023**	0.179	0.702

1.2 Cohorte adulta

1.2.1 Clínica

La cohorte adulta mostró una composición corporal y un perfil metabólico más favorables 6 meses después de la cirugía bariátrica, con mejoras significativas en peso, circunferencia de cintura, IMC, glucosa, HbA1c, urea, AST, ALT, GGT, TG, LDL-c, colesterol, FLI y HDL-c (Tabla 12), independientemente de la técnica quirúrgica. Los niveles de adiponectina y leptina se normalizaron y la MCP-1 aumentó de manera significativa (Figura 25). Se observaron asociaciones dependientes con el sexo en las variables peso, bilirrubina, colesterol, HDL-c, LDL-c, creatinina, delta LDL-c y GGT mientras que el peso, urea, creatinina y delta HDL-c se correlacionaron con la edad, por lo que estas variables se tomaron en cuenta para análisis adicionales.

Tabla 12. Características antropométricas y clínicas de la cohorte adulta antes (T0) y después (T6) de la intervención quirúrgica

Las variables cuantitativas se expresan como media y desviación estándar, las cualitativas en frecuencia absoluta (n) y relativa (%), [IC] intervalo de confianza al 95%. Las casillas verdes indican significación estadística (187).

	Cohorte adulta (n= 30)		
	n (%) [IC]		
Género masculino	9 (33,3)		
Gastrectomía *Sleeve*	13 (43,3) [29,9 – 70,1]		
Bypass gástrico en Y de *Roux*	17 (56,7) [29,9 – 70,1]		
	media (ds)		
Edad (años)	51,2 (9,3)		
	media (ds)	media (ds)	p-valor
	T0	T6	
Altura (cm)	170 (10)	170 (10)	
Peso (kg)	118,4 (23,3)	87,9 (14,8)	**< 0,001**
Circunferencia cintura (cm)	133,8 (13,6)	106,5 (12,4)	**< 0,001**
IMC (kg/m^2)	43,2 (5,5)	32,1 (3,4)	**< 0,001**
IMC Rango	(36,5 - 65)	(25,3 - 42,1)	
Glucosa (mg/dL)	101,1 (26,7)	88,4 (10,5)	**0,01**
Insulina (mUI/L)	8,9 (7,2)	6,7 (2,4)	0,27
HbA1c (mmol/mol)	37 (8,6)	33,5 (3)	**< 0,001**
HOMA-IR	2,4 (2,6)	1,5 (0,6)	0,10
Urea (mg/dL)	29,8 (16,3)	30,9 (9,1)	**0,03**
Creatinina (mg/dL)	0,8 (0,2)	0,7 (0,1)	0,19
AST (UI/L)	44,5 (18,4)	21,2 (5,5)	**0,01**
ALT (UI/L)	29,4 (16,4)	21,1 (10,3)	**0,01**
GGT (UI/L)	29,3 (28,7)	21,3 (20)	**< 0,001**
TG (mg/dL)	129,8 (41)	86,6 (25,6)	**< 0,001**
LDL-c (mg/dL)	85,9 (31,4)	107,5 (26,6)	**< 0,001**
HDL-c (mg/dL)	37,9 (9,7)	49 (18,3)	**< 0,001**
Colesterol (mg/dL)	149 (38,1)	170,1 (33,1)	**0,01**
Proteína total (g/L)	65,2 (12,7)	66,8 (3,9)	0,65
FLI *(Fatty Liver Index)*	97 (2,6)	61,5 (21,1)	**< 0,001**

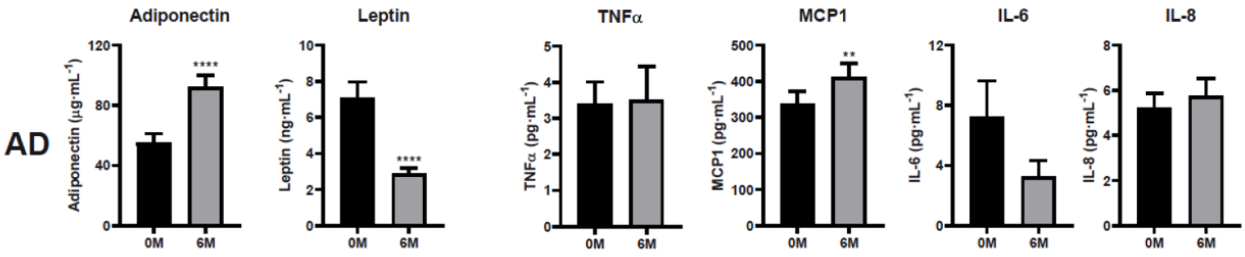


Figura 25. Niveles de adipocinas y biomarcadores inflamatorios después de intervención quirúrgica en la cohorte adulta

Los datos mostrados son medias ± error estándar de la media. Se comparan TNF-α (factor de necrosis tumoral alfa), MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos-1), IL8 (interleucina-8) e IL6 (interleucina-6). *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$, ****: $p < 0,0001$ (187).

1.2.2 Lipidómica

En cuanto a la composición de lípidos séricos en la cohorte adulta, también se observaron cambios significativos a los seis meses de la intervención quirúrgica (Figura 26). Ciento noventa y tres especies de lípidos presentaron alteraciones significativas, de los cuáles 118 al alza y 75 a la baja. Las familias de lípidos que más aumentaron fueron los glicerofosfolípidos, las glicerofosfocolinas y las fosfatidilcolinas mientras que las familias que más disminuyeron fueron los glicerolípidos, los di/triradilgliceroles y los triacilgliceroles/diacilgliceroles (Figura 27). Específicamente, los niveles de PC(O-34:2)/PE(O-37:2), PC(O-36:5), PC(O-36:4), PC(O-36:2)/PE(P-39:1) y TG(53:2) fueron los más elevados, mientras que los de DG(36:5), TG(54:6), TG(54:6), DG(42:7) y PG(44:0) fueron los más bajos (Figura 28). El análisis de rutas metabólicas detectó la activación de la biosíntesis de PS y la supresión de la biosíntesis de PI y DAG (Figura 29). Debido a las limitaciones de BioPan, no se pudieron realizar análisis para las vías de mono/di/triglicéridos (188).

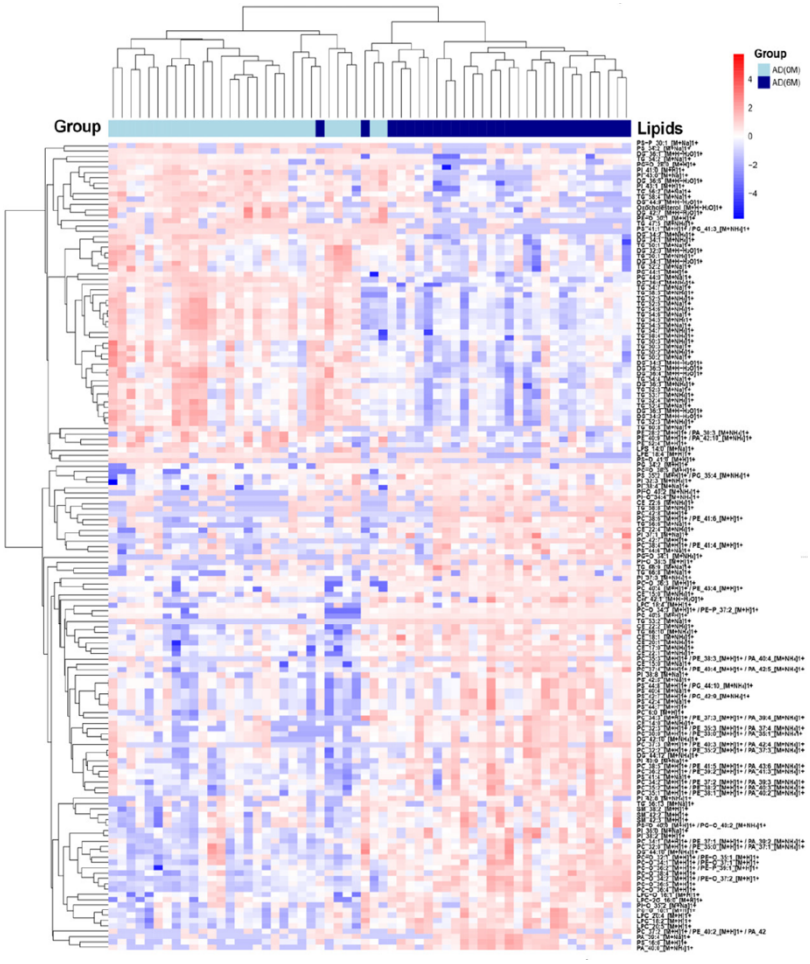


Figura 26. Heatmap. Especies lipídicas significativamente reguladas 6 meses después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta

Los colores de las casillas representan la intensidad de expresión lipídica. Los tonos azules indican menores niveles de concentración, mientras que los tonos rojos señalan niveles mayores. Los cuadros azul claro representan las muestras tomadas al inicio (0M) y los azul oscuro las muestras tomadas a los 6 meses de la intervención (6M) (187).

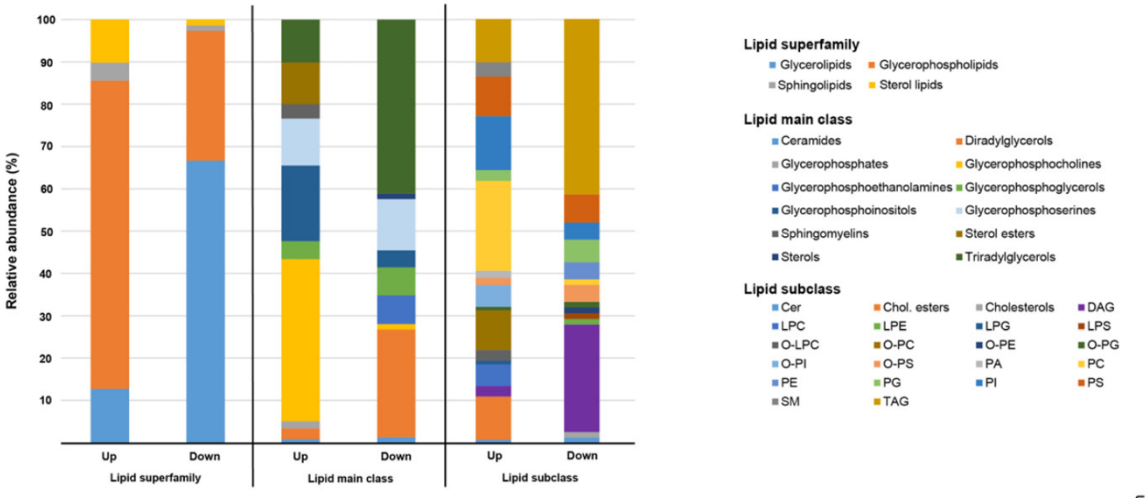


Figura 27. Abundancia relativa de las especies lipídicas reguladas después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta

Clasificadas por superfamilias (izquierda), clases principales (centro) y subclases (derecha) (187).

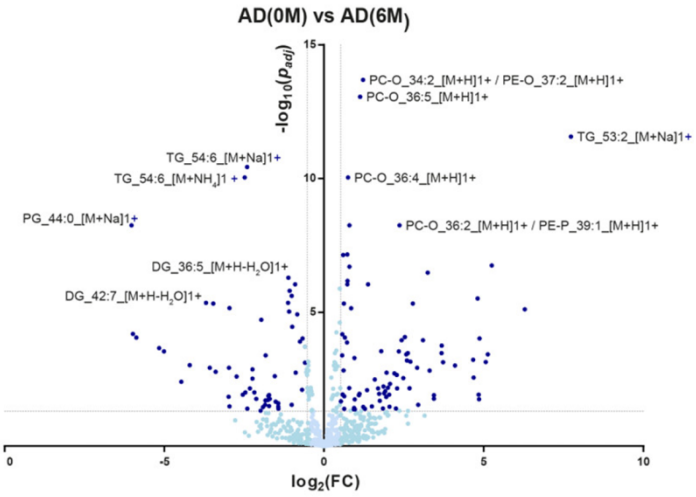
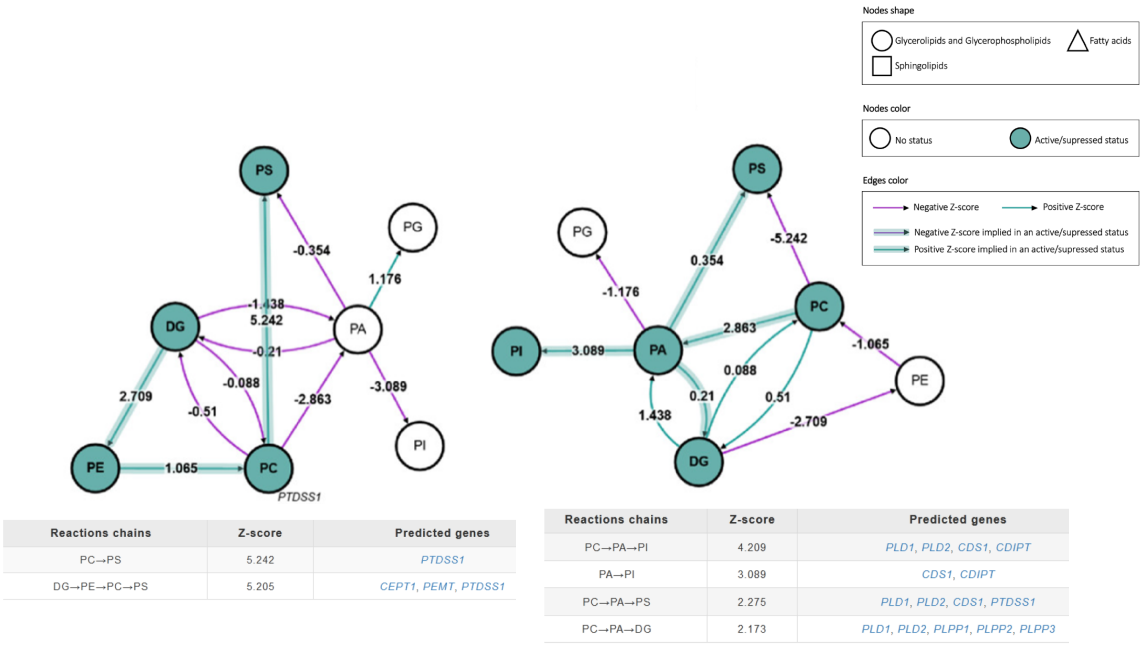


Figura 28. Gráfico de volcán. Especies lipídicas reguladas después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta

Los lípidos se muestran en un tono azul oscuro cuando el p-valor ajustado es < 0,01, y el cambio absoluto de magnitud logarítmica es > 0,5 unidades. Los lípidos más significativos y regulados están específicamente etiquetados (187).



Reactions chains	Z-score	Predicted genes
PC→PS	5.242	*PTDSS1*
DG→PE→PC→PS	5.205	*CEPT1, PEMT, PTDSS1*

Reactions chains	Z-score	Predicted genes
PC→PA→PI	4.209	*PLD1, PLD2, CDS1, CDIPT*
PA→PI	3.089	*CDS1, CDIPT*
PC→PA→PS	2.275	*PLD1, PLD2, CDS1, PTDSS1*
PC→PA→DG	2.173	*PLD1, PLD2, PLPP1, PLPP2, PLPP3*

Figura 29. Vía de activación de la biosíntesis de fosfatidilserina (izquierda) y de supresión de la biosíntesis de fosfatidilinositol y diacilglicerol después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta

En cada flecha se indica la medida del efecto (valores de Z-score). Las vías reguladas de manera significativa están marcadas con una flecha sombreada. Para cada vía activada, se incluye una tabla que muestra los pasos metabólicos específicamente activados, el Z-score asociado y los genes involucrados en cada paso (187).

1.2.3 Correlación entre clínica y lipidómica

Los niveles circulantes de PC se correlacionaron positivamente con los de colesterol, LDL-c, HDL-c, ALT y AST, y negativamente con los niveles de proteínas totales. También se detectó una asociación positiva entre los niveles de TG y los de insulina, proteínas totales y urea, y una asociación negativa con los de HbA1c (Figura 30, Tabla 13). Antes de la intervención quirúrgica, se encontraron relaciones directas entre el peso y los niveles de MCP-1, el IMC y los niveles de leptina, la circunferencia de cintura y los niveles TNF-α y MCP-1, así como entre la PCR y los niveles de leptina y MCP-1. A los 6 meses de la intervención, se detectaron evoluciones paralelas entre el peso y los niveles de leptina, la PCR y los niveles de leptina y MCP-1, los TG y los niveles de MCP-1, y HDL-c y los niveles de adiponectina. En cambio, el IMC y la circunferencia de cintura eran inversamente proporcionales a los niveles de adiponectina (Tabla 14). Por otra parte, se observó una correlación negativa entre FLI y PI(O-40:2)

(Figura 31). Cabe destacar que en la cohorte adulta sólo se identificaron dos correlaciones significativas entre el FLI y los DAG (DG (44:11) y DG (36:4)), las cuales, difirieron de las observadas en la cohorte pediátrica.

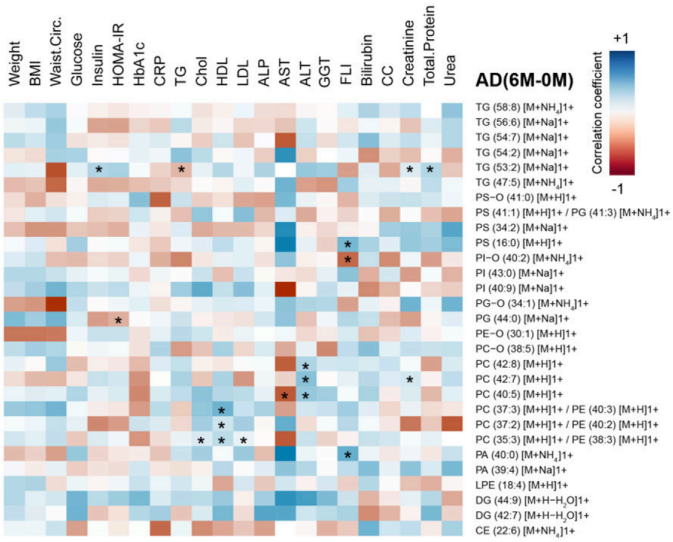


Figura 30. Heatmap. Correlación entre variables clínicas y lípidos significativamente regulados después de la intervención quirúrgica

Las celdas azules indican asociaciones positivas (r > 0) y las celdas rojas indican asociaciones negativas (r < 0). *: Correlaciones significativas (p < 0,05) (187).

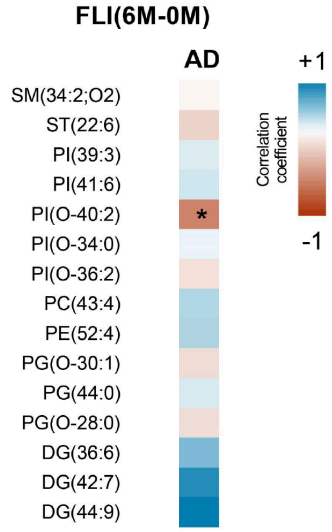


Figura 31. Heatmap. Coeficientes de correlación de las regresiones lineales entre los cambios en el FLI y los lípidos seleccionados en la cohorte adulta después de la intervención quirúrgica

Las celdas azules indican asociaciones positivas (r > 0) y las celdas rojas indican asociaciones negativas (r < 0). *: Correlación significativa (p < 0,05). *FLI: Fatty liver index, (6M-0M):* cambios tras la intervención quirúrgica. *AD:* cohorte adulta.

Tabla 13. Correlaciones significativas entre los cambios en variables clínicas y los lípidos diferencialmente regulados después de la intervención quirúrgica en la cohorte adulta

Índices de correlación entre los lípidos y las variables clínicas preseleccionadas. Se calcularon los p-valores ajustados por edad y sexo y las tasas de detección falsa (FDR, *False Discovery Rate*) para cada correlación (187).

Expression Pattern	Subclass	Lipid Species	Clinical Variable	Correlation Coefficient	*p*-Value	FDR
		AD (6 M-0 M)				
Upregulated	PC	PC (35:3) [M+H]1+/PE (38:3) [M+H]1+/PA (40:4) [M+NH4]1+	Chol	0.4921	0.0057	0.1558
		PC (35:3) [M+H]1+/PE (38:3) [M+H]1+/PA (40:4) [M+NH4]1+	LDL	0.4179	0.0215	0.3750
		PC (35:3) [M+H]1+/PE (38:3) [M+H]1+/PA (40:4) [M+NH4]1+	HDL	0.5692	0.0010	0.0444
		PC (37:2) [M+H]1+/PE (40:2) [M+H]1+/PA (42:3) [M+NH4]1+	HDL	0.3649	0.0474	0.4911
		PC (37:3) [M+H]1+/PE (40:3) [M+H]1+/PA (42:4) [M+NH_4]1+	HDL	0.4472	0.0132	0.2858
		PC (40:5) [M+H]1+	AST	0.5091	0.0041	0.1205
		PC (40:5) [M+H]1+	ALT	0.5356	0.0023	0.0810
		PC (42:7) [M+H]1+	ALT	0.3622	0.0492	0.4937
		PC (42:8) [M+H]1+	ALT	0.4208	0.0206	0.3748
		PC (42:7) [M+H]1+	Total Protein	−0.4093	0.0247	0.3793
Downregulated	TG	TG (53:2) [M+Na]1+	Insulin	0.3706	0.0438	0.4694
		TG (53:2) [M+Na]1+	TG	0.8158	0.0000	0.0000
		TG (53:2) [M+Na]1+	Total Protein	0.3971	0.0298	0.3994
		TG (53:2) [M+Na]1+	Urea	0.3921	0.0321	0.4096
		TG (54:2) [M+Na]1+	HbA1c	−0.4011	0.0280	0.3857
	PG	PG (44:0) [M+Na]1+	HOMA.IR	0.3814	0.0376	0.4559

Tabla 14. Correlación entre adipocinas, biomarcadores inflamatorios y clínicos en la cohorte adulta

Las celdas verdes indican correlaciones significativas (p < 0,05). Los índices de correlación Rho de Spearman se encuentran en su casilla correspondiente. Índice 0 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena. Delta: cambios tras la intervención conductual.

		0M						6M						Delta					
		Adiponectin	Leptin	TNF-a	MCP1	IL-6	IL-8	Adiponectin	Leptin	TNF-a	MCP1	IL-6	IL-8	Adiponectin	Leptin	TNF-a	MCP1	IL-6	IL-8
Adiponectin	Spearman's rho		0,212	0,203	0,239	**0,586**	0,172		0,008	**0,420**	0,365	0,049	**0,545**		-0,006	-0,226	0,048	0,055	0,296
	Sig. (bilateral)		0,279	0,319	0,220	**0,008**	0,412		0,967	**0,033**	0,056	0,848	**0,008**		0,976	0,268	0,809	0,852	0,180
	N		28	26	28	**19**	25		28	**26**	28	18	**22**		28	26	28	14	22
Leptin	Spearman's rho	0,212		0,171	0,274	0,134	0,067	0,008		-0,129	0,048	-0,101	0,082	-0,006		0,014	0,032	0,103	-0,181
	Sig. (bilateral)	0,279		0,403	0,159	0,584	0,751	0,967		0,531	0,810	0,690	0,717	0,976		0,946	0,873	0,725	0,420
	N	28		26	28	19	25	28		26	28	18	22	28		26	28	14	22
TNF-a	Spearman's rho	0,203	0,171		**0,796**	0,371	0,238	**0,420**	-0,129		**0,554**	0,214	0,372	-0,226	0,014		0,178	0,191	-0,238
	Sig. (bilateral)	0,319	0,403		**0,000**	0,130	0,274	**0,033**	0,531		**0,003**	0,394	0,097	0,268	0,946		0,385	0,513	0,311
	N	26	26		**26**	18	23	**26**	26		**26**	18	21	26	26		26	14	20
MCP1	Spearman's rho	0,239	0,274	**0,796**		0,306	0,248	0,365	0,048	**0,554**		-0,225	0,332	0,048	0,032	0,178		-0,011	**0,495**
	Sig. (bilateral)	0,220	0,159	**0,000**		0,203	0,233	0,056	0,810	**0,003**		0,369	0,131	0,809	0,873	0,385		0,970	**0,019**
	N	28	28	**26**		19	25	28	28	**26**		18	22	28	28	26		14	**22**
IL6	Spearman's rho	0,451	0,134	0,371	0,306		**0,579**	0,049	-0,101	0,214	-0,225		0,473	0,055	0,103	0,191	-0,011		0,287
	Sig. (bilateral)	0,053	0,584	0,130	0,203		**0,015**	0,848	0,690	0,394	0,369		0,103	0,852	0,725	0,513	0,970		0,366
	N	19	19	18	19		**17**	18	18	18	18		13	14	14	14	14		12
IL8	Spearman's rho	0,172	0,067	0,238	0,248	0,395		**0,549**	0,082	0,372	0,332	0,473		0,296	-0,181	-0,238	**0,495**	0,287	
	Sig. (bilateral)	0,412	0,751	0,274	0,233	0,117		**0,008**	0,717	0,097	0,131	0,103		0,180	0,420	0,311	**0,019**	0,366	
	N	25	25	23	25	17		**22**	22	21	22	13		22	22	20	**22**	12	
Height	Spearman's rho	-0,233	-0,022	0,387	**0,439**	0,082	0,256	-0,281	-0,333	0,181	0,160	0,382	-0,128						
	Sig. (bilateral)	0,215	0,911	0,051	**0,020**	0,739	0,216	0,132	0,084	0,376	0,415	0,118	0,571						
	N	30	28	26	**28**	19	25	30	28	26	28	18	22						
Weight	Spearman's rho	-0,077	0,292	0,388	**0,468**	0,375	0,204	-0,043	**0,470**	-0,031	0,078	0,105	-0,188	-0,082	0,119	-0,157	0,243	-0,341	-0,032
	Sig. (bilateral)	0,688	0,132	0,050	**0,012**	0,114	0,327	0,820	**0,012**	0,879	0,692	0,677	0,402	0,666	0,547	0,444	0,213	0,233	0,887
	N	30	28	26	**28**	19	25	30	**28**	26	28	18	22	30	28	26	28	14	22
BMI	Spearman's rho	0,072	**0,385**	0,179	0,189	0,203	-0,127	**-0,420**	0,043	-0,221	-0,298	0,068	**-0,472**	0,113	0,165	-0,174	0,004	-0,024	0,041
	Sig. (bilateral)	0,706	**0,043**	0,382	0,334	0,405	0,545	**0,021**	0,829	0,278	0,124	0,788	**0,027**	0,553	0,402	0,395	0,982	0,935	0,856
	N	30	**28**	26	28	19	25	**30**	28	26	28	18	**22**	30	28	26	28	14	22
Waist Circumference	Spearman's rho	-0,204	0,252	**0,477**	**0,600**	-0,125	0,133	**-0,450**	0,015	-0,323	-0,335	0,197	-0,405	0,022	-0,054	-0,195	0,211	0,182	0,270
	Sig. (bilateral)	0,328	0,246	**0,029**	**0,002**	0,644	0,565	**0,013**	0,941	0,108	0,081	0,433	0,062	0,922	0,820	0,438	0,372	0,592	0,294
	N	25	23	**21**	**23**	16	21	30	28	26	28	18	22	22	20	18	20	11	17
Insulin	Spearman's rho	-0,202	-0,191	-0,012	-0,073	-0,091	-0,265	-0,034	-0,001	-0,315	-0,112	-0,320	0,147	0,119	-0,035	0,062	-0,127	-0,271	-0,425
	Sig. (bilateral)	0,284	0,332	0,954	0,713	0,710	0,200	0,859	0,997	0,117	0,571	0,196	0,514	0,548	0,864	0,768	0,526	0,349	0,125
	N	30	28	26	28	19	25	30	28	26	28	18	22	28	27	25	27	14	22
Glucose	Spearman's rho	-0,141	0,031	0,061	0,095	-0,304	**-0,568**	0,276	-0,202	-0,046	-0,032	**-0,599**	-0,218	0,015	0,369	-0,085	-0,243	-0,029	-0,249
	Sig. (bilateral)	0,456	0,874	0,767	0,631	0,205	**0,003**	0,139	0,303	0,824	0,871	**0,009**	0,330	0,938	0,058	0,681	0,223	0,922	0,276
	N	30	28	26	28	19	**25**	30	28	26	28	**18**	22	28	27	26	27	14	21
HOMAIR	Spearman's rho	-0,204	-0,211	-0,013	-0,042	-0,121	-0,299	0,340	-0,300	0,181	0,155	-0,084	0,224	0,084	-0,073	0,124	-0,106	-0,361	-0,411
	Sig. (bilateral)	0,280	0,280	0,951	0,830	0,621	0,146	0,066	0,120	0,376	0,432	0,740	0,316	0,667	0,713	0,547	0,591	0,205	0,057
	N	30	28	26	28	19	25	30	28	26	28	18	22	29	28	26	28	14	22
HbA1c	Spearman's rho	-0,185	-0,096	0,025	0,003	-0,180	-0,099	**-0,523**	-0,084	-0,242	-0,278	0,284	-0,405	-0,048	0,079	-0,084	-0,019	0,399	0,037
	Sig. (bilateral)	0,336	0,857	0,905	0,989	0,462	0,638	**0,003**	0,671	0,234	0,155	0,253	0,061	0,814	0,709	0,703	0,930	0,158	0,873
	N	29	27	25	27	19	25	**30**	28	26	28	18	22	27	25	23	25	14	21
CRP	Spearman's rho	-0,096	**0,376**	0,023	**0,485**	0,054	-0,055	-0,096	**0,376**	0,023	**0,485**	0,054	-0,055	0,238	0,100	-0,259	-0,185	0,515	0,215
	Sig. (bilateral)	0,613	**0,049**	0,913	**0,009**	0,828	0,794	0,613	**0,049**	0,913	**0,009**	0,828	0,794	0,252	0,649	0,258	0,397	0,087	0,362
	N	30	**28**	26	**28**	19	25	30	**28**	26	**28**	19	25	25	23	21	23	12	20
TG	Spearman's rho	-0,264	-0,111	0,245	0,089	-0,171	0,008	0,331	0,028	0,097	**0,447**	0,034	0,391	-0,041	-0,175	**0,425**	0,251	-0,061	-0,019
	Sig. (bilateral)	0,158	0,575	0,228	0,653	0,483	0,968	0,074	0,889	0,638	**0,017**	0,863	0,072	0,831	0,382	**0,034**	0,207	0,844	0,935
	N	30	28	26	28	19	25	30	28	26	**28**	18	22	29	27	**25**	27	13	21
Chol	Spearman's rho	0,186	0,279	-0,042	-0,041	-0,215	0,038	-0,079	0,148	0,312	0,079	0,340	0,125						
	Sig. (bilateral)	0,325	0,151	0,838	0,835	0,376	0,858	0,678	0,452	0,120	0,691	0,167	0,578						
	N	30	28	26	28	19	25	30	28	26	28	18	22						
HDL	Spearman's rho	**0,433**	0,150	-0,085	-0,046	0,219	0,098	**0,432**	-0,029	-0,372	-0,128	0,062	-0,372	0,200	0,264	-0,278	0,013	0,108	-0,038
	Sig. (bilateral)	**0,017**	0,447	0,680	0,817	0,367	0,641	**0,017**	0,885	0,061	0,517	0,807	0,088	0,299	0,183	0,179	0,949	0,714	0,871
	N	**30**	28	26	28	19	25	**30**	28	26	28	18	22	29	27	25	27	14	21
LDL	Spearman's rho	0,076	0,312	-0,196	-0,261	-0,238	0,002	0,061	0,221	0,177	0,157	0,246	0,125	0,033	0,077	-0,101	0,024	-0,055	0,313
	Sig. (bilateral)	0,691	0,106	0,336	0,180	0,327	0,994	0,781	0,336	0,468	0,496	0,366	0,657	0,863	0,698	0,622	0,904	0,852	0,156
	N	30	28	26	28	19	25	23	21	19	21	14	15	30	28	26	28	14	22
Urea	Spearman's rho	0,065	0,007	0,004	-0,227	-0,215	-0,209	**0,530**	0,054	0,195	0,232	-0,227	**0,427**						
	Sig. (bilateral)	0,734	0,972	0,983	0,245	0,378	0,316	**0,003**	0,785	0,340	0,235	0,364	**0,047**						
	N	30	28	26	28	19	25	**30**	28	26	28	18	**22**						
Creatinine	Spearman's rho	0,007	-0,016	0,272	0,062	0,048	**0,412**	-0,028	-0,187	0,048	0,055	0,102	-0,328						
	Sig. (bilateral)	0,971	0,934	0,179	0,752	0,844	**0,041**	0,885	0,340	0,816	0,780	0,686	0,137						
	N	30	28	26	28	19	**25**	30	28	26	28	18	22						
AST	Spearman's rho	0,095	-0,086	0,700	0,143	-0,100	0,700	0,307	-0,338	-0,007	0,318	-0,444	0,108						
	Sig. (bilateral)	0,823	0,872	0,188	0,787	0,873	0,188	0,099	0,078	0,974	0,099	0,065	0,633						
	N	8	6	5	6	5	5	30	28	26	28	18	22						
ALT	Spearman's rho	-0,237	-0,151	0,195	0,207	-0,063	-0,203	0,130	-0,183	0,364	0,260	0,207	0,239						
	Sig. (bilateral)	0,207	0,444	0,339	0,290	0,797	0,331	0,493	0,351	0,068	0,181	0,411	0,284						
	N	30	28	26	28	19	25	30	28	26	28	18	22						
GGT	Spearman's rho	-0,287	-0,121	0,148	0,084	-0,183	-0,022	**0,405**	0,064	0,133	0,344	0,131	**0,492**						
	Sig. (bilateral)	0,123	0,539	0,471	0,670	0,453	0,916	**0,027**	0,745	0,518	0,073	0,604	**0,020**						
	N	30	28	26	28	19	25	**30**	28	26	28	18	**22**						

1.3 Coincidencias en el perfil lipidómico pediátrico y adulto después de la intervención de control de peso

Después de sus respectivas intervenciones, los niveles circulantes de 15 especies lipídicas cambiaron de manera significativa en ambas cohortes (Figura 32). Cinco de ellos aumentaron: fosfatidilinositoles, esfingomielinas y ésteres de colesterol. Ocho de ellos disminuyeron: diacilgliceroles, glicerofosfogliceroles, glicerofosfoetanolaminas y fosfatidilcolinas. Todas las especies coincidentes se regularon en la misma dirección, excepto dos fosfatidilinositoles: PI(O-36:2) y PI(O-34:0).

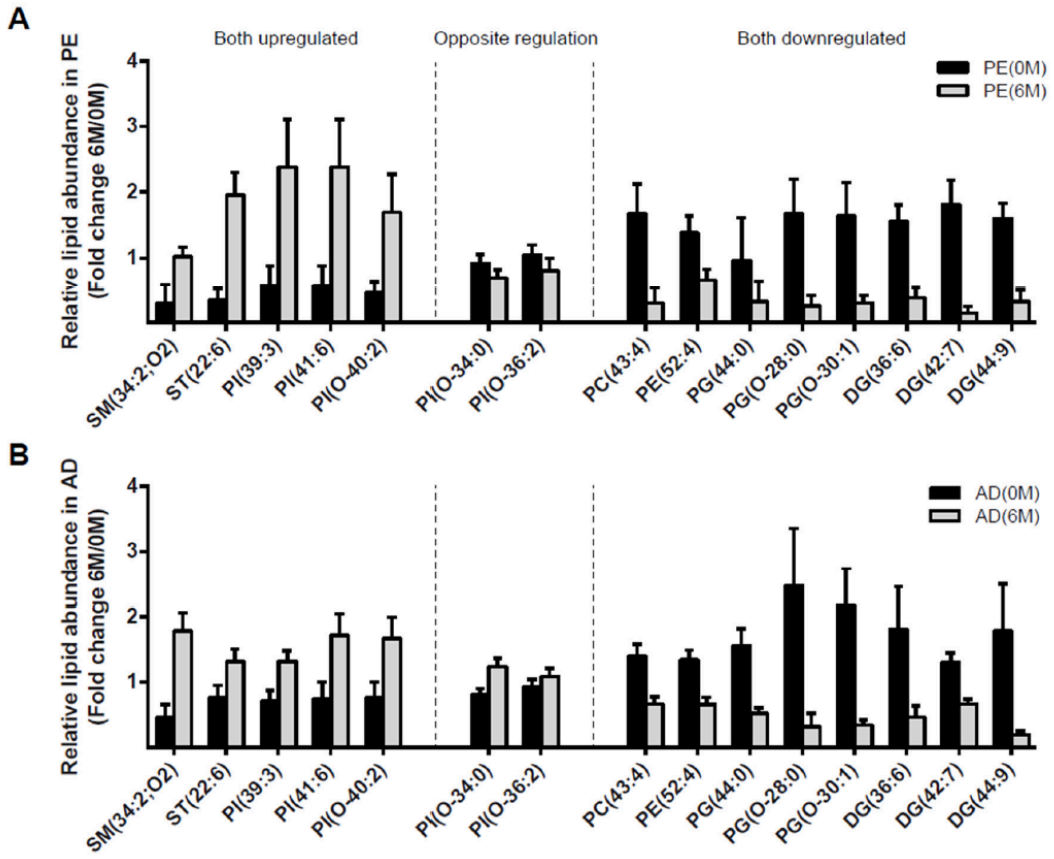


Figura 32. Especies lipídicas coincidentes en las dos cohortes después de sus respectivas intervenciones

Abundancia relativa al inicio (barras grises) y a los 6 meses (barras negras) de la intervención en la cohorte pediátrica (A) y la cohorte adulta (B). Todos los resultados son estadísticamente significativos (p-valor ajustado < 0,05) (187).

2 *Objetivo 2: Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar*

2.1 Clínica

No se encontraron diferencias entre los grupos NW y OW/OB en cuanto a etnicidad, edad, género, estado puberal, vía quirúrgica de abordaje, tipo de procedimiento quirúrgico, antecedentes médicos, tratamiento de base o momento de la extracción de sangre. El grupo OW/OB presentó mayor IMC, mayor ds del IMC, mayor perímetro de cintura y cadera, mayor adiposidad y mayores niveles de ALT en comparación con el grupo NW (Tabla 15).

Tabla 15. Características clínicas, epidemiológicas y analíticas de los grupos NW y OW/OB

Las variables cuantitativas se expresan como mediana y rango. *ds: desviación estándar.* Las casillas verdes indican significación estadística.

	Total (n= 30)	NW (n= 17)	OW/OB (n= 13)	
Variables	mediana (rango)	mediana (rango)	mediana (rango)	p–valor
LH (UI/L)	0,4 (0,09 – 9,33)	0,19 (0,09 – 9,33)	0,57 (0,09 – 5,27)	0, 385
FSH (UI/L)	2,13 (0,05 – 6,73)	1,94 (0,05 – 6,73)	2,26 (0,41 – 4,32)	0,592
Estradiol (pg/mL)	18 (10 – 104)	21 (10 – 71)	14 (10 – 104)	0,462
Testosterona (ng/dL)	246,8 (2,7 – 708,7)	237,9 (2,9 – 690,5)	268,2 (2,7 – 708,7)	1
Edad (años)	9,25 (0,5 – 16,6)	10,1 (0,5 – 16,6)	8,4 (1,9 – 16,5)	0,837
Peso (Kg)	36 (8 – 97)	37 (8 – 70,6)	35 (14,9 – 97)	0,157
Altura (m)	1,355 (0,66 – 1,85)	1,40 (0,66 – 1,85)	1,31 (0,88 – 1,75)	0,536
IMC (Kg/m^2)	19,1 (12,2 – 34,5)	17,9 (12,2 – 20,8)	22 (17,6 – 34,5)	**0**
ds IMC	0,5 (–2,5 – 6,7)	- 0,2 (–2,5 – 0,8)	2,8 (1,31 – 6,71)	**0**
Cintura (cm)	65,5 (41 – 99)	63 (41 – 76)	73 (51 – 99)	**0,004**
Cadera (cm)	76,5 (44 – 118)	70 (44 – 95)	80 (52 – 118)	**0,031**
Adiposidad (%)	28,8 (14,7 – 41,8)	22,6 (14,7 – 32,8)	33,2 (26,1 – 41,8)	**0**
Glucosa (mg/dL)	95 (65 – 128)	95 (65 – 128)	92 (75 – 116)	0,777
Hb Glicada (mmol/mol)	34 (28 – 40)	34 (30 – 40)	33,5 (28 – 40)	0,631
Proteína (g/L)	68,7 (53,6 – 81,4)	67,9 (60,1 – 81,4)	73,6 (53,6 – 77,7)	0,556
Urea (mg/dL)	26 (10 – 35)	27 (10 – 35)	26 (17 – 33)	0,647
Creatinina (mg/dL)	0,4 (0,22 – 0,77)	0,4 (0,22 – 0,76)	0,49 (0,24 – 0,77)	0,471
AST (U/L)	28 (16 – 57)	26 (16 – 57)	29,5 (20 – 42)	0,204
ALT (U/L)	14 (9 – 49)	13 (9 – 20)	20,5 (11 – 49)	**0,003**
Colesterol (mg/dL)	159 (109 – 208)	163 (116 – 208)	148,5 (109 – 175)	0,128
HDL–c (mg/dL)	47,6 (35,7 – 67,3)	52,3 (35,7 – 65,4)	45,6 (38,1 – 67,3)	0,166
LDL–c (mg/dL)	89 (48 – 129)	97 (62 – 129)	82,5 (48 – 109)	0,347
Triglicéridos (mg/dL)	73 (31 – 135)	73 (32 – 135)	71,5 (31 – 119)	0,711
Tirotropina (µUI/mL)	1,99 (0,7 – 4,319)	1,937 (0,7 – 2,870)	2,17 (1,331 – 4,319)	0,263
Tiroxina (ng/dL)	1,160 (0,8 – 1,4)	1,160 (0,8 – 1,4)	1,115 (0,9 – 1,4)	1
Insulina (mUI/L)	38 (3 – 201)	39 (3 – 74)	30,95 (3 – 201)	0,616

Tabla 15 (continuación). Características clínicas, epidemiológicas y analíticas de los grupos NW y OW/OB

Los valores cualitativos se expresan en frecuencia absoluta (n) y relativa (%). *T: trastorno.*

	Total = 30	NW = 17	OW/OB = 13	
Variables	n (%)	n (%)	n (%)	p–valor
Etnicidad				0,368
Caucásico	22 (73,3)	14 (46,7)	8 (26,7)	
Hispano	2 (6,7)	1 (3,3)	1 (3,3)	
Árabe	4 (13,3)	2 (6,7)	2 (6,7)	
Africano	2 (6,7)	0	2 (6,7)	
Status puberal				0,626
Prepuberal	16 (53,3)	9 (30)	7 (23,3)	
Puberal	14 (46,7)	8 (26,7)	6 (20)	
Género				0,26
Femenino	17 (56,7)	11 (36,7)	6 (20)	
Masculino	13 (43,3)	6 (20)	7 (23,3)	
Abordaje quirúrgico				0,446
Abierto	10 (33,3)	5 (16,7)	5 (16,7)	
Laparoscópico	20 (66,7)	12 (40)	8 (26,7)	
Tipo de intervención				0,547
Exploradora	8 (26,7)	5 (16,7)	3 (10)	
Hernia inguinal	6 (20)	3 (10)	3 (10)	
Hernia umbilical	5 (16,7)	3 (10)	2 (6,7)	
Hernia epigástrica	1 (3,3)	0	1 (3,3)	
Apendicectomía	3 (10)	0	3 (10)	
Colecistectomía	3 (10)	1 (3,3)	2 (6,7)	
Exéresis de uraco	3 (10)	1 (3,3)	2 (6,7)	
Funduplicatura	1 (3,3)	0	1 (3,3)	
Antecedentes médicos				0,354
Ninguno	19 (63,3)	12 (40)	7 (23,3)	
Reflujo gastroesofágico	1 (3,3)	0	1 (3,3)	
T. espectro autista	2 (6,7)	0	2 (6,7)	
T. déficit de atención	1 (3,3)	1 (3,3)	0	
Bronquitis	2 (6,7)	1 (3,3)	1 (3,3)	
Glucogenosis pulmonar	1 (3,3)	0	1 (3,3)	
Ureterohidronefrosis	1 (3,3)	0	1 (3,3)	
Apendicectomía	1 (3,3)	1 (3,3)	0	
Pubertad precoz	1 (3,3)	0	1 (3,3)	
Anemia	1 (3,3)	1 (3,3)	0	
Tratamiento de base				0,195
No	22 (73,3)	14 (46,7)	8 (26,7)	
Sí	8 (26,7)	3 (10)	5 (16,7)	
Extracción de sangre				0,588
Antes anestesia	10 (38,5)	6 (23,1)	4 (15,4)	
Después anestesia	16 (61,5)	9 (34,6)	7 (26,9)	

2.2 Análisis lipidómico

En cuanto al análisis lipidómico no dirigido, se detectaron 3532 y 1537 señales o características mediante análisis UHPLC-MS en las muestras de TABv y TABs, respectivamente. Tras excluir las muestras con un CV en la abundancia superior al 20%, los conteos finales de características fueron 1672 y 1434 en TABv y TABs, respectivamente. Los gráficos de puntuación de PCA generados para cada técnica mostraron una agrupación distinta de las muestras QC, subrayando la estabilidad del sistema y la robustez del análisis. Posteriormente, los modelos PLS-DA indicaron una separación clara entre los pacientes NW y OW/OB, revelando cambios metabólicos intrínsecos en ambos tipos de TAB relacionados con la obesidad. Todos los gráficos de PLS-DA presentaron una varianza explicada (R^2) > 0,7 y una varianza predicha (Q^2) > 0,4, con una diferencia entre R^2 y Q^2 menor a 0,3, confirmando la potencia de los modelos. Finalmente, los modelos OPLS-DA volvieron a confirmar la discriminación clara entre las muestras NW y OW/OB, con un (R^2) > 0,9, un (Q^2) > 0,8, una diferencia entre R^2 y Q^2 < 0,3 y un valor de p de CV-ANOVA < 0,05 (Figura 33). Del total de características consideradas estadísticamente significativas (valor de p < 0,05 y VIP > 1), se anotaron 156 y 122 especies lipídicas en TABs y TABv, respectivamente, definidas por el tiempo de retención, el error de masa, los aductos, el CV, el cambio relativo y los resultados de UVDA y MVDA (Tabla 16).

Las alteraciones en los lipidomas de TABs y TABv relacionadas con la obesidad se representan en la figura 34, proporcionando una visión integral de las firmas metabólicas que diferencian a los pacientes con OW/OB de los NW. Globalmente, 145 especies lipídicas mostraron cambios diferenciales en TABs (50 reguladas al alza y 95 reguladas a la baja), mientras que 61 especies lipídicas se modificaron significativamente en TABv (22 reguladas al alza y 39 reguladas a la baja).

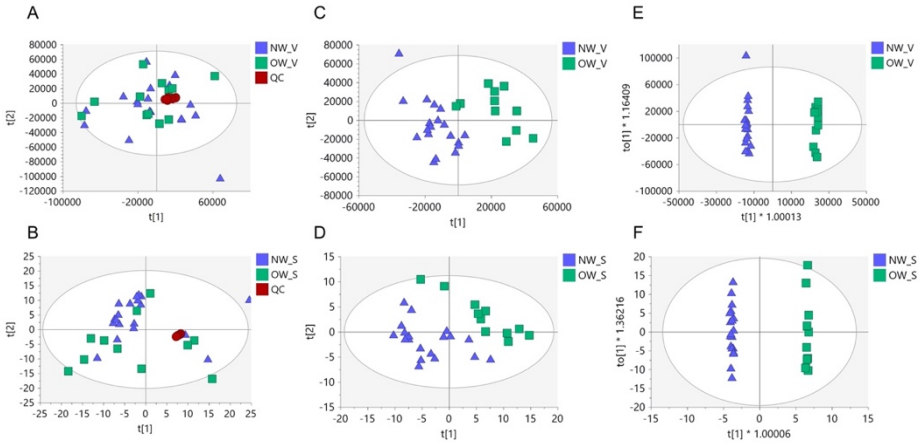


Figura 33. Parámetros de calidad de los modelos y p-valor de CV-ANOVA para el análisis de UHPLC-MS (triángulos azules, NW; cuadrados verdes, OW/OB; círculos rojos, muestras QC)

(A-B) El gráfico A (R2 = 0,742) y el gráfico B (R2 = 0,745) representan los modelos PCA-X para las muestras de TABv y TABs, respectivamente.

(C-D) El gráfico C (R2 = 0,969; Q2 = 0,765, p-valor de CV-ANOVA 0,038) y el gráfico D (R2 = 0,985; Q2 = 0,753, p-valor de CV-ANOVA 0,019) representan los modelos PLS-DA construidos para las muestras de TABv y TABs, respectivamente.

(E-F) El gráfico E (R2 = 0,998; Q2 = 0,879, p-valor de CV-ANOVA $4{,}84 \times 10^{-5}$) y el gráfico F (R2 = 0,997; Q2 = 0,875, p-valor de CV-ANOVA 0,022) representan los modelos OPLS-DA construidos para las muestras de TABv y TABs, respectivamente.

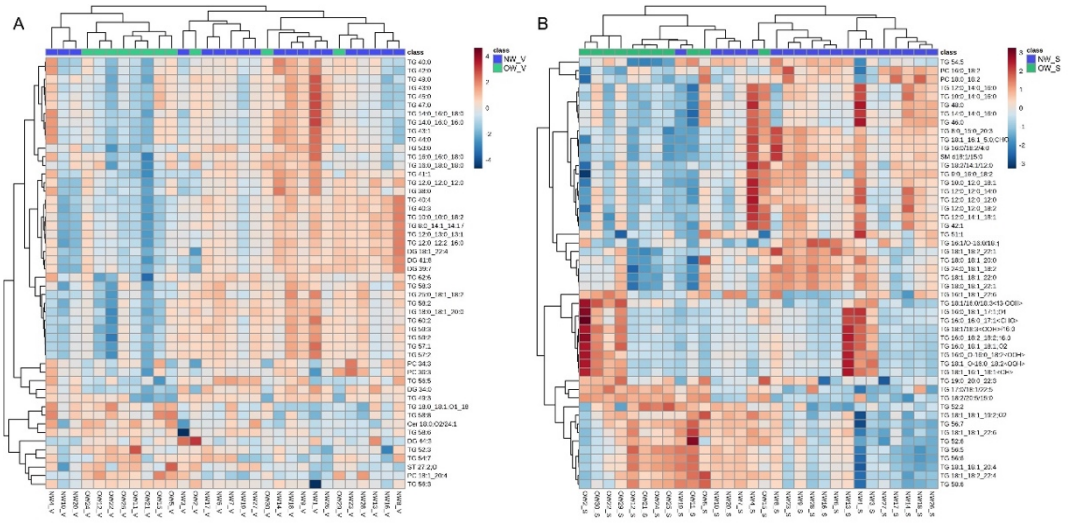


Figura 34. Heatmap. Especies lipídicas significativas detectadas en TABv (A) y TABs (B) analizadas mediante UHPLC−MS. El gradiente de color de rojo a azul representa intensidades de señal de alta a baja, respectivamente, para cada especie lipídica. Los cuadros azules indican el grupo control (NW) y los cuadros verdes representan el grupo OW/OB.

Tabla 16. Especies lipídicas anotadas en TABs y TABv tras el análisis por UHPLC-MS, el procesamiento y normalización de datos, y la anotación lipídica.

Cada especie lipídica se definió por su masa, relación masa-carga (m/z), tiempo de retención (RT, en minutos), composición total, candidato, depósito (TABs o TABv), aducto, porcentaje de cambio, cambio relativo, resultados del análisis univariante (p valor), procedimiento de Benjamini-Hochberg (pBH) y análisis multivariante de datos (VIP, Importancia Variable en la Proyección). Las celdas en rojo indican una disminución, las celdas en verde indican un aumento, y las celdas en azul o naranja indican significancia estadística según cada análisis estadístico.

Masa	*m/z*	RT (min)	Composición total	Candidato	Depósito	Aducto	% cambio	Cambio relativo	p valor	pBH	VIP
674,4893	675,4965	12,090	DG 39:7	DG 17:1/22:6	TABs	[M+Na]+	-63,2	0,37	2,6E-03	7,7E-02	2,0
622,5575	623,5647	12,190	DG 36:1	DG 18:0_18:1	TABs	[M+NH4]+	-18,6	0,81	2,5E-01	5,0E-01	1,0
659,5487	660,5559	11,530	DG 38:5	DG 18:1_20:4	TABs	[M+NH4]+	33,5	1,33	1,5E-01	3,9E-01	1,0
700,5062	701,5134	12,140	DG 41:8	DG 18:2/22:6	TABs	[M+Na]+	-68,9	0,31	9,3E-04	4,2E-02	2,2
668,5356	686,5718	11,600	DG 40:6	DG 18:2_22:4	TABs	[M+NH4]+	38,4	1,38	6,4E-02	2,6E-01	1,0
752,6232	753,6304	11,940	DG 44:3	DG 44:3	TABs	[M+Na]+	25,5	1,26	4,4E-01	6,9E-01	1,1
780,6532	781,6604	12,060	DG 46:3	DG 46:3	TABs	[M+Na]+	29,0	1,29	7,6E-01	8,9E-01	1,0
778,624	779,6312	11,980	DG 48:7	DG 48:7	TABs	[M+Na]+	56,7	1,57	1,6E-01	3,9E-01	1,4
804,6589	805,6661	11,920	DG 50:8	DG 50:8	TABs	[M+Na]+	69,5	1,69	5,5E-01	7,7E-01	1,4
296,2342	297,2414	1,340	FA 18:2;O	FA 18:2;O	TABs	[M+NH4]+	41,8	1,42	4,8E-02	2,3E-01	1,4
294,2185	295,2257	0,960	FA 18:3;O	FA 18:3;O	TABs	[M+H]+	67,3	1,67	1,1E-01	3,3E-01	1,1
783,6456	784,6528	12,410	HexCer 40:1;2O	HexCer 18:1;2O/22:0	TABs	[M+CH3COO]-	-32,2	0,68	4,5E-03	9,4E-02	1,2
462,3694	463,3766	5,250	MG 24:1	MG 24:1/0:0/0:0	TABs	[M+Na]+	81,7	1,82	1,6E-02	1,6E-01	1,3
789,632	790,6392	12,130	PA 41:1	PA 22:1/19:0	TABs	[M+NH4]+	40,2	1,40	6,4E-01	8,2E-01	1,1
757,5626	758,5698	8,080	PC 34:2	PC 16:0_18:2	TABs	[M+H]+	-27,4	0,73	5,1E-02	2,5E-01	1,1
781,5612	782,5684	7,830	PC 36:4	PC 16:0_20:4	TABs	[M+H]+	-23,6	0,76	2,0E-01	4,7E-01	1,0
785,5929	786,6001	10,340	PC 36:2	PC 18:0_18:2	TABs	[M+H]+	-24,3	0,76	4,7E-02	2,3E-01	1,0
785,5911	786,5983	9,930	PC 36:2	PC 18:1_18:1	TABs	[M+H]+	-32,2	0,68	1,8E-02	1,6E-01	1,1
783,5774	784,5846	8,320	PC 36:3	PC 18:1_18:2	TABs	[M+H]+	-31,8	0,68	2,1E-02	1,9E-01	1,2
781,5618	782,569	7,100	PC 36:4	PC 18:2_18:2	TABs	[M+H]+	-41,0	0,59	9,5E-03	1,3E-01	1,5

755,5481	756,5553	6,750	PC 34:3	PC 18:3_16:0	TABs	[M+H]+	-44,1	0,56	5,7E-04	3,8E-02	1,7
805,5629	806,5701	6,870	PC 38:6	PC 20:3_18:3	TABs	[M+H]+	-34,0	0,66	5,7E-02	2,6E-01	1,3
739,5179	740,5251	7,900	PC 33:4	PC 33:4	TABs	[M+H]+	-29,0	0,71	3,3E-02	2,2E-01	1,2
775,6336	776,6408	12,060	PC O-36:0	PC O-16:0/20:0	TABs	[M+H]+	39,8	1,40	7,0E-01	8,6E-01	1,2
717,5298	718,537	9,660	PE 34:1	PE 16:0_18:1	TABs	[M+H]+	-26,2	0,74	2,5E-03	8,3E-02	1,1
715,5193	716,5265	8,130	PE 34:2	PE 16:0_18:2	TABs	[M+H]+	-39,3	0,61	3,3E-03	9,0E-02	1,4
741,5336	742,5408	8,380	PE 36:3	PE 18:2_18:1	TABs	[M+H]+	-40,5	0,60	4,4E-03	9,4E-02	1,4
777,564	778,5712	11,370	PE O-40:6	PE O-18:0_22:6	TABs	[M+H]+	-35,7	0,72	4,1E-03	1,2E-02	1,1
727,5527	728,5599	11,430	PE O-36:3	PE O-18:1_18:2	TABs	[M+H]+	-22,9	0,77	2,9E-02	2,0E-01	1,2
751,5517	752,5589	11,260	PE O-38:5	PE O-18:1_20:4	TABs	[M-H]+	-28,5	0,71	4,3E-02	2,4E-01	1,1
779,5839	780,5911	11,780	PE O-40:5	PE O-18:1_22:4	TABs	[M+H]+	-32,9	0,74	1,6E-02	4,0E-01	1,1
787,5366	788,5438	7,750	PS 36:2	PS 18:1_18:1	TABs	[M+H]+	-21,9	0,78	3,0E-01	5,7E-01	1,0
705,5905	706,5977	12,160	SM d33:1	SM d18:1/15:0	TABs	[M+NH4]+	-68,0	0,32	4,3E-04	2,6E-02	2,2
273,2662	274,2734	1,670	SPB 16:0	SPB 16:0	TABs	[M+H]+	-70,2	0,30	3,2E-01	5,7E-01	1,2
716,5926	717,5998	12,840	TG 40:0	TG 10:0_12:0_18:0	TABs	[M+Na]+	-31,9	0,68	4,9E-02	2,3E-01	1,3
709,6225	710,6297	12,590	TG 40:1	TG 10:0_12:0_18:1	TABs	[M+NH4]+	-43,9	0,56	1,6E-02	1,6E-01	1,6
711,6382	712,6454	12,860	TG 40:0	TG 10:0_14:0_16:0	TABs	[M+NH4]+	-38,0	0,62	8,4E-02	3,0E-01	1,4
790,6067	791,6139	12,470	TG 46:5	TG 10:0_18:2_18:3	TABs	[M+Na]+	-33,4	0,67	5,3E-02	2,4E-01	1,4
688,5615	684,617	12,540	TG 38:0	TG 12:0/12:0/14:0	TABs	[M+NH4]+	-42,2	0,58	2,3E-02	1,8E-01	1,6
695,6009	696,6081	12,240	TG 39:1	TG 12:0/15:0/12:1	TABs	[M+NH4]+	-50,5	0,50	5,2E-03	1,0E-01	1,8
762,7094	780,7431	14,370	TG O-46:1	TG 12:0/O-16:0/18:1	TABs	[M+NH4]+	-43,5	0,57	7,0E-03	1,2E-01	1,6
655,5752	656,5824	12,240	TG 36:0	TG 12:0_12:0_12:0	TABs	[M+NH4]+	-56,3	0,44	2,2E-02	1,8E-01	1,7
683,6061	684,6133	12,530	TG 38:0	TG 12:0_12:0_14:0	TABs	[M+NH4]+	-47,8	0,52	3,1E-02	2,0E-01	1,6
735,638	736,6452	12,590	TG 42:2	TG 12:0_12:0_18:2	TABs	[M+NH4]+	-37,1	0,63	3,9E-02	2,2E-01	1,4
712,5615	713,5687	12,360	TG 40:2	TG 12:0_12:2_16:0	TABs	[M+Na]+	-54,5	0,45	3,1E-03	8,2E-02	1,9
725,652	726,6592	13,010	TG 41:0	TG 12:0_14:0_15:0	TABs	[M+NH4]+	-33,4	0,67	9,5E-02	3,1E-01	1,4
739,6699	740,6771	13,190	TG 42:0	TG 12:0_14:0_16:0	TABs	[M+NH4]+	-30,4	0,70	1,2E-01	3,5E-01	1,3
763,67	764,6772	12,910	TG 44:2	TG 12:0_14:1_18:1	TABs	[M+NH4]+	-24,7	0,75	7,2E-02	2,8E-01	1,1
753,6867	754,6939	13,390	TG 43:0	TG 12:0_15:0_16:0	TABs	[M+NH4]+	-33,1	0,67	1,5E-01	3,8E-01	1,4
779,703	780,7102	13,390	TG 45:1	TG 12:0_15:0_18:1	TABs	[M+NH4]+	-19,8	0,80	2,2E-01	4,8E-01	1,1
777,684	778,6912	13,060	TG 45:2	TG 12:0_15:1_18:1	TABs	[M+NH4]+	-19,5	0,81	1,5E-01	3,9E-01	1,1

784,6583	785,6655	13,400	TG 45:1	TG 12:0_16:1_17:0	TABs	[M+Na]+	-23,9	0,76	2,2E-01	4,7E-01	1,1
830,6726	831,6798	11,970	TG 48:4;2O	TG 12:0_18:1_18:3;2O	TABs	[M+NH4]+	52,8	1,53	6,1E-01	8,0E-01	1,3
754,6093	755,6165	12,750	TG 43:2	TG 12:2_15:0_16:0	TABs	[M+Na]+	-31,6	0,68	2,1E-02	1,8E-01	1,3
772,657	773,6642	13,580	TG 44:0	TG 13:0_15:0_16:0	TABs	[M+Na]+	-32,7	0,67	9,3E-02	3,1E-01	1,3
653,5585	654,5657	12,080	TG 36:1	TG 14:0/12:0/10:1	TABs	[M+NH4]+	-69,2	0,31	3,6E-03	8,8E-02	2,1
807,771	808,7782	14,990	TG O-48:1	TG 14:0/O-16:0/18:1	TABs	[M+NH4]+	-38,0	0,62	9,8E-03	1,4E-01	1,4
744,6246	745,6318	13,180	TG 42:0	TG 14:0_14:0_14:0	TABs	[M+Na]+	-28,1	0,72	1,0E-01	3,2E-01	1,2
767,7008	768,708	13,590	TG 44:0	TG 14:0_14:0_16:0	TABs	[M+NH4]+	-31,2	0,69	1,2E-01	3,5E-01	1,3
768,6242	769,6314	12,900	TG 44:2	TG 14:0_14:1_16:1	TABs	[M+Na]+	-21,2	0,79	7,9E-02	3,0E-01	1,0
781,7156	782,7228	13,820	TG 45:0	TG 14:0_15:0_16:0	TABs	[M+NH4]+	-30,0	0,70	2,0E-01	4,6E-01	1,3
822,7366	823,7438	12,710	TG 48:0;1O	TG 14:0_16:0_18:0;1O	TABs	[M+NH4]+	10,3	1,10	5,8E-01	7,9E-01	1,1
679,5749	680,5821	12,140	TG 38:2	TG 16:0/18:2/4:0	TABs	[M+NH4]+	-71,9	0,28	5,1E-04	2,9E-02	2,3
818,7744	819,7816	15,720	TG O-50:1	TG 16:0/O-16:0/18:1	TABs	[M+H]+	-38,4	0,76	2,3E-02	3,7E-01	1,1
844,7863	845,7935	15,690	TG O-52:2	TG 16:0/O-18:1/18:1	TABs	[M+H]+	-37,4	0,74	4,9E-02	4,3E-01	1,0
850,7414	851,7486	12,680	TG 49:2;1O	TG 16:0_16:0_17:1<COH>	TABs	[M+NH4]+	132,2	2,32	7,6E-01	8,9E-01	1,2
856,7494	857,7566	15,330	TG 50:0	TG 16:0_16:0_18:0	TABs	[M+Na]+	-29,9	0,70	6,9E-02	2,7E-01	1,0
870,6708	871,678	12,960	TG 52:7	TG 16:0_16:3_20:4	TABs	[M+Na]+	61,5	1,61	5,3E-02	2,4E-01	1,3
879,8275	880,8347	16,090	TG 52:0	TG 16:0_18:0_18:0	TABs	[M+NH4]+	-11,8	0,88	1,3E-01	3,6E-01	1,1
907,8561	908,8633	17,040	TG 54:0	TG 16:0_18:0_20:0	TABs	[M+NH4]+	-16,7	0,83	1,0E-01	3,2E-01	1,3
878,7548	879,762	12,510	TG 51:2;1O	TG 16:0_18:1_17:1;1O	TABs	[M+NH4]+	69,1	1,69	9,7E-01	9,9E-01	1,1
889,7662	890,7734	12,610	TG 52:2;2O	TG 16:0_18:1_18:1;2O	TABs	[M+NH4]+	66,8	1,67	3,2E-01	5,7E-01	1,2
887,7578	888,765	12,620	TG 52:4;1O	TG 16:0_18:2_18:2;1O	TABs	[M+NH4]+	63,5	1,64	4,1E-01	6,7E-01	1,2
938,8269	939,8341	17,010	TG 56:1	TG 16:0_22:0_18:1	TABs	[M+Na]+	-26,3	0,74	1,1E-01	3,5E-01	1,3
967,7766	968,7838	13,060	TG 60:12	TG 16:0_22:6_22:6	TABs	[M+NH4]+	55,2	1,55	5,5E-02	2,6E-01	1,5
870,7315	871,7387	12,670	TG O-50:2;1O	TG 16:0_O-16:0_18:2<OOH>	TABs	[M+Na]+	36,3	1,36	2,3E-01	4,9E-01	1,0
816,7555	834,7892	15,010	TG O-50:2	TG 16:1/O-16:0/18:1	TABs	[M+NH4]+	-37,6	0,62	2,7E-02	2,1E-01	1,2
919,7647	920,7719	13,190	TG 56:8	TG 16:1_18:1_22:6	TABs	[M+NH4]+	49,6	1,50	6,4E-02	2,6E-01	1,2
938,8054	939,8126	13,910	TG 57:6	TG 17:0/18:1/22:5	TABs	[M+NH4]+	83,4	1,83	1,2E-06	8,4E-04	1,8
893,8405	894,8477	16,560	TG 53:0	TG 17:0_18:0_18:0	TABs	[M+NH4]+	-24,4	0,76	1,0E-01	3,2E-01	1,2
962,828	963,8352	16,140	TG 58:3	TG 17:0_19:0_22:3	TABs	[M+Na]+	-29,9	0,70	3,0E-02	2,1E-01	1,2
952,8416	953,8488	17,590	TG 57:1	TG 17:0_21:0_19:1	TABs	[M+Na]+	-37,7	0,62	2,5E-02	1,9E-01	1,6

933,8735	934,8807	17,010	TG 56:1	TG 18:0_18:1_20:0	TABs	[M+NH4]+	-27,6	0,72	4,9E-02	2,3E-01	1,4
964,8435	965,8507	16,970	TG 58:2	TG 18:0_18:1_22:1	TABs	[M+Na]+	-29,9	0,70	7,3E-02	3,0E-01	1,3
930,7655	931,7731	14,420	TG 56:5	TG 18:0_18:2_20:3	TABs	[M+Na]+	30,4	1,30	3,7E-02	2,3E-01	1,0
958,7968	959,804	14,860	TG 58:5	TG 18:0_20:1_20:4	TABs	[M+Na]+	37,2	1,37	1,4E-01	3,8E-01	1,0
924,8071	925,8143	16,510	TG 55:1	TG 18:1/15:0/22:0	TABs	[M+Na]+	-46,3	0,54	1,2E-03	5,1E-02	1,8
908,7008	909,7080	12,430	TG 52:4;13-OOH	TG 18:1/16:0/18:3<13-OOH>	TABs	[M+Na]+	379,6	4,80	1,1E-03	4,7E-02	2,3
971,8898	972,897	16,570	TG 59:3	TG 18:1/18:2/23:0	TABs	[M+NH4]+	-41,5	0,59	1,5E-02	1,7E-01	1,5
886,7343	904,7645	12,610	TG 52:5;1O	TG 18:1/18:3<OOH>/16:0	TABs	[M+NH4]+	85,5	1,85	4,1E-01	6,7E-01	1,4
846,803	847,8102	16,610	TG 50:2;OH	TG 18:1_16:0_16:1<OH>	TABs	[M+NH4]+	-14,8	0,85	2,2E-01	4,9E-01	1,1
882,7606	883,7678	14,590	TG 54:4	TG 18:1_16:0_20:3	TABs	[M+NH4]+	10,5	1,11	4,9E-02	2,5E-01	0,5
894,7269	895,7341	12,560	TG 52:3;1O	TG 18:1_16:1_18:1<OH>	TABs	[M+Na]+	37,0	1,37	4,6E-01	7,1E-01	1,1
707,5699	708,5771	12,360	TG 39:2;O	TG 18:1_16:1_5:0;COH	TABs	[M+NH4]+	-56,1	0,44	2,4E-03	7,7E-02	1,9
945,7832	946,7904	13,340	TG 55:4;2O	TG 18:1_18:1_19:2;2O	TABs	[M+NH4]+	62,5	1,63	2,7E-02	1,9E-01	1,4
928,7512	929,7584	13,910	TG 56:6	TG 18:1_18:1_20:4	TABs	[M+Na]+	31,3	1,31	1,6E-02	1,7E-01	1,1
948,8116	949,8188	15,690	TG 57:3	TG 18:1_18:1_21:1	TABs	[M+Na]+	-23,2	0,77	4,6E-02	2,3E-01	1,1
959,8894	960,8966	16,980	TG 58:2	TG 18:1_18:1_22:0	TABs	[M+NH4]+	-35,1	0,65	4,6E-02	2,3E-01	1,5
954,7657	955,7729	13,870	TG 58:7	TG 18:1_18:1_22:5	TABs	[M+Na]+	31,8	1,32	2,3E-02	1,9E-01	1,0
947,7972	948,8044	13,490	TG 58:8	TG 18:1_18:1_22:6	TABs	[M+NH4]+	39,7	1,40	6,7E-02	2,8E-01	1,1
791,6606	792,6678	12,160	TG 45:2;2O	TG 18:1_18:1_9:1;OH	TABs	[M+NH4]+	39,7	1,40	7,6E-01	8,9E-01	1,1
955,8578	956,865	15,400	TG 58:4	TG 18:1_18:2_22:1	TABs	[M+NH4]+	-24,1	0,76	1,8E-02	1,7E-01	1,0
949,8108	950,818	13,850	TG 58:7	TG 18:1_18:2_22:4	TABs	[M+NH4]+	40,7	1,41	2,4E-02	1,9E-01	1,1
985,9036	986,9108	16,860	TG 60:3	TG 18:1_20:1_22:1	TABs	[M+NH4]+	-17,2	0,83	1,7E-01	4,1E-01	1,2
952,8515	953,8587	15,650	TG 59:4	TG 18:1_23:1_18:2	TABs	[M+NH4]+	-24,3	0,76	3,1E-02	2,1E-01	1,0
896,7464	897,7536	12,720	TG O-52:3;2O	TG 18:1_O-16:0_18:2<OOH>	TABs	[M+Na]+	29,2	1,29	7,6E-01	8,9E-01	1,0
710,5469	711,5541	12,160	TG 40:3	TG 18:2/12:1/10:0	TABs	[M+Na]+	-67,3	0,33	4,2E-04	2,6E-02	2,2
733,6219	734,6291	12,380	TG 42:3	TG 18:2/12:1/5:0	TABs	[M+NH4]+	-40,2	0,60	1,2E-02	1,4E-01	1,5
761,6544	762,6616	12,640	TG 44:3	TG 18:2/14:1/12:0	TABs	[M+NH4]+	-29,6	0,70	4,7E-02	2,3E-01	1,3
759,6371	760,6443	12,410	TG 44:4	TG 18:2/18:2/8:0	TABs	[M+NH4]+	-29,8	0,70	8,4E-02	3,0E-01	1,1
862,695	863,7022	13,45	TG 53:7	TG 18:2/20:5/15:0	TABs	[M+H]+	239,2	3,39	2,5E-05	3,5E-03	2,8
948,7177	949,7249	13,040	TG 58:10	TG 18:2_18:2_22:6	TABs	[M+Na]+	41,3	1,41	9,8E-02	3,4E-01	1,1
990,8593	991,8665	17,090	TG 60:3	TG 18:2_20:0_22:1	TABs	[M+Na]+	-38,8	0,61	1,5E-02	1,7E-01	1,5

998,7173	999,7245	13,070	TG O-58:9;3O	TG 18:2_20:5_20:2<OH,OOH>	TABs	[M+Na]+	38,8	1,39	1,9E-02	2,5E-01	1,0
831,7656	832,7728	14,400	TG O-50:4;O	TG 18:2_O-16:2_O-16:0<OH>	TABs	[M+NH4]+	-35,3	0,65	3,5E-02	2,2E-01	1,1
982,9007	983,9079	16,19	TG 61:3	TG 19:0_20:0_22:3	TABs	[M+H]+	153,2	2,53	5,8E-04	3,2E-02	2,0
952,712	953,7192	12,520	TG 55:3;O2	TG 22:2_17:1_16:0;2O	TABs	[M+Na]+	195,0	2,95	1,4E-03	5,6E-02	2,7
988,8443	989,8515	16,220	TG 60:4	TG 24:0/18:2/18:2	TABs	[M+Na]+	-32,4	0,68	2,6E-02	2,0E-01	1,3
985,9021	986,9093	17,090	TG 60:3	TG 24:0_18:1_18:2	TABs	[M+NH4]+	-45,0	0,55	1,9E-02	1,7E-01	1,7
686,5445	687,5517	12,360	TG 38:1	TG 4:0_16:0_18:1	TABs	[M+Na]+	-63,1	0,37	1,9E-03	6,8E-02	2,1
728,5933	729,6005	12,720	TG 41:1	TG 41:1	TABs	[M+Na]+	-23,3	0,77	1,0E-01	3,2E-01	1,1
737,6534	738,6606	12,860	TG 42:1	TG 42:1	TABs	[M+NH4]+	-26,4	0,74	1,0E-01	3,2E-01	1,2
758,6425	759,6497	13,390	TG 43:0	TG 43:0	TABs	[M+Na]+	-36,5	0,63	1,3E-01	3,6E-01	1,4
756,626	757,6332	13,030	TG 43:1	TG 43:1	TABs	[M+Na]+	-25,3	0,75	8,3E-02	2,9E-01	1,1
782,6398	783,647	13,060	TG 45:2	TG 45:2	TABs	[M+Na]+	-23,9	0,76	7,4E-02	2,8E-01	1,1
780,6252	781,6324	12,780	TG 45:3	TG 45:3	TABs	[M+Na]+	-24,2	0,76	1,3E-01	3,8E-01	1,1
795,7322	796,7394	14,050	TG 46:0	TG 46:0	TABs	[M+NH4]+	-32,7	0,67	1,7E-01	4,1E-01	1,2
792,6239	793,6311	12,680	TG 46:4	TG 46:4	TABs	[M+Na]+	-28,1	0,72	4,3E-02	2,3E-01	1,3
814,7058	815,713	14,360	TG 47:0	TG 47:0	TABs	[M+Na]+	-32,7	0,67	1,7E-01	4,1E-01	1,2
790,7046	791,7118	13,820	TG 47:1	TG 47:1	TABs	[M+NH4]+	-29,2	0,71	2,4E-01	5,0E-01	1,1
823,7636	824,7708	14,660	TG 48:0	TG 48:0	TABs	[M+NH4]+	-34,9	0,65	4,3E-02	2,3E-01	1,3
811,6709	812,6781	12,680	TG 48:6	TG 48:6	TABs	[M+NH4]+	-27,2	0,73	3,6E-02	2,2E-01	1,2
837,7787	838,7859	14,940	TG 49:0	TG 49:0	TABs	[M+NH4]+	-24,3	0,76	1,8E-01	4,3E-01	1,1
863,7955	864,8027	14,920	TG 51:1	TG 51:1	TABs	[M+NH4]+	-29,3	0,71	3,1E-02	2,0E-01	1,2
858,7697	859,7769	14,650	TG 52:2	TG 52:2	TABs	[M+Na]+	11,4	1,11	3,2E-02	2,2E-01	0,6
867,7333	868,7405	13,120	TG 52:6	TG 52:6	TABs	[M+NH4]+	43,5	1,43	6,9E-02	2,7E-01	1,1
865,721	866,7282	12,960	TG 52:7	TG 52:7	TABs	[M+NH4]+	47,2	1,47	6,4E-02	2,6E-01	1,3
897,7793	898,7865	13,690	TG 54:5	TG 54:5	TABs	[M+NH4]+	-12,5	0,87	4,1E-02	2,4E-01	0,7
925,8114	926,8186	14,410	TG 56:5	TG 56:5	TABs	[M+NH4]+	34,9	1,35	3,1E-02	2,1E-01	1,1
923,7957	924,8029	13,890	TG 56:6	TG 56:6	TABs	[M+NH4]+	34,9	1,35	1,9E-02	1,7E-01	1,1
926,7346	927,7418	13,510	TG 56:7	TG 56:7	TABs	[M+Na]+	34,6	1,35	1,4E-02	1,7E-01	1,1
924,7205	925,7277	13,330	TG 56:8	TG 56:8	TABs	[M+Na]+	44,0	1,44	2,9E-02	2,1E-01	1,2
950,8265	951,8337	16,480	TG 57:2	TG 57:2	TABs	[M+Na]+	-30,0	0,70	5,2E-02	2,4E-01	1,3
960,8145	961,8217	15,440	TG 58:4	TG 58:4	TABs	[M+Na]+	-26,9	0,73	5,3E-02	2,4E-01	1,2

951,8262	952,8334	14,300	TG 58:6	TG 58:6	TABs	[M+NH4]+	34,3	1,34	2,5E-02	2,0E-01	1,1
952,7554	953,7626	13,490	TG 58:8	TG 58:8	TABs	[M+Na]+	42,3	1,42	1,5E-02	1,7E-01	1,2
950,7361	951,7433	13,340	TG 58:9	TG 58:9	TABs	[M+Na]+	54,1	1,54	3,1E-02	2,0E-01	1,1
978,8591	979,8663	17,550	TG 59:2	TG 59:2	TABs	[M+Na]+	-35,4	0,65	9,7E-02	3,4E-01	1,6
971,8075	972,8147	13,430	TG 60:10	TG 60:10	TABs	[M+NH4]+	52,4	1,52	1,1E-01	3,3E-01	1,0
975,8323	976,8395	13,910	TG 60:8	TG 60:8	TABs	[M+NH4]+	28,6	1,29	3,5E-02	2,2E-01	0,9
625,5252	626,5324	11,790	TG 34:1	TG 8:0_10:0_16:1	TABs	[M+NH4]+	-58,1	0,42	8,2E-03	1,2E-01	1,7
730,6067	731,6139	12,360	TG 43:3	TG 8:0_15:0_20:3	TABs	[M+NH4]+	-44,8	0,55	1,9E-03	6,8E-02	1,6
740,593	741,6002	12,610	TG 42:2	TG 8:0_16:1_18:1	TABs	[M+Na]+	-33,8	0,66	5,3E-02	2,4E-01	1,4
749,6509	750,6581	12,580	TG 43:2	TG 9:0_16:0_18:2	TABs	[M+NH4]+	-36,7	0,63	9,8E-03	1,3E-01	1,5
786,6717	787,6789	13,830	TG 45:0	TG 9:0_18:0_18:0	TABs	[M+Na]+	-34,7	0,65	1,3E-01	3,6E-01	1,3
842,6982	843,7054	12,470	TG O-48:2;2O	TG O-16:0_14:0_18:2<OOH>	TABs	[M+Na]+	28,6	1,29	4,9E-01	7,3E-01	1,1
631,6243	632,6315	12,24	Cer 42:1;2O	Cer 18:0;2O/24:1	TABv	[M+H-H2O]+	36,0	1,36	0,025	0,305	0,3
594,5226	595,5298	11,9	DG 34:1	DG 16:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	29,8	1,30	0,946	0,987	1,1
592,5063	593,5135	11,56	DG 34:2	DG 16:0_18:2	TABv	[M+NH4]+	29,7	1,30	0,907	0,976	1,5
620,5381	621,5453	11,94	DG 36:2	DG 18:1_18:1	TABv	[M+NH4]+	25,8	1,26	0,842	0,952	1,5
618,5228	619,5300	11,65	DG 36:3	DG 18:1_18:2	TABv	[M+NH4]+	26,8	1,27	0,751	0,930	1,9
692,5675	693,5747	11,86	DG 40:5	DG 18:1_22:4	TABv	[M+Na]+	-52,0	0,48	0,013	0,241	0,6
618,5167	619,5239	11,88	DG 34:0	DG 34:0	TABv	[M+Na]+	-93,2	0,07	0,000	0,000	0,0
674,4892	675,4964	12,09	DG 39:7	DG 39:7	TABv	[M+Na]+	-39,8	0,60	0,028	0,305	0,3
700,5060	701,5132	12,14	DG 41:8	DG 41:8	TABv	[M+Na]+	-49,1	0,51	0,043	0,385	0,5
752,6291	753,6363	11,99	DG 44:3	DG 44:3	TABv	[M+Na]+	58,1	1,58	0,009	0,192	0,4
807,5760	808,5832	8,02	PC 38:5	PC 18:1_20:4	TABv	[M+H]+	226,7	3,27	0,000	0,015	0,6
755,5473	756,5545	6,74	PC 34:3	PC 34:3	TABv	[M+H]+	-44,0	0,56	0,019	0,282	0,3
783,5774	784,5846	8,3	PC 36:3	PC 36:3	TABv	[M+H]+	-38,6	0,61	0,048	0,390	0,8
384,3389	385,3461	6,7	ST 27:2;O	ST 27:2;O	TABv	[M+H]+	51,2	1,51	0,018	0,279	0,2
679,5762	680,5834	12,14	TG 38:2	TG 10:0_10:0_18:2	TABv	[M+NH4]+	-56,5	0,43	0,029	0,307	1,6
655,5750	656,5822	12,28	TG 36:0	TG 12:0/12:0/12:0 / TG 10:0_12:0_14:0	TABv	[M+NH4]+	-39,1	0,61	0,087	0,477	1,0
707,6069	708,6141	12,37	TG 40:2	TG 12:0_12:2_16:0 / TG 10:0_12:0_18:2	TABv	[M+NH4]+	-46,7	0,53	0,023	0,286	1,9

681,5915	682,5987	12,36	TG 38:1	TG 12:0_13:0_13:1 / TG 10:0_10:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	-47,8	0,52	0,058	0,420	1,9
765,6869	766,6941	13,2	TG 44:1	TG 12:0_14:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	-7,6	0,92	0,413	0,814	2,9
839,7014	840,7086	12,98	TG 50:6	TG 12:0_16:0_22:6	TABv	[M+NH4]+	4,4	1,04	0,426	0,805	1,8
817,7195	818,7267	13,26	TG 48:3	TG 12:0_18:1_18:2	TABv	[M+NH4]+	8,2	1,08	0,381	0,800	3,1
795,7327	796,7399	14,05	TG 46:0	TG 14:0_16:0_16:0	TABv	[M+NH4]+	-18,9	0,81	0,184	0,641	2,5
823,7638	824,7710	14,66	TG 48:0	TG 14:0_16:0_18:0	TABv	[M+NH4]+	-22,0	0,78	0,071	0,434	3,0
821,7491	822,7563	14,04	TG 48:1	TG 14:0_16:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	9,4	1,09	0,594	0,875	3,0
845,7489	846,7561	13,63	TG 50:3	TG 14:0_18:1_18:2 / TG 16:1_16:1_18:1	TABv	[M+NH4]+	6,7	1,07	0,169	0,638	3,4
835,7642	836,7714	14,33	TG 49:1	TG 15:0_16:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	1,3	1,01	0,714	0,920	2,5
896,7441	897,7513	12,72	TG 52:2;O1	TG 16:0;O1_18:1_18:1	TABv	[M+Na]+	64,6	1,65	0,830	0,945	3,0
886,7310	887,7382	12,42	TG 50:1;O2 / TG 52:4;O2	TG 16:0_16:0;O2_18:1 / TG 16:0_18:1_18:3;O2	TABv	[M+Na]+	57,2	1,57	0,576	0,862	2,8
851,7970	852,8042	15,32	TG 50:0	TG 16:0_16:0_18:0	TABv	[M+NH4]+	-12,5	0,87	0,135	0,568	2,8
849,7797	850,7869	14,64	TG 50:1	TG 16:0_16:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	-3,3	0,97	0,381	0,800	3,7
863,7959	864,8031	14,93	TG 51:1	TG 16:0_17:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	-4,6	0,95	0,519	0,843	2,7
861,7802	862,7874	14,33	TG 51:2	TG 16:0_17:1_18:1 / TG 15:0_18:1_18:1	TABv	[M+NH4]+	8,4	1,08	0,654	0,905	2,5
879,8270	880,8342	16,09	TG 52:0	TG 16:0_18:0_18:0	TABv	[M+NH4]+	-5,5	0,94	0,313	0,740	1,8
877,8127	878,8199	15,29	TG 52:1	TG 16:0_18:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	-1,1	0,99	0,723	0,920	3,6
880,7514	881,7586	14,62	TG 52:2	TG 16:0_18:0_18:2	TABv	[M+Na]+	8,2	1,08	0,004	0,129	1,2
880,7507	881,7579	14,59	TG 52:2	TG 16:0_18:1_18:1	TABv	[M+Na]+	10,7	1,11	0,002	0,091	1,4
856,7541	857,7613	14,13	TG 52:3	TG 16:0_18:1_18:2 / TG 16:1_18:1_18:1	TABv	[M+Na]+	11,0	1,11	0,001	0,070	2,4
889,7639	890,7711	12,86	TG 52:3;O1	TG 16:0_18:1_18:2;O1	TABv	[M+NH4]+	30,4	1,30	0,058	0,420	2,7
923,7965	924,8037	13,89	TG 56:6	TG 16:0_18:1_22:5	TABv	[M+NH4]+	14,4	1,14	0,212	0,695	2,9
871,7649	872,7721	13,69	TG 52:4	TG 16:0_18:2_18:2 / TG 16:1_18:1_18:2	TABv	[M+NH4]+	5,7	1,06	0,154	0,617	4,1
869,7498	870,7570	13,34	TG 52:5	TG 16:1_18:2_18:2 / TG 16:0_18:2_18:3	TABv	[M+NH4]+	14,3	1,14	0,215	0,700	4,1

875,7595	876,7667	12,74	TG 51:3;O1	TG 17:0_16:1_18:2;O1	TABv	[M+NH4]+	113,2	2,13	0,796	0,938	2,0
889,8108	890,8180	14,92	TG 53:2	TG 17:0_18:1_18:1	TABv	[M+NH4]+	3,2	1,03	0,991	1,000	2,8
905,8432	906,8504	16,06	TG 54:1	TG 18:0_18:0_18:1	TABv	[M+NH4]+	-9,1	0,91	0,433	0,821	3,8
917,8118	918,8190	13,34	TG 54:3;1O	TG 18:0_18:1;1O_18:2	TABv	[M+NH4]+	57,6	1,58	0,012	0,241	2,1
903,8281	904,8353	15,25	TG 54:2	TG 18:0_18:1_18:1	TABv	[M+NH4]+	-1,4	0,99	0,966	0,988	4,2
933,8738	934,8810	17,01	TG 56:1	TG 18:0_18:1_20:0	TABv	[M+NH4]+	-28,6	0,71	0,070	0,453	2,1
929,7717	930,7789	12,53	TG 54:5;O2	TG 18:1_18:1_18:3;O2	TABv	[M+NH4]+	56,7	1,57	0,491	0,835	2,7
929,8431	930,8503	15,19	TG 56:3	TG 18:1_18:1_20:1	TABv	[M+NH4]+	12,9	1,13	0,325	0,760	3,2
896,7458	897,7530	12,79	TG 54:5;O1	TG 18:1_18:2_18:2;O1	TABv	[M+NH4]+	6,1	1,06	0,576	0,862	2,8
927,7531	928,7603	12,45	TG 54:6;O2	TG 18:1_18:2_18:3;O2	TABv	[M+NH4]+	41,6	1,42	0,366	0,765	1,7
913,8111	914,8183	14,23	TG 55:4	TG 18:1_18:2_19:1	TABv	[M+NH4]+	6,7	1,07	0,123	0,558	2,4
895,7645	896,7717	13,35	TG 54:6	TG 18:2/18:2/18:2	TABv	[M+NH4]+	-22,0	0,78	0,150	0,613	4,5
923,7955	924,8027	14,22	TG 56:6	TG 22:6_16:0_18:0	TABv	[M+NH4]+	-16,5	0,83	0,005	0,142	2,5
1004,8785	1005,8857	17,69	TG 61:3	TG 25:0_18:1_18:2	TABv	[M+Na]+	-25,4	0,75	0,046	0,390	0,2
683,6067	684,6139	12,55	TG 38:0	TG 38:0	TABv	[M+NH4]+	-37,1	0,63	0,153	0,594	1,4
711,6384	712,6456	12,85	TG 40:0	TG 40:0	TABv	[M+NH4]+	-34,2	0,66	0,219	0,675	2,2
709,6221	710,6293	12,59	TG 40:1	TG 40:1	TABv	[M+NH4]+	-24,8	0,75	0,139	0,597	1,6
705,5910	706,5982	12,16	TG 40:3	TG 40:3	TABv	[M+NH4]+	-64,1	0,36	0,003	0,120	1,4
703,5762	704,5834	11,97	TG 40:4	TG 40:4	TABv	[M+NH4]+	-64,7	0,35	0,008	0,188	0,7
723,6348	724,6420	12,55	TG 41:1	TG 41:1	TABv	[M+NH4]+	-53,3	0,47	0,001	0,057	1,2
739,6701	740,6773	13,19	TG 42:0	TG 42:0	TABv	[M+NH4]+	-24,9	0,75	0,491	0,835	2,7
737,6537	738,6609	12,87	TG 42:1	TG 42:1	TABv	[M+NH4]+	-17,6	0,82	0,292	0,757	2,5
735,6383	736,6455	12,61	TG 42:2	TG 42:2	TABv	[M+NH4]+	-29,8	0,70	0,321	0,740	2,2
753,6866	754,6938	13,39	TG 43:0	TG 43:0	TABv	[M+NH4]+	-24,8	0,75	0,178	0,636	1,1
751,6709	752,6781	13,59	TG 43:1	TG 43:1	TABv	[M+NH4]+	-22,1	0,78	0,439	0,805	1,6
767,7013	768,7085	13,59	TG 44:0	TG 44:0	TABv	[M+NH4]+	-21,4	0,79	0,439	0,805	2,6
763,6708	764,6780	12,91	TG 44:2	TG 44:2	TABv	[M+NH4]+	-12,3	0,88	0,293	0,757	2,7
761,6543	762,6615	12,65	TG 44:3	TG 44:3	TABv	[M+NH4]+	-12,3	0,88	0,288	0,757	1,1
781,7161	782,7233	13,83	TG 45:0	TG 45:0	TABv	[M+NH4]+	-18,4	0,82	0,218	0,675	1,3
779,7003	780,7075	13,39	TG 45:1	TG 45:1	TABv	[M+NH4]+	-16,0	0,84	0,268	0,716	1,4
793,7178	794,7250	13,59	TG 46:1	TG 46:1	TABv	[M+NH4]+	-3,8	0,96	0,519	0,871	3,1

791,7035	792,7107	13,24	TG 46:2	TG 46:2	TABv	[M+NH4]+	-2,6	0,97	0,689	0,912	2,9
789,6871	790,6943	12,93	TG 46:3	TG 46:3	TABv	[M+NH4]+	-5,8	0,94	0,655	0,905	2,1
787,6704	788,6776	12,68	TG 46:4	TG 46:4	TABv	[M+NH4]+	-21,7	0,78	0,136	0,592	1,1
809,7474	810,7546	14,34	TG 47:0	TG 47:0	TABv	[M+NH4]+	-17,6	0,82	0,190	0,641	1,7
807,7325	808,7397	13,82	TG 47:1	TG 47:1	TABv	[M+NH4]+	-1,3	0,99	0,628	0,890	1,8
805,7182	806,7254	13,41	TG 47:2	TG 47:2	TABv	[M+NH4]+	-5,6	0,94	0,639	0,892	1,4
819,7335	820,7407	13,6	TG 48:2	TG 48:2	TABv	[M+NH4]+	7,1	1,07	0,481	0,850	3,1
815,7017	816,7089	12,96	TG 48:4	TG 48:4	TABv	[M+NH4]+	0,3	1,00	0,537	0,851	2,4
837,7783	838,7855	14,95	TG 49:0	TG 49:0	TABv	[M+NH4]+	-16,2	0,84	0,165	0,615	1,7
833,7487	834,7559	13,84	TG 49:2	TG 49:2	TABv	[M+NH4]+	3,3	1,03	0,986	0,999	1,9
831,7346	832,7418	13,43	TG 49:3	TG 49:3	TABv	[M+NH4]+	-47,5	0,52	0,035	0,341	2,4
847,7651	848,7723	14,04	TG 50:2	TG 50:2	TABv	[M+NH4]+	4,3	1,04	0,442	0,826	3,3
843,7360	844,7432	13,29	TG 50:4	TG 50:4	TABv	[M+NH4]+	8,0	1,08	0,352	0,775	2,9
841,7166	842,7238	13,01	TG 50:5	TG 50:5	TABv	[M+NH4]+	7,8	1,08	0,442	0,807	1,4
859,7646	860,7718	13,86	TG 51:3	TG 51:3	TABv	[M+NH4]+	9,4	1,09	0,428	0,821	1,9
857,7490	858,7562	13,49	TG 51:4	TG 51:4	TABv	[M+NH4]+	7,0	1,07	0,305	0,758	1,2
873,7800	874,7872	14,99	TG 52:3	TG 52:3	TABv	[M+NH4]+	30,6	1,31	0,058	0,420	1,4
867,7346	868,7418	13,29	TG 52:6	TG 52:6	TABv	[M+NH4]+	6,2	1,06	0,491	0,835	1,2
865,7192	866,7264	13,09	TG 52:7	TG 52:7	TABv	[M+NH4]+	19,2	1,19	0,273	0,755	1,4
893,8378	894,8450	16,5	TG 53:0	TG 53:0	TABv	[M+NH4]+	-64,8	0,35	0,000	0,002	1,0
891,8274	892,8346	15,64	TG 53:1	TG 53:1	TABv	[M+NH4]+	-4,0	0,96	0,533	0,877	1,9
887,7961	888,8033	14,36	TG 53:3	TG 53:3	TABv	[M+NH4]+	0,7	1,01	0,935	0,987	2,0
901,8124	902,8196	14,67	TG 54:3	TG 54:3	TABv	[M+NH4]+	-8,0	0,92	0,200	0,679	5,1
899,7950	900,8022	14,14	TG 54:4	TG 54:4	TABv	[M+NH4]+	-5,6	0,94	0,282	0,719	3,9
902,7371	903,7443	13,7	TG 54:5	TG 54:5	TABv	[M+Na]+	-21,8	0,78	0,013	0,232	2,2
893,7496	894,7568	13,28	TG 54:7	TG 54:7	TABv	[M+NH4]+	30,2	1,30	0,245	0,700	1,5
893,7492	894,7564	13,08	TG 54:7 / TG 51:2;2O	TG 54:7 / TG 51:2;2O	TABv	[M+NH4]+	10,8	1,11	0,503	0,864	1,3
917,8399	918,8471	15,59	TG 55:2	TG 55:2	TABv	[M+NH4]+	-11,6	0,88	0,093	0,488	2,3
931,8600	932,8672	16,03	TG 56:2	TG 56:2	TABv	[M+NH4]+	-13,8	0,86	0,314	0,758	3,3
934,7977	935,8049	15,35	TG 56:3	TG 56:3	TABv	[M+Na]+	38,0	1,38	0,003	0,122	1,2
927,8270	928,8342	14,74	TG 56:4	TG 56:4	TABv	[M+NH4]+	-1,5	0,98	0,964	0,993	1,4

925,8112	926,8184	14,41	TG 56:5	TG 56:5	TABv	[M+NH4]+	-28,4	0,72	0,001	0,069	3,7
921,7799	922,7871	13,51	TG 56:7	TG 56:7	TABv	[M+NH4]+	4,0	1,04	0,609	0,895	1,8
919,7641	920,7713	13,36	TG 56:8	TG 56:8	TABv	[M+NH4]+	-11,0	0,89	0,391	0,802	1,8
952,8420	953,8492	17,59	TG 57:1	TG 57:1	TABv	[M+Na]+	-34,9	0,65	0,018	0,279	0,4
950,8283	951,8355	16,49	TG 57:2	TG 57:2	TABv	[M+Na]+	-30,9	0,69	0,031	0,327	0,5
959,8890	960,8962	16,99	TG 58:2	TG 58:2	TABv	[M+NH4]+	-37,3	0,63	0,033	0,334	2,6
957,8743	958,8815	16,11	TG 58:3	TG 58:3	TABv	[M+NH4]+	-38,1	0,62	0,021	0,300	2,6
951,8269	952,8341	14,31	TG 58:6	TG 58:6	TABv	[M+NH4]+	14,5	1,15	0,322	0,758	1,1
949,8110	950,8182	13,86	TG 58:7	TG 58:7	TABv	[M+NH4]+	15,5	1,15	0,265	0,750	1,3
947,7967	948,8039	13,71	TG 58:8	TG 58:8	TABv	[M+NH4]+	54,4	1,54	0,058	0,420	1,2
978,8590	979,8662	17,57	TG 59:2	TG 59:2	TABv	[M+Na]+	-36,0	0,64	0,031	0,327	0,5
976,8472	977,8544	16,58	TG 59:3	TG 59:3	TABv	[M+Na]+	-36,1	0,64	0,025	0,308	0,5
969,7798	970,7870	12,43	TG 60:11	TG 60:11	TABv	[M+NH4]+	37,2	1,37	0,830	0,945	1,9
988,9124	989,9196	17,59	TG 60:2	TG 60:2	TABv	[M+NH4]+	-33,7	0,66	0,026	0,305	0,9
1007,8988	1008,9060	15,37	TG 62:6	TG 62:6	TABv	[M+NH4]+	-26,7	0,73	0,004	0,124	0,4
651,5448	652,5520	11,88	TG 36:2	TG 8:0_14:1_14:1 / TG 14:0_18:2_4:0	TABv	[M+Na]+	-51,1	0,49	0,046	0,390	0,7
870,7303	871,7375	12,68	TG O-50:2;O2	TG(16:0_O-16:0_18:2<OOH>)	TABv	[M+Na]+	29,4	1,29	0,763	0,930	3,5
904,7516	905,7588	14,16	TG O-54:4;O	TG(18:1_O-16:0_20:4<OH>)	TABv	[M+Na]+	-11,6	0,88	0,031	0,327	1,5
870,7320	871,7392	12,78	TG O-50:2;O2	TG(O-16:0_16:1_18:1<OOH>)	TABv	[M+Na]+	21,6	1,22	0,830	0,945	2,7

2.3 Análisis lipidómico TABs

Entre todas las especies lipídicas alteradas identificadas, tres familias lipídicas cambiaron significativamente en el TABs de niños con OW/OB. Se observó una clara reducción de EtherTG y PE con enlace éter (EtherPE) en niños con OW/OB (Figura 35A, 35B). Por otro lado, se detectaron niveles aumentados de varios OxTG, la mayoría de ellos recién descritos, en niños con OW/OB (Figura 35C). Las diferencias en los niveles de abundancia de estos lípidos en el TABs de ambos grupos se representan en la figura 35. Algunas de las familias o especies lipídicas encontradas aún no estaban definidas en LIPIDMAPS, lo que requirió una inspección manual de los espectros MS/MS para reconstruir la estructura molecular de esos lípidos o familias. La nueva familia y especies lipídicas identificadas fueron los triglicéridos con enlace éter (EtherTG) y varios triglicéridos oxidados (OxTG), respectivamente (Figura 36).

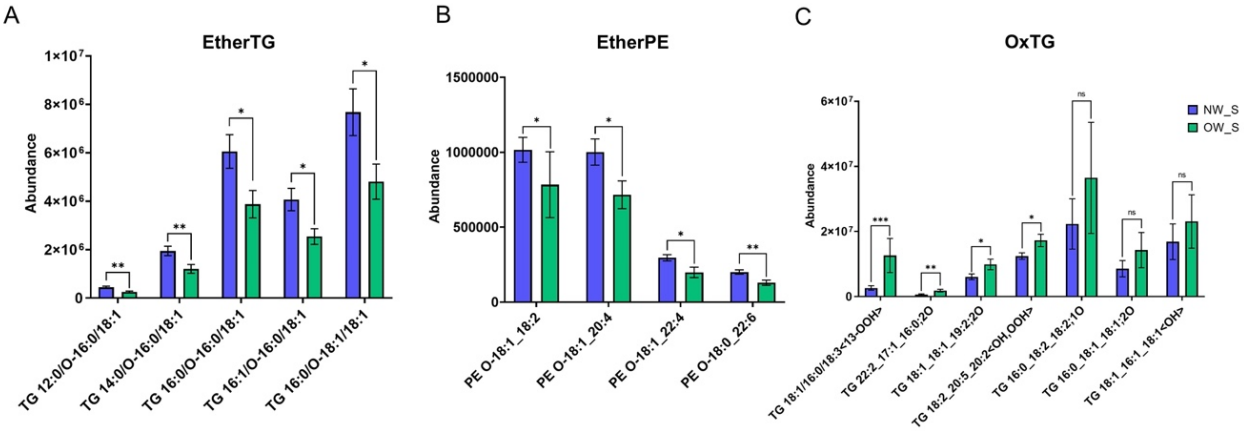


Figura 35. Diferencias en la abundancia de especies lipídicas en el TABs entre los grupos de OW/OB (barras verdes) y NW (barras azules)

El panel A muestra las especies de EtherTG, el panel B muestra las especies de EtherPE, y el panel C muestra las especies de OxTG. Las barras de error indican el error estándar de la media. * p ≤ 0,05 y ** p ≤ 0,001; ns indica diferencias no significativas.

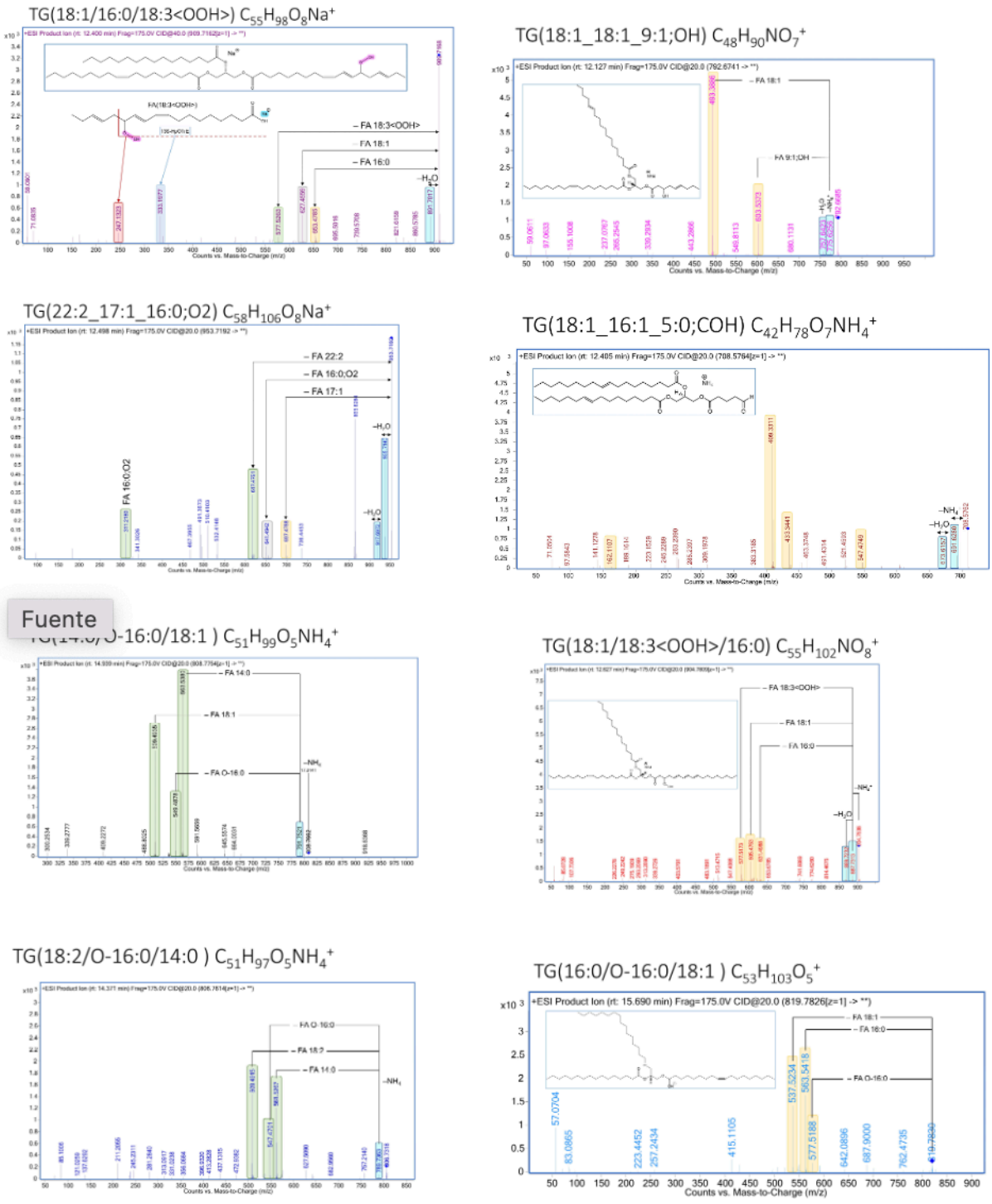


Figura 36. Espectros MS/MS de las nuevas especies lipídicas detectadas en las muestras de TABs, incluidas las especies OxTG y EtherTG

2.4 Análisis lipidómico TABv

El lipidoma de TABv de niños con OW/OB también presentó cambios significativos comparado con el lipidoma de niños NW. Concretamente, los niveles de DG saturados y poliinsaturados disminuyeron a favor de un incremento en los niveles de DG mono-, di- o triinsaturados (Figura 37A). Por otra parte, se identificó una reducción generalizada de los niveles de PC excepto los de PC 18:1_20:4, que aumentaron (Figura 37B). También se detectaron niveles elevados de la ceramida Cer 18:0;2O/24:1 (Figura 37C).

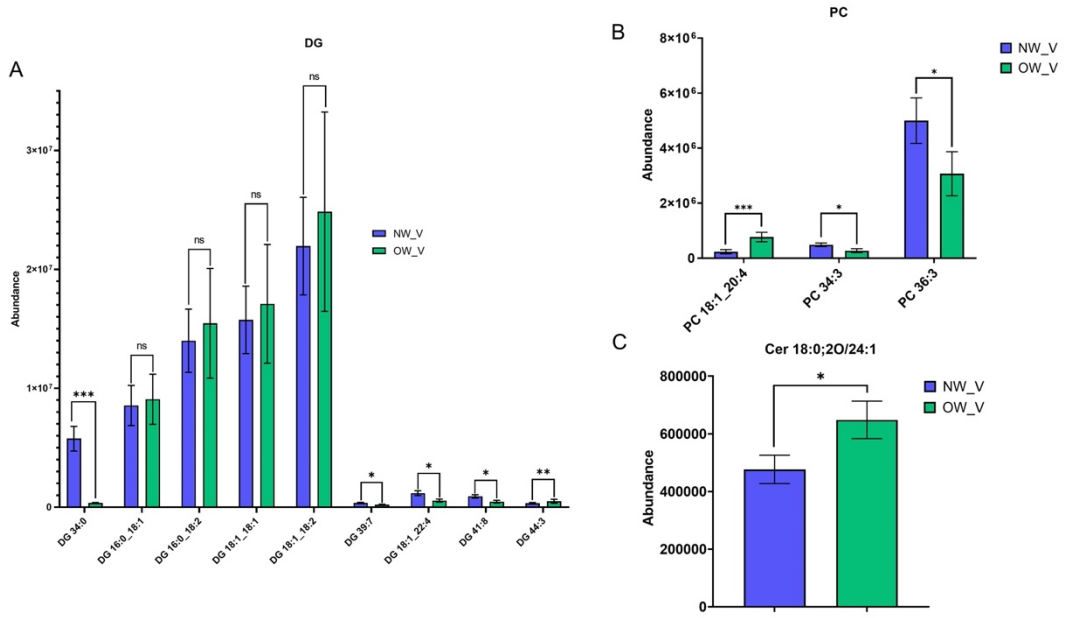


Figura 37. Diferencias en la abundancia de especies lipídicas en el TABv entre los grupos de OW/OB (barras verdes) y NW (barras azules)

El panel A muestra las especies de DG, el panel B muestra las especies de PC, y el panel C muestra Cer 18.0;2O/24:1. Las barras de error indican el error estándar de la media. * $p \leq 0,05$ y ** $p \leq 0,001$; ns indica diferencias no significativas.

2.5 Asociaciones entre la modulación del lipidoma y el estado metabólico

El análisis de correlación de Pearson encontró numerosas asociaciones significativas entre los lípidos regulados de ambos depósitos, TABv y TABs. Estas correlaciones se muestran en un heatmap (Figura 38).

Destacaron las correlaciones entre los TG de ambos depósitos por su abundancia y fuerte intensidad. Las regiones coloreadas en rojo en el heatmap sugieren que esos TG están regulados o se acumulan de manera similar en

TABv y TABs, como ocurre por ejemplo con TG 16:0_18:1_18:2 y TG 18:0_18:1_18:2. Dentro de las asociaciones positivas entre TG, se detectaron varias peculiaridades. Notablemente, se observaron fuertes correlaciones directas entre varias especies de oxTG en ambos tejidos, en particular aquellas que contienen FA 18:2 y 18:3 en TABv, y sus formas oxidadas (FA 18:2;O y FA 18:3;O) en TABs. Asimismo, TG 16:0_18:1_18:2;O1 en TABv y TG 16:0_18:2_18:2;O1 en TABs presentaron tendencias paralelas. Por otra parte, los TG con cadenas acilo saturadas y monoinsaturadas de ambos tejidos también demostraron una asociación directa. En cuanto a las especies de TG con enlace éter, los EtherTG con formas oxidadas en TABv mostraron una relación concordante con varias especies de TG en TABs.

Sin embargo, también se observaron correlaciones negativas entre los TG de TABv y TABs, reflejando el comportamiento opuesto de esos TG entre los dos depósitos. Notablemente, especies de TG con PUFA, como TG 18:1_18:1_20:4, y oxTG, como TG 18:2_20:5_20:2<OH,OOH>, en TABs mostraron una fuerte asociación negativa con TG de cadenas acilo más cortas o saturadas en TABv.

Algunos TG exhibieron correlaciones diferentes dependiendo de la estructura acilo con la que interactuaban. Los TG ricos en PUFA con cadenas de más de 56 átomos de carbono en TABs se correlacionaron negativamente con los TG de más de 47 átomos de carbono y cadenas acilo saturadas o monoinsaturadas en TABv, y positivamente con TG de estructura similar en TABv.

Finalmente, se observaron correlaciones que involucraban a otras familias de lípidos. La ceramida Cer 18:0;2O/24:1 en TABv se correlacionó positivamente con TG de cadenas acilo saturadas y monoinsaturadas en TABs. Sin embargo, esta ceramida se correlacionó negativamente con los TG ricos en PUFA del TABs.

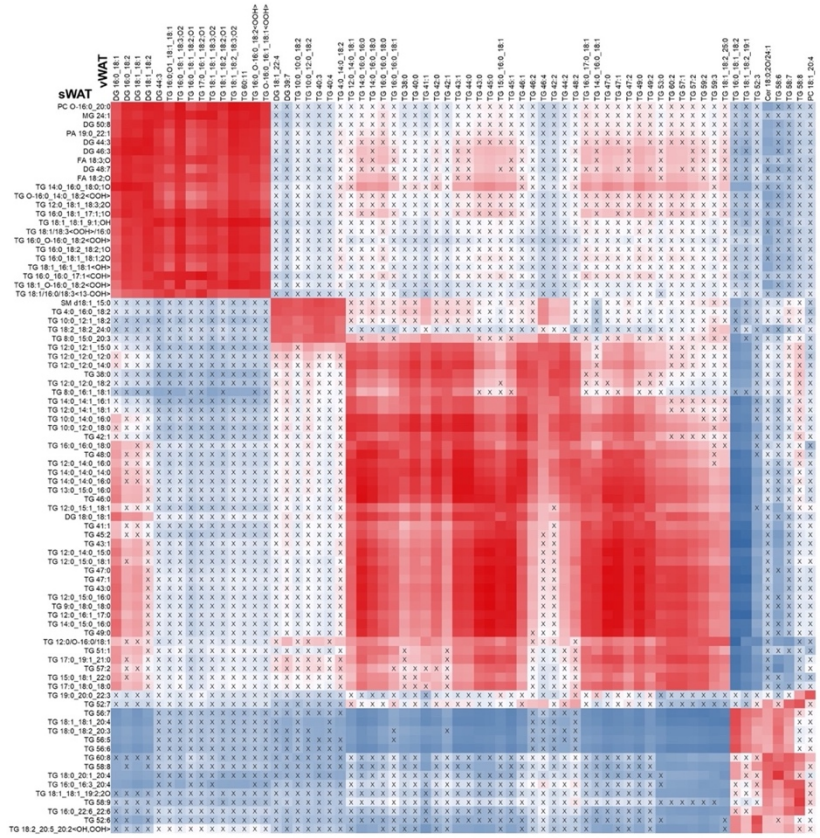


Figura 38. Heatmap. Correlación de Pearson de especies lipídicas estadísticamente significativas entre TABv (vWAT) y TABs (sWAT)

Las correlaciones positivas se indican en rojo, mientras que las correlaciones negativas se muestran en azul. La intensidad del color refleja la fuerza de la correlación. Las correlaciones que no son estadísticamente significativas están marcadas con una "X".

3 Objetivo 3: Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar

3.1 Resultados descriptivos

De los 68 pacientes reclutados (36 NW y 32 OW/OB) se procesaron el 100% de las muestras. Los resultados descriptivos se detallan en la tabla 17. Todos los parámetros antropométricos fueron más elevados en el grupo OW/OB, excepto el ICC y la prevalencia de ICC de riesgo, y cumplieron con criterios de obesidad. De las variables analíticas en el grupo OW/OB, destacaron el descenso de HDL-c y SHBG y el aumento de TSH, insulina y HOMA-IR, aunque sólo los valores de TSH y HOMA-IR fueron patológicos.

3.2 Calidad de los ensayos de extensión por proximidad

El 100% de las muestras y de los ensayos pasaron el control de calidad. El CV intraensayo medio de la placa 1 fue del 6% (referencia < 15%). Trece ensayos presentaron un CV < 5%, 16 un CV < 10% y 1 CV > al 15%. El 87% de las proteínas (26/30) se detectaron dentro de los límites de cuantificación en más del 50% de las muestras. El 97% de las proteínas (29/30) se detectaron por encima del límite de detección en más del 75% de las muestras. El CV intraensayo medio de la placa 2 fue del 3%. Veintiocho ensayos presentaron un CV < 5% y 2 CV < 10%. El 87% de las proteínas (26/30) se detectaron dentro de los límites de cuantificación en más del 50% de las muestras. El 97% de las proteínas (29/30) se detectaron por encima del límite de detección en más del 75% de las muestras. Los valores de los controles, los parámetros de detección de cada proteína y de los controles de calidad se detallan en la tabla 18.

Tabla 17. Tabla comparativa de las variables antropométricas y analíticas entre los grupos NW y OW/OB

Cada variable se expresa como muestra (n), media y desviación estándar (ds). Dif OB-NW: diferencia promedio entre los grupos OW/OB y NW. Las celdas en verde indican un aumento en el grupo OW/OB y las celdas en rojo una disminución. Las variables más alteradas se destacan en negrita.

	NW= 36			OW/OB = 32			OB-NW
	N	media	ds	N	media	ds	Diff OB-NW
Edad (años)	36	10,59	4,21	32	11,82	3,90	
Masculino	36	0,58	0,50	32	0,47	0,51	
Peso (kg)	36	38,98	17,65	32	77,39	33,29	38,42
Talla (m)	36	1,43	0,26	32	1,53	0,24	0,10
Cintura (cm)	36	65,43	11,18	30	91,45	20,21	26,02
Percentil cintura	36	43,28	27,95	30	93,27	10,01	49,99
Cadera (cm)	36	74,53	14,22	26	102,35	24,94	27,82
IMC (kg/m2)	36	17,97	2,07	32	30,93	7,91	12,96
DS IMC	36	-0,11	0,52	32	5,65	2,92	5,76
IMT (kg/m3)	36	12,81	1,49	32	20,19	3,64	7,38
DS IMT	36	-0,09	0,66	32	5,26	2,72	5,35
ICC	36	0,89	0,07	26	0,88	0,06	-0,003
ICC riesgo	36	0,39	0,49	26	0,38	0,50	-0,010
ICT	36	0,46	0,05	30	0,60	0,07	0,14
Porcentaje adiposidad	36	23,09	5,16	30	37,30	7,34	14,21
Percentil adiposidad	30	68,53	27,08	28	94,82	8,97	26,29
Glucosa (mg/dL)	35	93,34	11,26	31	92,84	12,27	-0,500
Hb Glicada (mmol/mol)	33	34,33	3,18	31	34,71	5,11	0,38
Proteína (g/L)	35	68,48	6,46	31	70,89	5,51	2,41
Urea (mg/dL)	35	26,00	6,85	31	26,23	5,12	0,23
Creatinina (mg/dL)	35	0,51	0,18	31	0,57	0,17	0,07
AST (U/L)	32	26,03	6,06	29	25,14	6,85	-0,89
ALT (U/L)	35	14,57	5,61	31	24,00	11,66	9,43
Colesterol total (mg/dL)	35	148,31	27,73	31	146,19	25,93	-2,12
HDL (mg/dL)	35	67,41	94,49	31	45,41	8,71	**-22,00**
LDL (mg/dL)	35	81,00	22,26	31	81,03	17,68	**0,03**
TG (mg/dL)	35	76,86	41,22	31	98,81	48,71	21,95
TSH (µUI/mL)	35	2,01	0,79	31	50,64	188,14	**48,62**
Tiroxina (ng/dL)	35	1,10	0,14	31	1,04	0,14	-0,06
Insulina (mUI/L)	34	4,44	3,12	31	30,40	76,61	**25,96**
HOMA-IR	35	1,03	0,80	31	8,04	23,76	**7,01**
SHBG (nmol/L)	25	97,95	122,60	25	34,60	32,17	**-63,34**

Tabla 18. Valores de los controles, de los parámetros de detección y controles de calidad de los ensayos (A y B) de extensión por proximidad. LOD (*Limit Of Detection*); LLOQ (*Lower Limit Of Quantification);* ULOQ (*Upper Limit Of Quantification)*. Los datos por debajo de LLOQ aparecen en rosa. Los datos por debajo del ajuste de la curva aparecen como NaN (*Not a Number*) en rosa.

Ensayo placa A	CCL2	IFNG	GCG	OLR1	TNF	IL6	LAMP3	AGRP	HSD11B1	IL4
Control Negativo 1	NaN	NaN	NaN	0,04	NaN	0,01	NaN	NaN	NaN	NaN
Control Negativo 2	NaN	NaN	NaN	0,03	NaN	0,01	NaN	NaN	72,21	0,00
Calibrador 1	197,47	0,79	308,51	49,86	106,58	3,55	1101,96	47,50	44253,20	2,80
Calibrador 2	222,17	0,90	327,30	53,90	110,66	3,62	1072,07	50,54	44617,86	2,91
Calibrador 3	237,39	0,98	401,00	60,78	121,77	3,98	1142,91	50,96	47376,38	3,11
Control muestra 1	197,09	0,82	314,56	35,16	121,33	2,52	701,04	55,92	48526,31	2,78
Control muestra 2	220,04	0,87	364,33	38,86	119,34	2,60	767,25	61,38	50077,49	2,98
Control muestra 3	218,49	0,93	368,38	39,63	127,17	2,69	793,45	66,92	51381,58	3,09
Control calidad	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
LOD Placa	0,00	0,00	NaN	0,09	NaN	0,02	0,45	0,03	211,97	0,01
LLOQ	0,14	0,03	10,49	0,78	4,79	0,05	26,21	0,57	4096,00	0,05
ULOQ	3223,52	1699,41	6400,00	1186,47	2922,21	1305,47	16000,00	2188,44	400000,00	1193,61
Pérdida datos	0%	0%	44%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	63%
	GHRL	PYY	FGF21	FST	TGFB1	IL15	IL10	GIP	VEGFA	IKBKG
Control Negativo 1	NaN	NaN	0,03	0,12	NaN	NaN	0,12	NaN	NaN	NaN
Control Negativo 2	NaN	1,90	NaN	0,23	NaN	NaN	0,33	NaN	NaN	NaN
Calibrador 1	1210,46	185,77	94,54	1117,02	488,22	7,64	4,05	2001,74	223,81	194,43
Calibrador 2	1259,55	201,43	99,21	1222,62	490,14	8,06	4,26	1899,77	237,43	206,77
Calibrador 3	1359,02	211,39	99,28	1241,27	519,38	8,39	4,27	1923,02	236,79	214,44
Control muestra 1	1206,39	169,15	109,57	789,33	529,43	7,24	3,56	892,43	208,94	146,26
Control muestra 2	2030,99	188,48	121,22	854,76	594,31	8,59	3,45	936,75	235,93	153,91
Control muestra 3	2081,04	193,26	124,19	894,19	600,12	7,83	3,42	937,72	237,09	161,84
Control calidad	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
LOD Placa	0,09	4,99	0,11	0,38	NaN	NaN	0,56	NaN	NaN	NaN
LLOQ	5,06	26,21	1,68	1,68	32,87	0,23	0,36	41,94	0,32	26,21
ULOQ	7718,62	6400,00	6400,00	6400,00	20064,30	13757,41	8697,78	10240,00	3051,57	16000,00
Pérdida datos	0%	14%	0%	0%	0%	0%	0%	93%	0%	37%
	CD36	OSM	GDF2	FGF23	IL1B	CSF1	PER3	FGF2	TLR1	IL18
Control Negativo 1	0,50	NaN	NaN	NaN	0,01	NaN	0,06	NaN	NaN	NaN
Control Negativo 2	1,49	NaN	NaN	NaN	0,01	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
Calibrador 1	868,90	1,13	160,63	29,96	3,10	126,56	809,13	111,23	61,98	315,18
Calibrador 2	924,68	1,29	180,50	31,75	3,31	130,34	902,03	117,07	66,84	335,56
Calibrador 3	861,94	1,35	182,15	33,70	3,64	135,38	1021,89	125,41	79,25	370,54
Control muestra 1	1055,66	1,54	107,07	34,32	3,27	124,00	966,28	112,66	89,27	306,75
Control muestra 2	1103,79	1,49	115,99	35,94	3,18	131,19	1016,62	118,29	87,62	317,86
Control muestra 3	1122,49	1,53	119,14	36,06	3,66	133,05	1017,69	124,16	86,70	307,69
Control calidad	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
LOD Placa	10,52	NaN	0,02	NaN	0,03	NaN	0,56	0,54	0,01	0,03
LLOQ	104,86	0,10	1,68	1,68	0,09	0,32	4,19	26,21	1,42	0,48
ULOQ	25600,00	999,26	6400,00	2560,00	866,33	1201,89	6400,00	16000,00	5424,41	4621,03
Pérdida datos	26%	0%	0%	5%	14%	0%	63%	88%	0%	0%

Tabla 18 (continuación). Valores de los controles, de los parámetros de detección y controles de calidad de los ensayos (A y B) de extensión por proximidad. LOD (*Limit Of Detection*); LLOQ (*Lower Limit Of Quantification);* ULOQ (*Upper Limit Of Quantification)*. Los datos por debajo de LLOQ aparecen en rosa. Los datos por debajo del ajuste de la curva aparecen como NaN (*Not a Number*) en rosa.

Ensayo placa B	CCL2	IFNG	GCG	OLR1	TNF	IL6	LAMP3	AGRP	HSD11B1	IL4
Control Negativo 1	0,07	0,00	NaN	0,19	NaN	0,02	NaN	NaN	115,92	0,00
Control Negativo 2	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	0,01	NaN	NaN	142,89	0,01
Calibrador 1	242,69	1,02	354,02	55,29	118,09	3,89	1242,03	54,03	46982,62	3,22
Calibrador 2	222,17	0,85	309,57	52,53	110,66	3,45	1099,17	50,54	44617,86	2,82
Calibrador 3	213,40	0,90	327,30	53,90	108,94	3,62	1101,96	47,62	44501,58	2,91
Control muestra 1	219,20	0,92	325,63	36,15	117,93	2,92	791,65	62,27	48725,72	2,80
Control muestra 2	219,71	0,87	345,25	35,52	119,05	2,84	758,87	65,26	49115,26	2,81
Control muestra 3	217,03	0,93	346,70	36,95	116,39	2,88	803,34	68,16	49938,17	2,90
Control calidad	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
LOD Placa	0,05	0,01	NaN	0,14	NaN	0,02	0,43	0,02	463,62	0,02
LLOQ	0,14	0,03	10,49	0,78	4,79	0,05	26,21	0,57	4096,00	0,05
ULOQ	3223,52	1699,41	6400,00	1186,47	2922,21	1305,47	16000,00	2188,44	400000,00	1193,61
Pérdida datos	0%	0%	9%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	49%
	GHRL	PYY	FGF21	FST	TGFB1	IL15	IL10	GIP	VEGFA	IKBKG
Control Negativo 1	NaN	11,86	0,05	0,48	NaN	0,02	0,15	NaN	0,10	NaN
Control Negativo 2	NaN	5,65	0,03	0,33	NaN	0,02	0,15	NaN	NaN	NaN
Calibrador 1	1301,25	225,61	110,41	1353,73	564,53	9,23	4,26	2129,34	251,71	219,75
Calibrador 2	1259,55	201,43	95,50	1222,62	490,14	8,06	3,90	1923,02	235,10	204,32
Calibrador 3	1203,94	200,42	99,21	1218,77	481,53	7,67	4,63	1865,02	236,79	206,77
Control muestra 1	2199,97	184,64	127,32	874,71	547,48	8,20	3,24	1001,87	230,77	151,25
Control muestra 2	2042,99	185,74	118,15	837,65	576,08	8,31	3,43	1003,68	233,86	152,66
Control muestra 3	2061,63	197,99	125,50	868,44	572,63	7,67	3,56	1005,59	234,74	153,41
Control calidad	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
LOD Placa	0,30	19,26	0,18	0,72	NaN	0,10	0,44	NaN	0,10	NaN
LLOQ	5,06	26,21	1,68	1,68	32,87	0,23	0,36	41,94	0,32	26,21
ULOQ	7718,62	6400,00	6400,00	6400,00	20064,30	13757,41	8697,78	10240,00	3051,57	16000,00
Pérdida datos	0%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	91%	0%	30%
	CD36	OSM	GDF2	FGF23	IL1B	CSF1	PER3	FGF2	TLR1	IL18
Control Negativo 1	1,67	0,00	0,01	0,00	NaN	NaN	0,02	NaN	NaN	NaN
Control Negativo 2	2,90	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	0,07	NaN	NaN	NaN
Calibrador 1	951,76	1,29	180,50	33,39	3,34	131,12	928,01	118,31	66,84	366,43
Calibrador 2	868,90	1,35	184,35	31,75	2,89	128,15	856,34	112,59	61,23	315,56
Calibrador 3	838,90	1,25	175,77	30,91	3,31	130,34	902,03	117,07	75,93	335,56
Control muestra 1	1075,64	1,68	125,20	37,15	3,20	127,76	1066,08	117,17	84,47	302,98
Control muestra 2	1073,01	1,66	139,03	36,21	3,14	121,86	1004,67	117,37	80,72	300,63
Control muestra 3	1085,02	1,65	120,63	37,42	3,16	121,97	1001,30	114,82	75,67	286,36
Control calidad	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
LOD Placa	12,78	0,00	0,04	0,04	0,02	0,01	0,96	NaN	0,02	NaN
LLOQ	104,86	0,10	1,68	1,68	0,09	0,32	4,19	26,21	1,42	0,48
ULOQ	25600,00	999,26	6400,00	2560,00	866,33	1201,89	6400,00	16000,00	5424,41	4621,03
Pérdida datos	9%	0%	0%	0%	9%	0%	67%	91%	0%	0%

3.3 Resultados de la proteómica dirigida

De los 68 pacientes reclutados (36 NW y 32 OW/OB) se procesaron el 100% de las muestras. Los resultados se detallan en la tabla 19. Las proteínas que aparecieron más aumentadas en el grupo OW/OB fueron FGF21, VEGFA, IL18, TGF-β1 y OLR1 y las que más disminuyeron fueron HSD11B1, GHRL, FST, LAMP3 y GDF2.

Tabla 19. Tabla comparativa de la variables proteómicas entre los grupos NW y OW/OB

Cada variable se expresa como muestra (n), media y desviación estándar (ds). Dif OB-NW: diferencia promedio entre los grupos OW/OB y NW. Las celdas en verde indican un aumento en el grupo OW/OB y las celdas en rojo una disminución. Las variables más alteradas se destacan en negrita.

	NW= 36			OW/OB = 32			OB-NW
	N	media	ds	N	media	ds	Dif OB-NW
CCL2 (pg/mL)	36	493,34	258,79	32	483,09	188,94	-10,25
TNF (pg/mL)	36	27,94	12,55	32	25,82	7,38	-2,13
IFNG (pg/mL)	36	0,84	2,02	32	0,27	0,23	-0,57
IL6 (pg/mL)	36	2,79	3,90	32	4,72	6,97	1,93
OSM (pg/mL)	36	6,48	4,95	32	11,07	6,99	4,59
IL1B (pg/mL)	36	0,27	0,37	32	0,57	1,65	0,29
TLR1 (pg/mL)	36	14,73	5,45	32	18,15	5,56	3,42
OLR1 (pg/mL)	36	246,88	120,18	32	485,59	251,53	**238,71**
IL18 (pg/mL)	36	272,39	91,50	32	344,02	101,87	**71,64**
CSF1 (pg/mL)	36	119,92	20,95	32	126,72	17,97	6,80
IL15 (pg/mL)	36	9,22	2,30	32	9,42	1,60	0,19
IL10 (pg/mL)	36	17,54	39,13	32	6,28	5,04	-11,25
IL4 (pg/mL)	36	0,06	0,06	32	0,04	0,03	-0,02
TGFB1 (pg/mL)	36	1277,32	327,79	32	1469,53	461,57	**192,21**
IKBKG (pg/mL)	36	46,77	42,97	32	48,26	43,56	1,50
CD36 (pg/mL)	36	198,13	116,89	32	165,72	84,85	-32,41
GCG (pg/mL)	36	13,43	7,72	32	25,88	16,40	12,45
AGRP (pg/mL)	36	45,47	21,92	32	47,37	19,82	1,90
GHRL (pg/mL)	36	1125,15	578,40	32	646,59	345,57	**-478,57**
GIP (pg/mL)	33	8,78	6,69	31	11,06	17,86	2,27
PYY (pg/mL)	36	59,20	34,37	32	85,58	49,63	26,38
FST (pg/mL)	36	1477,09	785,00	32	1382,00	526,98	**-95,09**
VEGFA (pg/mL)	36	498,33	249,70	32	569,45	266,04	**71,13**
GDF2 (pg/mL)	36	192,58	93,28	32	134,70	95,09	**-57,88**
FGF2 (pg/mL)	12	9,39	12,00	4	18,29	18,92	8,90
FGF21 (pg/mL)	36	56,98	64,52	32	109,39	104,67	**52,40**
FGF23 (pg/mL)	36	10,74	9,48	32	10,92	5,83	0,18
HSD11B1 (pg/mL)	36	54982,94	12957,68	32	46970,11	11152,35	**-8012,84**
LAMP3 (pg/mL)	36	954,23	355,54	32	881,92	265,57	**-72,30**
PER3 (pg/mL)	36	4,92	6,55	32	3,60	4,06	-1,32

3.4 Análisis estadísticos

La tabla 20 muestra los resultados del análisis de ANCOVA para las múltiples variables evaluadas entre los grupos NW y OW/OB controlando por las covariables edad y sexo. De las 60 variables estudiadas, 26 mostraron diferencias significativas entre los grupos OW/OB y NW, después de ajustar por edad y sexo, y se consideraron de interés (11 antropométricas, 4 analíticas y 11 proteínas). La mayoría de las 26 variables de interés se regularon al alza excepto, HSD11B1, GHRL, SHBG y GDF2 cuyos valores fueron más bajos en el grupo OW/OB. De las 30 proteínas analizadas HSD11B1, GHRL, GDF2, TLR1, OSM, GCG, PYY, FGF21, IL18, TGF-β1 y OLR1 mostraron diferencias significativas en el grupo OW/OB después de corregir por las covariables. Dieciséis variables tuvieron modelos significativos pero no diferencias significativas entre grupos, lo que indica que la edad y el sexo influyeron en la variable dependiente. Dieciocho variables no presentaron diferencias significativas ni en el modelo ni en el grupo.

Tabla 20. Resultados del análisis de ANCOVA para las diferencias entre OW/OB y NW

Dif OB-NW: diferencia promedio ajustada entre los grupos OW/OB y NW. Las celdas en verde indican un aumento en el grupo OW/OB y las celdas en rojo una disminución. Las variables se presentan por grupos de significancia.

Grupo p-valor: indica si la diferencia entre los grupos es estadísticamente significativa después de ajustar por las covariables edad y sexo. Valores menores a 0,05 indican diferencias significativas entre OW/OB y NW (celdas azules).

Modelo p-valor: evalúa la significancia global del modelo para cada variable, considerando tanto los efectos del grupo como las covariables. Valores <0,05 indican que el modelo explica una proporción significativa de la variabilidad en la variable dependiente (celdas marrones).

	OB-NW		
	Dif OB-NW	Grupo (p-valor)	Modelo (p-valor)
Peso (kg)	38,42	0,000	0,000
Cintura (cm)	26,02	0,000	0,000
Percentil cintura	49,99	0,000	0,000
Cadera (cm)	27,82	0,000	0,000
IMC (kg/m2)	12,96	0,000	0,000
DS IMC	5,76	0,000	0,000
IMT (kg/m3)	7,38	0,000	0,000
DS IMT	5,35	0,000	0,000
ICT	0,14	0,000	0,000
Porcentaje adiposidad	14,21	0,000	0,000
Percentil adiposidad	26,29	0,000	0,000
ALT (U/L)	9,43	0,000	0,000
Insulina (mUI/L)	25,96	0,000	0,000
HOMA-IR	7,01	0,000	0,000
SHBG (nmol/L)	-63,34	0,029	0,096
OLR1 (pg/mL)	238,71	0,000	0,000
GCG (pg/mL)	12,45	0,000	0,000
GHRL (pg/mL)	-478,57	0,000	0,000
IL18 (pg/mL)	71,64	0,001	0,002
OSM (pg/mL)	4,59	0,002	0,024
TLR1 (pg/mL)	3,42	0,004	0,009
PYY (pg/mL)	26,38	0,005	0,026
HSD11B1 (pg/mL)	-8012,84	0,015	0,047
TGFB1 (pg/mL)	192,21	0,022	0,042
GDF2 (pg/mL)	-57,88	0,022	0,000
FGF21 (pg/mL)	52,40	0,042	0,011

Tabla 20 (continuación). Resultados del análisis de ANCOVA para las diferencias entre OW/OB y NW

Dif OB-NW: diferencia promedio ajustada entre los grupos OW/OB y NW. Las celdas en verde indican un aumento en el grupo OW/OB y las celdas en rojo una disminución. Las variables se presentan por grupos de significancia.

Grupo p-valor: indica si la diferencia entre los grupos es estadísticamente significativa después de ajustar por las covariables edad y sexo. Valores menores a 0,05 indican diferencias significativas entre OW/OB y NW (celdas azules).

Modelo p-valor: evalúa la significancia global del modelo para cada variable, considerando tanto los efectos del grupo como las covariables. Valores <0,05 indican que el modelo explica una proporción significativa de la variabilidad en la variable dependiente (celdas marrones).

	OB-NW		
	Dif OB-NW	Grupo (p-valor)	Modelo (p-valor)
Talla (m)	0,10	0,135	0,000
ICC	-0,003	0,732	0,001
ICC riesgo	-0,010	0,913	0,008
AST (U/L)	-0,89	0,644	0,000
Proteína (g/L)	2,41	0,246	0,022
Creatinina (mg/dL)	0,07	0,276	0,000
Colesterol total (mg/dL)	-2,12	0,595	0,034
LDL (mg/dL)	0,03	0,975	0,029
TG (mg/dL)	21,95	0,121	0,001
AGRP (pg/mL)	1,90	0,947	0,020
IKBKG (pg/mL)	1,50	0,516	0,007
IL4 (pg/mL)	-0,02	0,179	0,016
PER3 (pg/mL)	-1,32	0,660	0,011
FST (pg/mL)	-95,09	0,770	0,000
LAMP3 (pg/mL)	-72,30	0,853	0,000
TNF (pg/mL)	-2,13	0,884	0,000
Glucosa (mg/dL)	-0,500	0,857	0,998
Hb Glicada (mmol/mol)	0,38	0,900	0,754
Urea (mg/dL)	0,23	0,800	0,741
HDL (mg/dL)	-22,00	0,249	0,592
TSH (µUI/L)	48,62	0,156	0,484
Tiroxina (ng/dL)	-0,06	0,107	0,281
CSF1 (pg/mL)	6,80	0,084	0,129
IL6 (pg/mL)	1,93	0,096	0,135
IL10 (pg/mL)	-11,25	0,126	0,300
VEGFA (pg/mL)	71,13	0,139	0,190
IFNG (pg/mL)	-0,57	0,217	0,103
FGF2 (pg/mL)	8,90	0,246	0,396
IL1B (pg/mL)	0,29	0,309	0,741
CD36 (pg/mL)	-32,41	0,351	0,159
GIP (pg/mL)	2,27	0,492	0,770
IL15 (pg/mL)	0,19	0,721	0,814
CCL2 (pg/mL)	-10,25	0,806	0,191
FGF23 (pg/mL)	0,18	0,811	0,690

3.5 Análisis de correlaciones

Se evaluaron las correlaciones entre las 11 proteínas moduladas significativamente en la obesidad y el resto de las variables tanto en el grupo OW/OB como en el grupo NW, por separado. En las tablas 21 y 22, se resumen las correlaciones significativas y su coeficiente.

3.5.1 Grupo OW/OB

Todas las proteínas excepto TLR1 y TGF-β1 tuvieron correlaciones significativas con índices antropométricos (Tabla 21A). La mayoría de ellas eran positivas excepto GHRL, GDF2 y HSD11B1 que presentaron asociaciones negativas. Todas las proteínas excepto PYY tuvieron correlaciones significativas con parámetros analíticos. Las asociaciones fueron principalmente positivas excepto GHRL, GDF2 y FGF21 que mostraron asociaciones indirectas. Por otra parte, las asociaciones con HDL-c y SHBG fueron también principalmente negativas (Tabla 21A). Las 11 proteínas seleccionadas presentaron asociaciones significativas con las 30 proteínas analizadas en la proteómica dirigida, la mayoría condensadas en el bloque que incluye OSM-GCG (eje horizontal) y CCL2-IL15 (eje vertical) (Tabla 21B). Entre ellas, destacó la correlación positiva entre OLR1 y OSM por su elevado coeficiente. La única correlación negativa se identificó entre GHRL e IL6.

3.5.2 Grupo NW

Las 11 proteínas seleccionadas invirtieron el patrón de correlación con los índices antropométricos, predominando las asociaciones negativas (Tabla 22A). El número de proteínas implicadas en las correlaciones con variables antropométricas fue menor en el grupo NW comparado con OW/OB. Desaparecieron las correlaciones entre OSM, OLR1, GCG, y GHRL con las variables antropométricas a favor de nuevas asociaciones con TGF-β1, PYY y IL18. Los índices de correlación de GDF2 se mantuvieron similares. HSD11B1 pasó de una correlación negativa con ds IMC y ds IMT en el grupo OW/OB a una correlación positiva con IMT y ds IMT en el grupo NW. El número de proteínas implicadas y de correlaciones significativas con las variables analíticas también disminuyó en el grupo NW (Tabla 22A). Destacaron las asociaciones negativas

con la tiroxina. Las correlaciones con HDL-c y SHBG cambiaron de dirección y pasaron a ser positivas. Las 11 proteínas seleccionadas presentaron asociaciones significativas con las 30 proteínas analizadas en la proteómica dirigida (Tabla 22B). Las correlaciones fueron más numerosas en el grupo NW aunque de menor magnitud y más distribuidas en el panel. Se identificaron nuevas correlaciones negativas entre GDF2 o FGF21 y el resto de las proteínas.

Tabla 21A. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las variables antropométricas y clínicas en el grupo OW/OB

Las celdas verdes indican correlaciones positivas y las rojas correlaciones negativas. La intensidad del color refleja la fuerza de la correlación. Las celdas en blanco indican correlaciones no significativas. Los índices de correlación Rho de Spearman se encuentran en su casilla correspondiente. Índice 0 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena. *Perc: percentil; %: porcentaje*

OW/OB	OSM	TLR1	OLR1	IL18	TGFB1	GCG	GHRL	PYY	GDF2	FGF21	HSD11B1
Peso						0,665	-0,443		-0,471		
Talla						0,577					
Cintura			0,378			0,610	-0,435		-0,424	0,435	-0,361
Perc. cintura				0,505			-0,550			0,425	
Cadera						0,630	-0,430		-0,471	0,443	
IMC						0,586	-0,508		-0,435	0,445	
ds IMC	0,385					0,555	-0,472	0,362	-0,394	0,455	-0,359
IMT	0,458		0,433			0,434	-0,526				
ds IMT	0,389					0,519	-0,480	0,356	-0,425	0,429	-0,375
ICC									0,523		0,456
ICC riesgo									0,464		
ICT	0,439		0,499				-0,517			0,479	
% adiposidad	0,369		0,411				-0,507			0,498	
Perc. adiposidad											
Glucosa											0,451
Hb Glicada										0,366	
Proteína											
Urea										-0,376	
Creatinina						0,507	-0,363		-0,402		
AST		0,452	0,446						0,551		0,392
ALT			0,392	0,582	0,628		-0,388				
Colesterol total											
HDL	-0,368			-0,415		-0,418	0,380			-0,467	
LDL											
TG							-0,386			0,386	
TSH											
Tiroxina										-0,403	
Insulina			0,372	0,400		0,660	-0,564			0,554	
HOMAIR			0,406	0,495		0,717	-0,504		-0,392	0,460	
SHBG	-0,425		-0,416	-0,454			0,563				0,460

Tabla 21B. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las 30 proteínas estudiadas en el grupo OW/OB

Las celdas verdes indican correlaciones positivas y las rojas correlaciones negativas. La intensidad del color refleja la fuerza de la correlación. Las celdas en blanco indican correlaciones no significativas. Los índices de correlación Rho de Spearman se encuentran en su casilla correspondiente. Índice 0 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena.

OW/OB	OSM	TLR1	OLR1	IL18	TGFB1	GCG	GHRL	PYY	GDF2	FGF21	HSD11B1
CCL2		0,441	0,419	0,520	0,466	0,382					
TNF					0,390						
IFNG				0,421							
IL6	0,651	0,571	0,508	0,536			-0,465				
OSM		0,689	0,812	0,439							
IL1B	0,760	0,679	0,728								
TLR1	0,689		0,580	0,461	0,442						
OLR1	0,812	0,580		0,399	0,367						
IL18	0,439	0,461	0,399		0,657	0,367					
CSF1	0,402	0,556	0,387	0,623	0,411	0,408					
IL15				0,581	0,444	0,482				0,419	
IL10				0,376							
IL4											
TGFB1		0,442	0,367	0,657					0,509		0,445
IKBKG	0,722	0,635	0,747								
CD36		0,469		0,369	0,542				0,444		0,412
GCG				0,367				0,610			
AGRP						0,605					
GHRL											
GIP								0,401			
PYY						0,610					
FST									0,425		
VEGFA			0,379	0,381	0,434						0,431
GDF2					0,509						
FGF2											
FGF21											
FGF23					0,438	0,484					
HSD11B1					0,445						
LAMP3		0,386		0,471	0,596						0,394
PER3		0,432							0,380		

Tabla 22A. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las variables antropométricas y analíticas en el grupo NW

Las celdas verdes indican correlaciones positivas y las rojas correlaciones negativas. La intensidad del color refleja la fuerza de la correlación. Las celdas en blanco indican correlaciones no significativas. Los índices de correlación Rho de Spearman se encuentran en su casilla correspondiente. Índice 0 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena. *Perc. : percentil; %: porcentaje*

NW	OSM	TLR1	OLR1	IL18	TGFB1	GCG	GHRL	PYY	GDF2	FGF21	HSD11B1
Peso				-,343*	-,533**			-,467**	-,547**		
Talla				-,332*	-,523**			-,433**	-,536**		-,336*
Cintura					-,520**			-,433**	-,531**		
Perc. cintura											
Cadera				-,334*	-,548**			-,466**	-,554**		
IMC				-,342*	-,468**			-,460**	-,483**		
ds IMC		,453**									
IMT					,341*				,347*		,484**
ds IMT										,337*	,455**
ICC		,345*									
ICC riesgo											
ICT											
% adiposidad											
Perc. adiposidad											
Glucosa			,461**				-,378*			,388*	
Hb Glicada											
Proteína											
Urea											
Creatinina									-,472**		
AST					,451**			,405*			
ALT											
Colesterol total									,605**		,487**
HDL					,452**				,514**		,363*
LDL									,546**		,397*
TG											
TSH											
Tiroxina					-,393*			-,479**	-,339*		
Insulina											
HOMAIR											
SHBG					,492*				,546**		,447*

Tabla 22B. Índices de correlación Rho de Spearman entre las 11 proteínas significativamente moduladas en la obesidad y las 30 proteínas estudiadas en el grupo NW

Las celdas verdes indican correlaciones positivas y las rojas correlaciones negativas. La intensidad del color refleja la fuerza de la correlación. Las celdas en blanco indican correlaciones no significativas. Los índices de correlación Rho de Spearman se encuentran en su casilla correspondiente. Índice 0 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena.

NW	OSM	TLR1	OLR1	IL18	TGFB1	GCG	GHRL	PYY	GDF2	FGF21	HSD11B1
CCL2				,339*	,503**	,397*	,447**	,429**			
TNF		,447**		,695**	,518**		,437**	,567**		-,405*	
IFNG	,439**	,556**	,358*					,334*			
IL6	,632**	,459**	,516**								
OSM		,568**	,663**	,388*	,329*						
IL1B	,432**	,511**		,524**	,510**		,360*	,513**			
TLR1	,568**		,626**	,429**							
OLR1	,663**	,626**		,372*							
IL18	,388*	,429**	,372*		,593**		,490**	,520**			
CSF1	,709**	,580**	,459**	,530**	,597**			,366*			
IL15	,359*						,501**				,400*
IL10	,472**	,550**		,481**							
IL4		,400*		,562**	,448**		,369*	,355*			
TGFB1	,329*			,593**		,426**	,512**	,617**	,449**		
IKBKG				,486**				,429**	-,330*		
CD36				,423*	,502**		,501**	,525**			
GCG					,426**		,534**	,528**			
AGRP						,634**			-,469**		
GHRL				,490**	,512**	,534**		,467**			
GIP							,540**				
PYY				,520**	,617**	,528**	,467**				
FST	,352*			,436**	,381*			,436**			
VEGFA	,410*			,492**	,479**			,359*			
GDF2					,449**						,338*
FGF2										-,615*	
FGF21											
FGF23				,363*	,444**	,622**		,356*			
HSD11B1									,338*		
LAMP3		,370*		,549**	,342*			,329*			
PER3		,363*							-,454**		

4 Objetivo 4: Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso

4.1 Evolución de las variables antes y después de la intervención conductual

De los 19 pacientes reclutados para intervención conductual, 12 completaron los 6 meses de seguimiento clínico y analítico (8 chicas, 4 chicos). La evolución de las variables antes y después del cambio en el estilo de vida se detalla en la tabla 23 (A y B).

En la cohorte completa, los índices antropométricos tendieron a corregirse. La disminución de ds IMT, ICT y porcentaje de adiposidad fue significativa. La disminución de IMC y ds IMC no alcanzó significancia estadística. El ICC y los percentiles se mantuvieron sin cambios (Tabla 23A). La insulina, HOMA-IR y TSH tendieron a normalizarse, aunque no fue significativo. La ALT y la SHBG no cambiaron su tendencia. Los niveles de LDL-c se mantuvieron elevados, con un ascenso de 7,5 puntos (p= 0,045). Los niveles de CCL2, TNF-α, GDF2, HSD11B1, GHRL y LAMP3 se corrigieron de manera significativa excepto la GHRL que no alcanzó el umbral de significancia. Los niveles de IL15, TGF-β1, VEGFA y CSF1 permanecieron significativamente elevados, con la excepción de CSF1, que no alcanzó un nivel estadísticamente significativo (Tabla 23B).

La estratificación por sexos demostró diferencias entre las dos cohortes. Los resultados de la cohorte femenina fueron consistentes con la mayoría de los cambios significativos observados en la cohorte completa. Además, los niveles de IL10 y PER3 en la cohorte femenina mejoraron significativamente y los de AGRP siguieron elevados (p= 0,042). La cohorte masculina sólo presentó cambios significativos en los niveles de HSD11B1, TGF-β1 e IL6 (Tabla 23B).

Tabla 23A. Evolución de las variables antropométricas y analíticas después de 6 meses de intervención conductual en 12 pacientes con obesidad

Se presentan los datos de la cohorte completa y dividida por sexos. OB: estado basal de cada variable previo a la intervención. En verde se resaltan las variables elevadas en el grupo OW/OB con respecto a NW. En rojo se resaltan las variables disminuidas en el grupo OW/OB con respecto a NW. Las variables con un asterisco son aquellas significativamente alteradas después de ajustar por edad y sexo. DPost-Pre: diferencia entre final e inicio de la intervención conductual. Las celdas en rojo indican una disminución y en verde un aumento. Las celdas en azul indican cambios significativos. Las celdas en marrón indican una tendencia a la significación estadística.

		Cohorte completa		Chicas		Chicos	
		N= 12 11,8 (7-16) años		N= 8 12,6 (7-16) años		N= 4 10,3 (7-14) años	
	OB	DPost-Pre	p-valor	DPost-Pre	p-valor	DPost-Pre	p-valor
Peso (kg)	*	-0,07	0,946	-1,63	0,196	2,28	0,151
Talla (m)		0,02	0,003	0,01	0,066	0,02	0,037
Cintura (cm)	*	-1,45	0,119	-2,00	0,045	-0,63	0,761
Percentil cintura	*	=	=	=	=	=	=
Cadera (cm)	*	0,64	0,597	1,13	0,478	=	=
IMC	*	-0,71	0,059	-1,18	0,006	=	=
ds IMC	*	-0,33	0,075	-0,52	0,006	-0,05	0,902
IMT	*	-0,50	0,096	-0,67	0,025	-0,25	0,718
ds IMT	*	-0,48	0,013	-0,62	0,002	-0,27	0,505
ICC		-0,02	0,116	-0,03	0,058	0,00	0,868
ICC riesgo		=	=	=	=	=	=
ICT	*	-0,02	0,030	-0,02	0,067	-0,01	0,342
Porcentaje adiposidad	*	-1,53	0,030	-1,55	0,038	-1,50	0,355
Percentil adiposidad	*	=	=	=	=	=	=
Glucosa (mg/dL)		-3,33	0,274	-5,38	0,080	0,75	0,923
Hb Glicada (mmol/mol)		0,75	0,121	0,88	0,195	0,50	0,495
Proteína (g/L)		0,66	0,454	0,47	0,693	1,02	0,478
Urea (mg/dL)		1,42	0,457	-0,88	0,697	6,00	0,072
Creatinina (mg/dL)		0,04	0,142	0,04	0,253	0,03	0,312
AST (U/L)		1,00	0,284	1,38	0,239	0,25	0,895
ALT (U/L)	*	2,50	0,152	2,63	0,308	2,25	0,242
Colesterol total (mg/dL)		10,00	0,074	6,75	0,358	16,50	0,083
HDL (mg/dL)		2,08	0,281	1,43	0,600	3,40	0,222
LDL (mg/dL)		7,50	0,045	4,88	0,165	12,75	0,203
TG (mg/dL)		2,25	0,852	2,75	0,883	1,25	0,586
TSH (µUI/mL)		-80,93	0,195	-82,31	0,352	-78,16	0,392
Tiroxina (ng/dL)		-0,03	0,337	-0,04	0,301	-0,02	0,790
Insulina (mUI/L)	*	-1,36	0,669	-1,36	0,777	-1,35	0,611
HOMA-IR	*	-0,50	0,530	-0,66	0,574	-0,18	0,834
SHBG (nmol/L)	*	-0,03	0,991	3,21	0,294	-5,70	0,197

Tabla 23B. Evolución de las variables proteómicas después de 6 meses de intervención conductual en 12 pacientes con obesidad

Se presentan los datos de la cohorte completa y dividida por sexos. OB: estado basal de cada variable previo a la intervención. En verde se resaltan las variables elevadas en el grupo OW/OB con respecto a NW. En rojo se resaltan las variables disminuidas en el grupo OW/OB con respecto a NW. Las variables con un asterisco son aquellas significativamente alteradas después de ajustar por edad y sexo. DPost-Pre: diferencia entre final e inicio de la intervención conductual. Las celdas en rojo indican una disminución y en verde un aumento. Las celdas en azul indican cambios significativos. Las celdas en marrón indican una tendencia a la significación estadística.

		Cohorte completa		Chicas		Chicos	
		N= 12 11,8 (7-16) años		N= 8 12,6 (7-16) años		N= 4 10,3 (7-14) años	
	OB	DPost-Pre	p-valor	DPost-Pre	p-valor	DPost-Pre	p-valor
CCL2 (pg/mL)		119,15	0,006	133,67	0,021	90,11	0,240
TNF (pg/mL)		5,37	0,000	4,63	0,002	6,84	0,055
IFNG (pg/mL)		0,08	0,302	0,13	0,226	-0,03	0,708
IL6 (pg/mL)		0,13	0,899	-0,38	0,810	1,16	0,029
OSM (pg/mL)	*	-0,32	0,833	-1,05	0,630	1,16	0,459
IL1B (pg/mL)		-0,75	0,367	-1,12	0,382	-0,01	0,601
TLR1 (pg/mL)	*	0,46	0,706	0,39	0,836	0,61	0,337
OLR1 (pg/mL)	*	-9,37	0,877	-21,13	0,811	14,14	0,838
IL18 (pg/mL)	*	15,03	0,323	19,77	0,120	5,55	0,901
CSF1 (pg/mL)		6,95	0,077	6,14	0,260	8,57	0,160
IL15 (pg/mL)		1,84	0,002	2,14	0,003	1,24	0,299
IL10 (pg/mL)		0,83	0,394	1,88	0,031	-1,28	0,611
IL4 (pg/mL)		0,01	0,138	0,01	0,425	0,02	0,256
TGFB1 (pg/mL)	*	398,17	0,000	426,71	0,002	341,10	0,029
IKBKG (pg/mL)		15,06	0,220	20,06	0,256	5,06	0,743
CD36 (pg/mL)		12,28	0,468	12,06	0,628	12,71	0,510
GCG (pg/mL)	*	5,80	0,238	7,21	0,312	2,99	0,625
AGRP (pg/mL)		9,83	0,153	15,40	0,042	-1,29	0,934
GHRL (pg/mL)	*	175,73	0,064	186,97	0,099	153,23	0,470
GIP (pg/mL)		-0,08	0,979	2,88	0,481	-5,26	0,216
PYY (pg/mL)	*	14,82	0,292	12,42	0,549	19,63	0,196
FST (pg/mL)		252,21	0,101	69,04	0,394	618,55	0,178
VEGFA (pg/mL)		80,05	0,002	87,20	0,008	65,74	0,178
GDF2 (pg/mL)	*	29,86	0,012	27,87	0,066	33,83	0,150
FGF2 (pg/mL)		-	-	-	-	-	-
FGF21 (pg/mL)	*	21,18	0,662	78,39	0,217	-93,24	0,152
FGF23 (pg/mL)		3,91	0,131	4,61	0,200	2,53	0,534
HSD11B1 (pg/mL)	*	8002,17	0,002	9181,30	0,019	5643,91	0,013
LAMP3 (pg/mL)		185,44	0,028	215,85	0,032	124,61	0,502
PER3 (pg/mL)		0,32	0,643	1,45	0,023	-1,94	0,183

4.2 Análisis de correlaciones

Se evaluaron las correlaciones entre los cambios en las 10 proteínas significativamente moduladas tras la intervención conductual y los cambios en el resto de las variables. En la tabla 24 (A y B), se resumen las correlaciones significativas y su coeficiente. Los cambios en los niveles de GHRL se correlacionaron negativamente con los cambios en IMT, ds IMT y creatinina (Tabla 24A). Los cambios en IL15 se asociaron negativamente con los cambios en urea y creatinina. Los cambios en TGF-β1 presentaron una relación positiva con los cambios en proteína total y negativos con los de TG. Los cambios en HSD11B1 mostraron una asociación directa con los cambios en creatinina y tiroxina. Los cambios en las proteínas analizadas presentaron numerosas asociaciones positivas buenas y muy buenas entre sí excepto HSB11B1 que no mostró correlaciones con los cambios de las otras proteínas (Tabla 24B).

Tabla 24A. Análisis de correlación Rho de Spearman para los cambios en las proteínas moduladas por la intervención conductual y las variables clínicas y antropométricas

Correlaciones entre deltas (cambios tras la intervención). dPost-Pre: refleja la dirección de cambio de la variable tras la intervención: el color verde indica que la variable aumentó a los 6 meses del cambio en el estilo de vida. Las celdas con color y número representan las asociaciones significativas: en verde son positivas, en rojo son negativas y el número representa la correlación. 0 - 0,2: correlación mínima; 0,2 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena.

	dCCL2	dTNF	dCSF1	dIL15	dTGFB1	dGHRL	dVEGFA	dGDF2	dHSD11B1	dLAMP3
dPost-Pre										
dPeso										
dTalla										
dCintura										
dCadera										
dIMC										
dds IMC										
dIMT						-0,697				
dds IMT						-0,661				
dICC										
dICT										
d% adiposidad										
dGlucosa										
dHb Glicada										
dProteína					0,627			0,592		
dUrea				-0,644						
dCreatinina				-0,645		-0,589			0,617	
dAST										
dALT										
dColesterol total										
dHDL										
dLDL										
dTG					-0,580					
dTSH									0,641	
dTiroxina										
dInsulina										
dHOMAIR										
dSHBG										

Tabla 24B. Análisis de correlación Rho de Spearman para los cambios en las proteínas moduladas por la intervención conductual y las 30 proteínas estudiadas

Correlaciones entre deltas (cambios tras la intervención). dPost-Pre: refleja la dirección de cambio de la variable tras la intervención: el color verde indica que la variable aumentó a los 6 meses del cambio en el estilo de vida. Las celdas con color y número representan las asociaciones significativas: en verde son positivas, en rojo son negativas y el número representa la correlación. 0 - 0,2: correlación mínima; 0,2 - 0,4: correlación baja; 0,4 - 0,6: correlación moderada; 0,6 - 0,8: correlación buena; 0,8 – 1: correlación muy buena.

	dCCL2	dTNF	dCSF1	dIL15	dTGFB1	dGHRL	dVEGFA	dGDF2	dHSD11B1	dLAMP3
dPost-Pre										
dCCL2			0,587	0,671						0,587
dTNF								0,608		
dIFNG	0,825			0,615						
dIL6										
dOSM										
dIL1B										
dTLR1							0,587			
dOLR1										
dIL18										
dCSF1	0,587				0,615	0,608		0,615		
dIL15	0,671									
dIL10										
dIL4								0,711		
dTGFB1			0,615							
dIKBKG							0,615			
dCD36							0,874	0,776		
dGCG					0,580					
dAGRP						0,678				
dGHRL			0,608					0,587		
dGIP										
dPYY										
dFST										
dVEGFA										
dGDF2		0,608	0,615			0,587				
dFGF21				0,685						
dFGF23										
dHSD11B1										
dLAMP3	0,587									
dPER3										

5 Objetivo 5: Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos

5.1 Diferencias en el estilo de vida entre los grupos NW y OW/OB

De los 68 pacientes reclutados, 66 completaron las encuestas (35 NW, 31 OW/OB). Los datos clínicos, analíticos y proteómicos de ambos grupos se presentan en el apartado 3.1 y en las tablas 17 y 19. Dos casos se perdieron por barrera idiomática.

5.1.1 Hábitos dietéticos

No hubo diferencias entre los grupos NW y OW/OB en términos de adherencia a la dieta mediterránea. El índice KIDMED y las proporciones de desayuno/comida/cena en familia no fueron diferentes entre grupos (Tabla 25).

5.1.2 Sedentarismo y uso de pantallas

Se encontraron diferencias significativas entre los grupos estudiados. El grupo OW/OB dedicó un promedio de 240 minutos diarios al uso de pantallas entre semana, incluyendo televisión, ordenador, videojuegos y móvil, mientras que el grupo NW registró un promedio de 150 minutos diarios (p= 0,002). El 40 % de los niños del grupo NW cumplió con la recomendación diaria de uso de pantallas entre semana, en contraste con el 16,10 % de los niños del grupo OW/OB (p= 0,033). Estas diferencias no se observaron en el tiempo de uso de pantallas durante el fin de semana (Tabla 25).

5.1.3 Duración y calidad de sueño

No se observaron diferencias entre los grupos ni en el tiempo promedio de sueño entre semana ni en los distintos ítems del cuestionario BEARS. Aunque no de forma significativa, el grupo OW/OB mostró una tendencia a registrar un tiempo promedio de sueño los fines de semana menor que el del grupo NW (Tabla 25). Para estudiar la relación entre el tiempo frente a pantallas y las horas de sueño, se calculó una correlación multivariante ajustada por edad y sexo para cada tipo de pantalla: televisión, ordenador, videojuegos y móvil (Tabla 26). El tiempo

global de uso de pantallas entre semana presentó una correlación negativa significativa con las horas de sueño (β= -0,272)). De entre todas las pantallas, el tiempo de uso del móvil presentó una correlación significativa con las horas de sueño entre semana (β= -0,523). El tiempo de uso de pantallas y las horas de sueño los fines de semana no presentaron asociaciones relevantes.

5.1.4 Actividad física

El grupo OW/OB realizó un promedio de 36 minutos al día de actividad física moderada a intensa (MVPA) frente a 51 minutos en el grupo NW aunque no fue significativo (Tabla 25).

5.1.5 Nivel socioeconómico familiar

El análisis de las variables socioeconómicas reveló diferencias significativas en varios ítems (Tabla 25). En cuanto al nivel de estudios reportado por los progenitores, casi el 60% de los padres en el grupo OW/OB respondieron sin estudios/enseñanza obligatoria frente al 30% de los padres en el grupo NW (p= 0,010). El 58% de las madres en el grupo OW/OB respondió sin estudios/enseñanza obligatoria frente al 25,70% de las madres en el grupo NW (p= 0,004). El 45,20% de las familias en el grupo OW/OB declararon rentas anuales inferiores a 15.000 euros/año frente al 20% de las familias en el grupo NW (p= 0,011).

5.2 Correlaciones entre alteraciones metabólicas y estilo de vida en la cohorte NW y OW/OB

Se realizó una correlación multivariante ajustada por edad y sexo para cada variable cuantitativa de los cuestionarios, con el fin de analizar su relación con las variables analíticas y proteómicas destacadas en el objetivo 3 (Tabla 27). El ítem “minutos de pantalla al día entre semana” presentó correlaciones significativas positivas con insulina (β= 0,375) y HOMA-IR (β= 0,322) y negativa con GHRL (β= -0,338). Igualmente, el ítem “minutos de pantalla al día los fines de semana” presentó correlaciones significativas con insulina (β= 0,277) y GHRL (β= -0,335). El ítem “horas de sueño los fines de semana” se correlacionó

significativamente con HSD11B1 (β= 0,341), LDL-c (β= 0,254) y HDL-c (β= -0,466). Los ítems ""minutos de MVPA por semana" y "minutos de MVPA" al día" presentaron correlaciones significativas negativas con TGF-β1, insulina y HOMA-IR y positiva con GHRL. El ítem "días por semana que realiza más de 60 minutos diarios de MVPA" mostró correlaciones significativas negativas con TGF-β1, insulina y HOMA-IR.

Tabla 25. Comparativa del estilo de vida entre los grupos NW y OW/OB: dieta mediterránea, uso de pantallas, calidad del sueño, actividad física, datos socioeconómicos

Las variables continuas normales se presentan como media y desviación estándar (ds), las continuas no normales como mediana y rango intercuartílico (IQR) y la cualitativas como frecuencia y porcentaje. KIDMED: adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa. *Min*: minutos, *h*: horas. Se aplicaron las pruebas *t* de Student, U de Mann Whitney y Chi cuadrado según correspondía.

		NW= 35		OW/OB=31		
		N	media (ds)	N	media (ds)	p- valor
Dieta	Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	34	6,85 (1,89)	31	6,71 (2,15)	0,776
		N	n (%)	N	n (%)	p- valor
	Desayuno en familia	35		31		0,166
	nunca		11 (31,40)		6 (19,40)	
	siempre		18 (51,40)		16 (51,60)	
	fin de semana		6 (17,10)		9 (13,60)	
	Comida en familia	35		31		0,440
	nunca		2 (5,70)		0	
	siempre		30 (85,70)		28 (90,30)	
	fin de semana		3 (8,60)		3 (9,70)	
	Cena en familia	35		31		0,674
	nunca		2 (5,70)		1 (3,20)	
	siempre		32 (91,40)		29 (93,50)	
	fin de semana		1 (2,90)		1 (3,20)	
		N	mediana (IQR)	N	mediana (IQR)	p- valor
Pantallas (televisión, ordenador, videojuegos, móvil)	Tiempo de uso al día (min)					
	lunes - viernes	35	150 (60 - 225)	31	240 (165 - 360)	**0,002**
	fin de semana		270 (180 - 390)		315 (225 - 510)	0,161
		N	n (%)	N	n (%)	p- valor
	Uso < 120 min/día					
	lunes - viernes	35	14 (40,00)	31	5 (16,10)	**0,033**
	fin de semana		4 (11,40)		3 (9,70)	0,818
		N	mediana (IQR)	N	mediana (IQR)	p- valor
Sueño	Tiempo de sueño al día (h)					
	lunes - viernes	35	9,25 (8,5 - 10,17)	31	8,75 (8 - 9,83)	0,189
	fin de semana		10,25 (9,5 - 11)		10 (9 - 10)	**0,052**
		N	n (%)	N	n (%)	p- valor
	Cumple recomendación sueño					
	lunes - viernes	35	23 (65,70)	31	22 (71,00)	0,647
	fin de semana		28 (80,00)		21 (67,70)	0,256
	Cuestionario BEARS, tiene...	35		31		
	dificultades para acostarse		13 (37,10)		10 (32,30)	0,678
	dificultades para dormir		9 (25,70)		10 (32,30)	0,558
	dificultades para despertar		10 (28,60)		9 (29,00)	0,967
	despertares nocturnos		4 (11,40)	30	7 (23,30)	0,202
	pesadillas		7 (20,00)		9 (29,00)	0,393
	descanso adecuado		24 (68,60)		22 (71,00)	0,833
	ronquidos	34	4 (11,80)		6 (19,40)	0,397

Tabla 25 (continuación). Comparativa del estilo de vida entre los grupos NW y OW/OB: dieta mediterránea, uso de pantallas, calidad del sueño, actividad física, datos socioeconómicos

Las variables continuas normales se presentan como media y desviación estándar (ds), las continuas no normales como mediana y rango intercuartílico (IQR) y la cualitativas como frecuencia y porcentaje. KIDMED: adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa. *Min*: minutos, *h*: horas. Se aplicaron las pruebas *t* de Student, U de Mann Whitney y Chi cuadrado según correspondía.

		NW= 35		OW/OB=31		
		N	mediana (IQR)	N	mediana (IQR)	p- valor
Actividad física	MVPA (min)					
	por semana	35	360 (225 - 660)	31	255 (105 - 510)	0,133
	promedio, al día		51,43 (32,14 - 94,3)		36,43 (15 - 72,3)	0,134
	Días por semana MVPA > 60 min		3 (1 - 6)		2 (0 - 5)	0,224
		N	n (%)	N	n (%)	p- valor
	Promedio MVPA/día > 60 min	35	16 (45,70)	31	12 (38,70)	0,566
	Realiza > 60 min MVPA cada día		7 (20,00)		4 (12,90)	0,440
		N	n (%)	N	n (%)	p- valor
Socio económico	Comarca					**0,004**
	Barcelonés	34	19 (55,90)	31	27 (87,10)	
	Maresme		11 (32,40)		4 (12,90)	
	Vallés oriental		2 (5,90)		0	
	Vallés occidental		1 (2,90)		0	
	Selva		1 (2,90)		0	
	Nivel estudios padre					**0,010**
	Sin estudios	33	0	29	5 (17,20)	
	Enseñanza obligatoria		10 (30,30)		12 (41,40)	
	Bachillerato		4 (12,10)		4 (13,80)	
	Formación profesional		11 (33,30)		4 (13,80)	
	Estudios universitarios		8 (24,20)		4 (13,80)	
	Nivel estudios madre					**0,004**
	Sin estudios	35	0	31	1 (3,20)	
	Enseñanza obligatoria		9 (25,70)		17 (54,80)	
	Bachillerato		4 (11,40)		4 (12,90)	
	Formación profesional		13 (37,10)		6 (19,40)	
	Estudios universitarios		9 (25,70)		3 (9,70)	
	Renta familiar anual					**0,011**
	Menos de 15.000	35	7 (20,00)	31	14 (45,20)	
	15.001-25.000		11 (31,40)		9 (29,00)	
	25.001-35.000		5 (14,30)		5 (16,10)	
	35.001-40.000		4 (11,40)		1 (3,20)	
	Más de 40.000		8 (22,90)		2 (6,50)	

Tabla 26. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables "sueño" y "uso de pantallas" en los grupos NW y OW/OB

β: coeficiente de relación, > 0 indica una correlación positiva, < 0 indica una correlación negativa. Si p< 0,05 la correlación calculada es significativa. *Min*: minutos, *h*: horas. Las casillas verdes representan asociaciones significativas, las amarillas indican tendencias hacia la significación.

	Sueño (h) **entre semana**		Sueño (h) **fin de semana**	
	β	p-valor	**β**	p-valor
Tiempo de pantallas global **entre semana**	**-0,272**	0,029		
Tiempo de televisión (min)	0,068	0,555		
Tiempo de ordenador (min)	-0,211	0,080		
Tiempo de videojuegos (min)	-0,082	0,504		
Tiempo de móvil (min)	**-0,523**	**0,000**		
Tiempo de pantallas global **fin de semana**			-0,061	0,664
Tiempo de televisión (min)			0,041	0,757
Tiempo de ordenador (min)			-0,202	0,125
Tiempo de videojuegos (min)			0,068	0,638
Tiempo de móvil (min)			-0,030	0,833

Tabla 27. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad en los grupos NW y OW/OB

β: coeficiente de relación, > 0 indica una correlación positiva, < 0 indica una correlación negativa. Si p< 0,05 la correlación calculada es significativa. Las casillas verdes representan asociaciones significativas, las amarillas señalan tendencias hacia la significación. KIDMED: adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa. *Min*: minutos, *h*: horas.

	HSD11B1		GHRL		TGFβ1		OLR1		OSM	
	β	p-valor	β	p-valor	β	p-valor	β	p-valor	β	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,153	0,237	-0,022	0,86	-0,143	0,267	-0,009	0,944	-0,017	0,895
Uso de pantallas entre semana (min)	0,053	0,704	**-0,338**	**0,012**	0,165	0,233	0,146	0,295	0,118	0,405
Uso de pantallas fin de semana (min)	0,093	0,505	**-0,335**	**0,012**	0,005	0,969	0,1	0,474	0,103	0,466
Horas de sueño entre semana (h)	0,017	0,904	0,239	0,081	0,211	0,129	-0,093	0,513	-0,07	0,625
Horas de sueño fin de semana (h)	**0,341**	**0,006**	-0,024	0,846	0,111	0,378	0,104	0,414	0,231	0,069
MVPA por semana (min)	-0,115	0,385	**0,283**	**0,026**	**-0,382**	**0,003**	-0,229	0,081	-0,157	0,239
MVPA promedio al día (min)	-0,115	0,385	**0,283**	**0,026**	**-0,382**	**0,003**	-0,229	0,081	-0,157	0,239
Días por semana MVPA > 60 min	-0,206	0,113	0,196	0,124	**-0,415**	**0,001**	-0,19	0,143	-0,09	0,497
	Insulina		HOMA-IR		Glucosa		HDL-c		LDL-c	
	β	p-valor	β	p-valor	β	p-valor	β	p-valor	β	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,014	0,913	-0,006	0,962	0,062	0,639	-0,208	0,114	0,031	0,801
Uso de pantallas entre semana (min)	**0,375**	**0,003**	**0,322**	**0,013**	-0,041	0,775	-0,186	0,192	0,104	0,435
Uso de pantallas fin de semana (min)	**0,277**	**0,033**	0,234	0,074	0,03	0,838	0,069	0,632	0,091	0,493
Horas de sueño entre semana (h)	0,013	0,923	-0,03	0,821	-0,111	0,453	0,117	0,425	0,04	0,77
Horas de sueño fin de semana (h)	-0,006	0,963	0,016	0,897	0,068	0,606	**-0,466**	**0**	**0,254**	**0,032**
MVPA por semana (min)	**-0,321**	**0,009**	**-0,341**	**0,005**	-0,056	0,685	0,219	0,105	-0,106	0,403
MVPA promedio al día (min)	**-0,321**	**0,009**	**-0,341**	**0,005**	-0,056	0,685	0,219	0,105	-0,106	0,403
Días por semana MVPA > 60 min	**-0,321**	**0,008**	**-0,347**	**0,004**	-0,062	0,648	0,213	0,112	-0,121	0,333

5.3 Cambios en el estilo de vida tras una intervención conductual en niños con obesidad

Diecinueve pacientes del grupo OW/OB empezaron la intervención conductual. Seis de ellos no completaron la segunda encuesta tras los 6 meses de seguimiento. La evolución de los parámetros clínicos, analíticos y proteómicos se resumen en el apartado 4.1 y en la tabla 23 (A y B). Los cambios en el estilo de vida tras los 6 meses de intervención conductual se resumen en la tabla 28.

5.3.1.1 Hábitos dietéticos

El índice KIDMED aumentó 0,39 puntos (p=0,391). La proporción de desayunos en familia mejoró en detrimento de las comidas y cenas en familia aunque no fue significativo.

5.3.1.2 Sedentarismo y uso de pantallas

El tiempo de uso de pantallas entre semana disminuyó 92 minutos, aunque no fue significativo. El tiempo de uso de pantallas durante el fin de semana se redujo 55 minutos aunque no alcanzó el umbral de significancia.

5.3.1.3 Duración y calidad de sueño

No se registraron cambios en el tiempo de sueño entre semana ni en los fines de semana. La proporción de cumplimiento de la duración de sueño recomendada durante los fines de semana disminuyó del 84,6% al 46,2% (p=0,063). El tiempo global de uso de pantallas entre semana no presentó asociación significativa con las horas de sueño en el análisis multivariante. Sin embargo, el tiempo de uso del móvil presentó una correlación significativa con las horas de sueño entre semana (β= -0,431). El tiempo de uso de pantallas y las horas de sueño los fines de semana no presentaron asociaciones relevantes (Tabla 29).

5.3.1.4 Actividad física

El tiempo promedio diario dedicado a la actividad física moderada a intensa (MVPA) aumentó de 46 a 59 minutos, aunque la diferencia no fue significativa.

5.4 Correlaciones entre alteraciones metabólicas y estilo de vida en la cohorte sometida a intervención conductual

En esta segunda parte de los análisis, sólo se incluyeron los 12 pacientes que completaron el seguimiento completo, analítico y cuestionarios.

5.4.1 Variables cuantitativas del estilo de vida

5.4.1.1 Análisis multivariante antes de la intervención conductual

El análisis multivariante corregido por sexo y edad demostró correlaciones significativas entre el ítem "horas de sueño los fines de semana" y HSD11B1 (β= 0,454), OLR1 (β= 0,369), OSM (β= 0,497) y LDL-c (β= 0,416). Los niveles de TGF-β1 y HOMA-IR mostraron una correlación significativa negativa con los ítems de actividad física "minutos de MVPA por semana", "minutos de MVPA" al día" y "días por semana que realiza más de 60 minutos diarios de MVPA". Este último ítem también se correlacionó significativamente con OLR1 (β= -0,359) e insulina (β= -0,371) (Tabla 30).

5.4.1.2 Análisis de regresión lineal múltiple

Se calculó un análisis de regresión lineal múltiple corregido por edad y sexo antes y después de la intervención (Tabla 31). Antes de la intervención, los niveles de TGF-β1 presentaron una correlación inversa significativa con el índice KIDMED (β= -0,784) y el ítem "días a la semana que cumple 60 minutos de MVPA al día" (β= -0,856). Por otra parte, el ítem "minutos de pantalla al día los fines de semana" presentó una asociación lineal negativa con HDL-c (β= -1,420) y positiva con insulina (β= 1,482) y HOMA-IR (β= 1,542).

Después de la intervención conductual, la única correlación que se mantuvo fue la relación lineal inversa entre HDL-c y "minutos de pantalla al día los fines de semana" (β= -1,392). Por otra parte, se identificaron nuevas asociaciones significativas: entre HDL-c y "minutos de pantalla al día entre semana" (β= -1,061), entre LDL-c, Glucosa y "días por semana que realiza más de 60 minutos diarios de MVPA" (β= -0,856 y β= 1,177, respectivamente).

5.4.2 Variables dicotómicas del estilo de vida

La relación entre las variables dicotómicas del estilo de vida y los cambios en las variables analíticas y proteómicas tras la intervención conductual se estudió mediante análisis de ANCOVA, ajustando por sexo y edad (Tabla 32). Además de las variables analíticas y proteómicas seleccionadas del objetivo 3, se incluyeron en este análisis las variables más relevantes de la comparativa OB 6 – 0 meses del objetivo 4. Los niños que no cumplieron con la recomendación de uso de pantallas entre semana presentaron incrementos más bajos de LDL-c, CCL2 y GDF2 que los niños que sí cumplieron con la recomendación (p=0,026; p=0,023; p=0,003, respectivamente). Los niños que no cumplieron con la recomendación de sueño entre semana presentaron un mayor incremento en GHRL y un mayor descenso de OSM. Por otra parte, los niños que no cumplieron con la recomendación de “realizar 60 minutos de MVPA al día” presentaron un menor incremento de LAMP3.

Tabla 28. Cambios en el estilo de vida antes y después de la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad

Las variables continuas se presentan como media y desviación estándar (ds) y las variables cualitativas como frecuencia absoluta (n) y relativa (%). KIDMED: índice de adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa; *Min*: minutos, *h*: horas. Se aplicaron las pruebas *t* de Student para muestras emparejadas, Wilcoxon para muestras dependientes y McNemar según correspondía.

			0 meses	6 meses	
		N	media (ds)	media (ds)	p- valor
Dieta	Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	13	6,15 (2,3)	6,54 (2,44)	0,391
		N	n (%)	n (%)	p- valor
	Desayuno en familia	13			0,589
	nunca		3 (23,1)	3 (23,1)	
	siempre		6 (46,2)	8 (61,5)	
	fin de semana		4 (30,8)	2 (15,4)	
	Comida en familia	13			1,000
	nunca		0	1 (7,7)	
	siempre		12 (92,3)	9 (69,2)	
	fin de semana		1 (7,7)	3 (23,1)	
	Cena en familia	13			1,000
	nunca		1 (7,7)	2 (15,4)	
	siempre		12 (92,3)	11 (84,6)	
	fin de semana		0	0	
		N	media (ds)	media (ds)	p- valor
Pantallas (televisión, ordenador, videojuegos, móvil)	Tiempo de uso al día (min)	13			
	lunes - viernes		358,85 (255,03)	266,54 (154,94)	**0,077**
	fin de semana		447,69 (225,40)	392,31 (191,69)	**0,064**
		N	n (%)	n (%)	p- valor
	Uso < 120 min/día	13			
	lunes - viernes		2 (15,4)	3 (23,1)	1,000
	fin de semana		1 (7,7)	2 (15,4)	1,000
		N	media (ds)	media (ds)	p- valor
Sueño	Tiempo de sueño al día (h)	13			
	lunes - viernes		8,62 (1,23)	8,80 (0,99)	0,593
	fin de semana		9,85 (0,77)	9,89 (1,47)	0,645
		N	n (%)	n (%)	p- valor
	Cumple recomendación sueño	13			
	lunes - viernes		9 (69,2)	9 (69,2)	1,000
	fin de semana		11 (84,6)	6 (46,2)	**0,063**
	Cuestionario BEARS, tiene…	13			
	dificultades para acostarse		6 (46,2)	4 (30,8)	0,500
	dificultades para dormir		5 (38,5)	5 (38,5)	1,000
	dificultades para despertar		2 (15,4)	6 (46,2)	0,125
	despertares nocturnos		4 (30,8)	5 (38,5)	1,000
	pesadillas		4 (30,8)	5 (38,5)	1,000
	descanso adecuado		8 (61,5)	10 (76,9)	0,625
	ronquidos		2 (15,4)	4 (30,8)	0,625
		N	media (ds)	media (ds)	p- valor
Actividad física	MVPA (min)	13			
	por semana		328,85 (313,36)	414,23 (408,02)	0,114
	promedio, al día		46,98 (44,77)	59,18 (58,29)	0,114
	Días por semana MVPA > 60 min		2,77 (2,62)	3,23 (2,49)	0,245
		N	n (%)	n (%)	p- valor
	Promedio MVPA/día > 60 min	13	6 (46,2)	4 (30,8)	0,625
	Realiza > 60 min MVPA cada día		1 (7,7)	2 (15,4)	1,000

Tabla 29. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables "sueño" y "uso de pantallas" en 12 pacientes con obesidad

β: coeficiente de relación, > 0 indica una correlación positiva, < 0 una correlación negativa. Si p-valor < 0,05 la correlación calculada es significativa. *Min*: minutos, *h*: horas. Las casillas verdes representan asociaciones significativas, las amarillas indican tendencias hacia la significación.

	Sueño (h) **entre semana**		Sueño (h) **fin de semana**	
	β	p-valor	**β**	p-valor
Tiempo de pantallas global **entre semana**	-0,048	0,817		
Tiempo de televisión (min)	0,186	0,301		
Tiempo de ordenador (min)	-0,133	0,497		
Tiempo de videojuegos (min)	0,180	0,351		
Tiempo de móvil (min)	**-0,431**	**0,047**		
Tiempo de pantallas global **fin de semana**			0,115	0,619
Tiempo de televisión (min)			-0,088	0,658
Tiempo de ordenador (min)			-0,073	0,733
Tiempo de videojuegos (min)			0,071	0,750
Tiempo de móvil (min)			0,366	0,081

Tabla 30. Resultados del análisis de correlación multivariante corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad en 12 pacientes con obesidad

β: coeficiente de relación, > 0 indica una correlación positiva, < 0 una correlación negativa. Si p- valor < 0,05 la correlación calculada es significativa. Las casillas verdes representan asociaciones significativas, las amarillas indican tendencias hacia la significación. KIDMED: adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa. *Min*: minutos, *h*: horas.

	HSD11B1		GHRL		TGFβ1		OLR1		OSM	
	β	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	0,154	0,456	0,268	0,170	-0,131	0,493	-0,242	0,190	-0,161	0,411
Uso de pantallas entre semana (min)	-0,042	0,851	**-0,337**	0,122	0,059	0,776	-0,053	0,797	-0,075	0,735
Uso de pantallas fin de semana (min)	0,057	0,803	**-0,323**	0,146	0,004	0,984	0,128	0,535	0,127	0,569
Horas de sueño entre semana (h)	0,141	0,509	0,333	0,109	0,060	0,761	-0,160	0,407	-0,209	0,317
Horas de sueño fin de semana (h)	**0,454**	**0,014**	-0,191	0,319	0,319	0,069	0,369	**0,030**	0,497	**0,005**
MVPA por semana (min)	-0,211	0,311	**0,291**	0,155	**-0,659**	**0,000**	-0,334	0,071	-0,095	0,644
MVPA promedio al día (min)	-0,211	0,311	**0,291**	0,155	**-0,659**	**0,000**	-0,334	0,071	-0,095	0,644
Días por semana MVPA > 60 min	-0,216	0,294	0,334	0,097	**-0,687**	**0,000**	-0,359	**0,048**	-0,116	0,569
	Insulina		HOMA-IR		Glucosa		HDL-c		LDL-c	
	β	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,057	0,770	-0,055	0,775	0,013	0,952	0,175	0,392	0,048	0,806
Uso de pantallas entre semana (min)	**0,281**	0,162	**0,215**	0,293	-0,166	0,471	-0,123	0,582	-0,114	0,601
Uso de pantallas fin de semana (min)	**0,226**	0,271	0,167	0,423	-0,069	0,768	-0,040	0,862	0,003	0,990
Horas de sueño entre semana (h)	0,004	0,983	-0,112	0,568	0,058	0,800	-0,288	0,181	0,280	0,186
Horas de sueño fin de semana (h)	0,118	0,505	0,145	0,415	0,340	0,080	**0,003**	0,986	**0,416**	**0,021**
MVPA por semana (min)	**-0,325**	0,084	**-0,381**	**0,039**	-0,117	0,593	0,111	0,599	-0,018	0,930
MVPA promedio al día (min)	**-0,325**	0,084	**-0,381**	**0,039**	-0,117	0,593	0,111	0,599	-0,018	0,930
Días por semana MVPA > 60 min	**-0,371**	**0,046**	**-0,437**	**0,015**	-0,209	0,333	0,171	0,414	-0,053	0,799

Tabla 31. Resultados del análisis de regresión lineal múltiple corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad antes y después de la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad

β: coeficiente de relación, > 0 indica una correlación positiva, < 0 una correlación negativa. Si p- valor < 0,05 la correlación calculada es significativa. Las casillas verdes representan asociaciones significativas, las amarillas indican tendencias hacia la significación. KIDMED: adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa. *Min*: minutos, *h*: horas.

PRE intervención	HSD11B1		GHRL		TGFβ1		OLR1		OSM	
	β	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,344	0,432	0,352	0,371	**-0,784**	**0,027**	0,280	0,528	0,281	0,502
Uso de pantallas entre semana (min)	0,565	0,356	-0,466	0,401	0,470	0,409	-0,718	0,236	-0,756	0,180
Uso de pantallas fin de semana (min)	1,085	0,119	-0,368	0,586	0,803	0,228	0,355	0,638	-0,467	0,508
Horas de sueño entre semana (h)	0,673	0,059	0,150	0,675	0,297	0,411	0,136	0,733	-0,177	0,638
Horas de sueño fin de semana (h)	0,501	0,228	0,504	0,173	0,583	0,118	0,558	0,177	0,711	0,053
MVPA por semana (min)	-0,334	0,476	-0,096	0,823	-0,627	0,125	-0,179	0,708	0,337	0,449
MVPA promedio al día (min)	-0,334	0,476	-0,096	0,823	-0,627	0,125	-0,179	0,708	0,337	0,449
Días por semana MVPA > 60 min	-0,777	0,081	-0,003	0,995	**-0,856**	**0,029**	-0,200	0,685	0,280	0,543
	Insulina		HOMA-IR		Glucosa		HDL-c		LDL-c	
	β	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,283	0,482	-0,298	0,457	-0,219	0,620	0,345	0,444	-0,179	0,652
Uso de pantallas entre semana (min)	0,819	0,125	0,796	0,136	-0,142	0,820	-0,968	0,103	-0,069	0,903
Uso de pantallas fin de semana (min)	**1,482**	**0,007**	**1,542**	**0,004**	1,141	0,096	**-1,420**	**0,035**	0,148	0,826
Horas de sueño entre semana (h)	0,439	0,205	0,484	0,156	0,485	0,197	-0,622	0,097	0,132	0,711
Horas de sueño fin de semana (h)	-0,056	0,888	0,022	0,955	0,701	0,072	-0,174	0,697	0,444	0,231
MVPA por semana (min)	-0,608	0,133	-0,620	0,124	-0,110	0,816	0,578	0,215	0,221	0,600
MVPA promedio al día (min)	-0,608	0,133	-0,620	0,124	-0,110	0,816	0,578	0,215	0,221	0,600
Días por semana MVPA > 60 min	-0,653	0,115	-0,713	0,079	-0,677	0,136	0,794	0,083	0,008	0,985

Tabla 31 (continuación). Resultados del análisis de regresión lineal múltiple corregido por sexo y edad entre las variables cuantitativas del cuestionario y las variables analíticas y proteómicas asociadas a la obesidad antes y después de la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad

β: coeficiente de relación, > 0 indica una correlación positiva, < 0 una correlación negativa. Si p- valor < 0,05 la correlación calculada es significativa. Las casillas verdes representan asociaciones significativas, las amarillas indican tendencias hacia la significación. KIDMED: adherencia a la dieta mediterránea. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa. *Min*: minutos, *h*: horas.

POST intervención	HSD11B1		GHRL		TGFβ1		OLR1		OSM	
	β	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,757	0,128	0,590	0,214	-0,933	0,065	0,384	0,496	0,417	0,454
Uso de pantallas entre semana (min)	-0,367	0,449	-0,270	0,552	0,490	0,330	0,384	0,458	0,463	0,362
Uso de pantallas fin de semana (min)	-0,589	0,353	-0,368	0,538	0,475	0,482	0,217	0,755	0,400	0,557
Horas de sueño entre semana (h)	0,324	0,408	-0,488	0,162	0,656	0,087	-0,269	0,525	-0,146	0,729
Horas de sueño fin de semana (h)	-0,177	0,625	0,067	0,843	-0,041	0,914	0,495	0,178	0,601	0,086
MVPA por semana (min)	0,408	0,415	0,100	0,833	-0,563	0,276	0,202	0,710	0,437	0,409
MVPA promedio al día (min)	0,408	0,415	0,100	0,833	-0,563	0,276	0,202	0,710	0,437	0,409
Días por semana MVPA > 60 min	-0,149	0,788	0,296	0,561	-0,694	0,210	0,436	0,453	0,700	0,208
	Insulina		HOMA-IR		Glucosa		HDL-c		LDL-c	
	β	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor	**β**	p-valor
Índice KIDMED (- 4 a 12 puntos)	-0,150	0,760	-0,067	0,891	0,788	0,109	0,251	0,637	0,280	0,528
Uso de pantallas entre semana (min)	0,531	0,217	0,536	0,212	0,111	0,821	**-1,061**	**0,007**	-0,367	0,449
Uso de pantallas fin de semana (min)	0,413	0,482	0,437	0,456	0,309	0,632	**-1,392**	**0,008**	-0,589	0,353
Horas de sueño entre semana (h)	0,274	0,446	0,240	0,507	-0,222	0,573	-0,534	0,152	0,297	0,411
Horas de sueño fin de semana (h)	0,107	0,748	0,161	0,626	0,505	0,133	-0,544	0,102	0,583	0,118
MVPA por semana (min)	-0,176	0,707	-0,125	0,789	0,506	0,304	0,558	0,253	-0,627	0,125
MVPA promedio al día (min)	-0,176	0,707	-0,125	0,789	0,506	0,304	0,558	0,253	-0,627	0,125
Días por semana MVPA > 60 min	0,273	0,588	0,377	0,450	**1,177**	**0,008**	0,500	0,351	**-0,856**	**0,029**

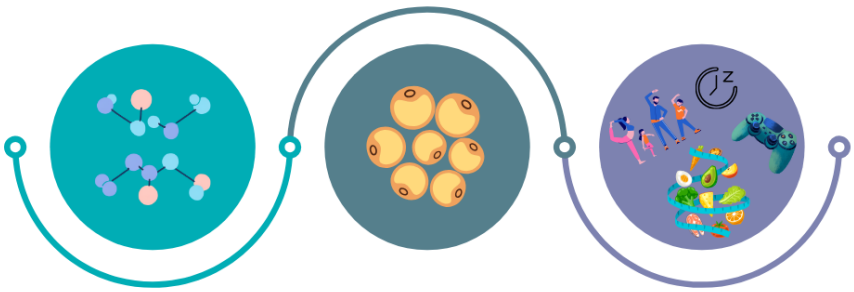
Tabla 32. Resultados del análisis de ANCOVA corregido por sexo y edad entre las variables dicotómicas del cuestionario y los cambios en las variables analíticas y proteómicas tras la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad. Se muestran los cambios (delta, d) tras la intervención conductual de las variables analíticas y proteómicas según el cumplimiento o no de las recomendaciones en cada área (uso de pantallas, sueño y actividad física). Las casillas verdes indican diferencias significativas, las amarillas señalan tendencias hacia la significación. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa.

		Cumple con la recomendación ?					
		Pantalla entre semana			Pantalla fin de semana		
	N= 12	Sí (N= 3)	No (N= 9)		Sí (N =2)	No (N= 10)	
	Delta	Delta		p- valor	Delta		p- valor
dGlucosa	-3,33	3,67	-5,67	0,081	4,00	-4,80	0,148
dInsulina	-1,36	6,53	-3,99	0,082	0,55	-1,74	0,643
dHOMA-IR	-0,50	1,43	-1,14	0,082	0,18	-0,63	0,567
dHDL-c	2,08	9,67	-0,44	0,07	10,30	0,44	0,359
dLDL-c	7,50	13,67	5,44	0,148	18,50	5,30	**0,026**
dHSD11B1	8002,17	11409,31	6866,45	0,080	8208,84	7960,83	0,302
dGHRL	175,73	332,55	123,45	0,798	459,96	118,88	0,502
dTGFβ1	398,17	432,48	386,74	0,685	595,09	358,79	0,387
dOLR1	-9,37	-2,97	-11,50	0,944	64,05	-24,05	0,678
dOSM	-0,32	-3,77	0,84	0,072	-0,03	-0,37	0,748
dCCL2	119,15	168,90	102,57	0,395	240,49	94,88	**0,023**
dVEGFA	80,05	118,23	67,32	0,590	153,94	65,27	0,973
dLAMP3	185,44	264,87	158,96	0,679	386,06	145,32	0,188
dGDF2	29,86	71,00	16,15	0,094	97,11	16,41	**0,003**
		Cumple con la recomendación ?					
		Sueño entre semana			Sueño fin de semana		
	N= 12	Sí (N= 9)	No (N= 3)		Sí (N= 5)	No (N= 7)	
	Delta	Delta		p- valor	Delta		p- valor
dGlucosa	-3,33	-5,78	4,00	0,161	-6,40	-1,14	0,523
dInsulina	-1,36	-3,00	3,57	0,416	-6,40	2,24	0,126
dHOMA-IR	-0,50	-0,94	0,83	0,375	-1,82	0,45	0,133
dHDL-c	2,08	2,03	2,23	0,779	2,90	1,50	0,319
dLDL-c	7,50	7,89	6,33	0,895	0,20	12,71	0,067
dHSD11B1	8002,17	7582,83	9260,17	0,647	3778,82	11018,85	0,070
dGHRL	175,73	72,18	486,37	**0,048**	276,19	103,96	0,976
dTGFβ1	398,17	427,01	311,66	0,351	484,38	336,59	0,768
dOLR1	-9,37	29,45	-125,83	0,303	-93,09	50,43	0,12
dOSM	-0,32	1,33	-5,24	**0,050**	-0,39	-0,26	0,913
dCCL2	119,15	129,11	89,28	0,675	88,10	141,33	0,299
dVEGFA	80,05	78,71	84,07	0,666	112,46	56,90	0,535
dLAMP3	185,44	138,17	327,26	0,353	131,69	223,83	0,226
dGDF2	29,86	25,96	41,55	0,726	36,29	25,27	0,158

Tabla 32 (continuación). Resultados del análisis de ANCOVA corregido por sexo y edad entre las variables dicotómicas del cuestionario y los cambios en las variables analíticas y proteómicas tras la intervención conductual en 12 pacientes con obesidad. Se muestran los cambios (delta, d) tras la intervención conductual de las variables analíticas y proteómicas según el cumplimiento o no de las recomendaciones en cada área (uso de pantallas, sueño y actividad física). Las casillas verdes indican diferencias significativas, las amarillas señalan tendencias hacia la significación. *MVPA: Moderate-to-Vigorous Physical Activity,* actividad física moderada a vigorosa.

		Cumple con la recomendación ?					
		60 min MVPA al día			60 min MVPA cada día		
	N= 12	Sí (N= 4)	No (N= 8)		Sí (N= 2)	No (N= 10)	
	Delta	Delta		p- valor	Delta		p- valor
dGlucosa	-3,33	-2,25	-3,88	0,947	-4,50	-3,10	0,273
dInsulina	-1,36	1,80	-2,94	0,482	-1,95	-1,24	0,999
dHOMA-IR	-0,50	0,40	-0,94	0,464	-0,48	-0,50	0,902
dHDL-c	2,08	0,13	3,06	0,079	7,15	1,07	0,943
dLDL-c	7,50	1,75	10,38	0,151	5,50	7,90	0,203
dHSD11B1	8002,17	7556,05	8225,23	0,762	6400,76	8322,45	0,334
dGHRL	175,73	309,40	108,89	0,458	339,06	143,06	0,713
dTGFβ1	398,17	377,96	408,28	0,683	404,77	396,85	0,811
dOLR1	-9,37	31,79	-29,95	0,748	74,36	-26,12	0,629
dOSM	-0,32	1,24	-1,09	0,661	2,64	-0,91	0,687
dCCL2	119,15	105,04	126,20	0,901	114,62	120,06	0,656
dVEGFA	80,05	115,50	62,32	0,3	127,97	70,46	0,745
dLAMP3	185,44	410,88	72,72	**0,015**	292,14	164,10	0,214
dGDF2	29,86	33,48	28,05	0,535	58,02	24,23	0,882

DISCUSIÓN



DISCUSIÓN

El diagnóstico de obesidad infantil en la práctica clínica resulta de la combinación de parámetros antropométricos y clínicos. Sin embargo, esta caracterización fenotípica queda muy lejos de reflejar la complejidad biológica detrás de ese diagnóstico. La obesidad es una alteración metabólica establecida en la que intervienen el genoma, el transcriptoma, el microbioma, el metaboloma (entre ellos, el lipidoma) y el proteoma. En este sistema biológico, todos los elementos interactúan entre ellos y participan conjuntamente al fallo del TA como órgano regulador del metabolismo energético y endocrino (46). La pérdida del equilibrio homeostático se acompaña del desarrollo de un síndrome inflamatorio local, en el TA, y sistémico (18). Caracterizar o explicar los mecanismos mediante los cuales el acúmulo de grasa daña el organismo ha sido el principal objetivo de la investigación en obesidad. Además, variables como la biología no modificable (edad, etnia, género, antecedentes familiares, factores de riesgo precoces), el exposoma y el nutrioma modulan este complejo sistema de interacciones moleculares y explican, en parte, la heterogeneidad clínica de los niños con obesidad (46). Sin embargo, los factores causales y/o mantenedores de la obesidad infantil no se limitan a la biología del individuo, sino que otros condicionantes como la estructura familiar y el entorno socioeconómico juegan un papel fundamental y, muchas veces, difícil de cuantificar (41). Si bien los estudios ómicos en obesidad infantil han aumentado en número y complejidad en la literatura científica de los últimos años, los esfuerzos por estudiar conjuntamente diferentes ómicas, diferentes órganos o sistemas y las interacciones entre el entorno y las ómicas son escasos. En esta tesis doctoral, se ha pretendido por un lado profundizar en los mecanismos moleculares lipidómicos y proteómicos involucrados en la lipotoxicidad y por otro, analizar cómo factores externos como el nutrioma, el estilo de vida y el entorno socioeconómico del paciente influyen en el plano molecular.

1 Objetivo 1: Describir los cambios en el patrón lipidómico circulante de niños con obesidad frente a adultos con obesidad después de una intervención de control de peso

Estudios metabolómicos en suero han demostrado que los lípidos son los metabolitos más alterados en los niños con obesidad frente a los niños con normopeso (189,190). De hecho, se ha comprobado que el perfil lipidómico en niños con obesidad saludable y no saludable presenta diferencias claras en su composición (191). Dada la relevancia de las alteraciones lipídicas en la obesidad, se planteó un estudio preliminar que permitiera describir las adaptaciones lipidómicas en el suero de niños con obesidad después de seis meses de intervención conductual. El perfil lipidómico circulante de niños con sobrepeso u obesidad ha sido ampliamente documentado en estudios transversales (14,17,149,189). Sin embargo, la investigación sobre cómo estos perfiles responden a modificaciones en el estilo de vida es aún limitada (192). Este estudio longitudinal supuso, por lo tanto, una primera aproximación a la modulación lipidómica circulante en respuesta a cambios conductuales para control de peso en niños con obesidad. A modo exploratorio, se comparó con la adaptación lipidómica en suero de adultos con obesidad después de una intervención quirúrgica bariátrica. No porque la cirugía bariátrica y la intervención conductual fueran equivalentes, sino porque son las opciones óptimas actualmente recomendadas para tratar la obesidad severa en cada grupo.

La intervención en el estilo de vida de 10 niños con obesidad tuvo cambios significativos en los niveles circulantes de LDL-c, TNF-α, MCP-1, IL6 y 71 especies lipídicas. Los lípidos se regularon principalmente a la baja (56 frente a 15). Concretamente, la abundancia de PI aumentó debido a la activación de la biosíntesis mientras que la abundancia de PS disminuyó. Dado que los niños con obesidad tienen menores niveles de PI y mayores niveles de PS comparado con niños normopeso (14), los cambios en PI y PS después de la intervención conductual podrían interpretarse como una respuesta metabólica positiva al tratamiento. Asimismo, la disminución de los niveles circulantes de PS O-, PS, DG y PG a los 6 meses de intervención se asoció a una tendencia a la mejora metabólica: disminución del IMC, peso, insulinemia y aumento de la proteína

total. Aunque el tratamiento conductual no logró una pérdida de peso significativa, sí disminuyó el estado inflamatorio y generó cambios positivos en el perfil lipidómico. Estudios previos han demostrado cambios profundos en biomarcadores relacionados con la inflamación, el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina tras una intervención en el estilo de vida, independientemente de la pérdida de peso absoluta (193–196). Por lo tanto, consideramos el uso potencial de las modificaciones observadas en el perfil lipidómico como biomarcadores de mejora metabólica.

Tomando los cambios lipidómicos en la cohorte adulta después de la cirugía bariátrica como referencia de una firma de reversión de la lipotoxicidad, se puso el enfoque en detectar cambios coincidentes en ambas cohortes. Se identificaron quince especies lipídicas circulantes reguladas que coincidían a los 6 meses entre las dos cohortes. Entre ellas, los niveles de PI(39:3) y PI(41:6) aumentaron. Dado que los niveles bajos de PI están relacionados con inflamación, resistencia a la insulina y MASLD en la obesidad infantil (14,197), el incremento de los niveles de PI tras una intervención temprana en el estilo de vida podría considerarse un signo de mejora metabólica. Además se detectó un aumento de SM(34:2) en ambas cohortes. Aunque se ha vinculado la resistencia a la insulina con una mayor concentración de SM (198), también se ha descrito el aumento de ciertas SM poliinsaturadas después de la cirugía bariátrica (199,200). En la cohorte pediátrica, los cambios en la circunferencia de la cintura se correlacionaron negativamente con SM(34:2). Por otra parte, ambas cohortes presentaron un aumento de los niveles de ST(22:6). Dado que la actividad de la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) disminuye en la obesidad (201), resulta plausible pensar que el aumento en la abundancia de CE en ambas cohortes podría estar relacionado con la restauración de las funciones normales de la LCAT.

Por otro lado, los niveles de PC(43:4), DG (36:6)(42:7)(44:9), PG(O 28:0)(O 30:1)(44:0) y PE(52:4) disminuyeron en ambas cohortes. Los niveles circulantes de PC, PE, DG y TG han mostrado una correlación positiva con la resistencia a la insulina en adultos (202). Por lo tanto, se planteó la hipótesis de que la disminución de DG, PE y PC en la cohorte pediátrica tras una intervención temprana en el estilo de vida podría tener un efecto favorable sobre la resistencia

a la insulina en la adultez. Dado que las PC circulantes son una fuente esencial de triglicéridos en la esteatosis (200), la reducción de PC en la cohorte pediátrica tras la intervención en el estilo de vida también podría tener un impacto positivo en la esteatosis hepática. Finalmente, PI(O-36:2) y PI(O-34:0) mostraron una regulación inversa entre las dos cohortes, lo que sugiere una heterogeneidad en la relevancia clínica de estas especies individuales de fosfolípidos en los diferentes grupos. Este hallazgo requiere una caracterización adicional para interpretar completamente su utilidad clínica.

En este estudio piloto se reconocen diversas limitaciones. Se estudiaron dos cohortes diferentes sometidas a intervenciones distintas: cambio en el estilo de vida y cirugía bariátrica, respectivamente. Estas dos estrategias representan los tratamientos estándar actualmente recomendados para abordar la obesidad severa en cada cohorte, dado que la cirugía bariátrica no se aplica mayoritariamente en niños con obesidad severa, mientras que las intervenciones en el estilo de vida en adultos con obesidad severa suelen tener resultados modestos. No obstante, ambos procedimientos presentan limitaciones inherentes, como la adherencia a la intervención en la cohorte pediátrica y los cambios dietéticos concomitantes en la cohorte adulta. Aunque estos factores de confusión fueron controlados por los investigadores durante las visitas de seguimiento, la implementación de métodos adicionales de monitorización, como el autorregistro de la ingesta alimentaria y de la actividad física, podría ayudar a reducir la variabilidad introducida por estos factores. Además, no se contó con un grupo control pediátrico ni adulto para aislar los efectos específicos de las intervenciones, lo que sería esencial incluir en futuros estudios.

En la cohorte adulta, limitaciones adicionales, como el envejecimiento, podrían influir en la interpretación de la respuesta lipídica a la pérdida de peso. Asimismo, se incluyeron dos técnicas de cirugía bariátrica diferentes, pero dado que no se observaron diferencias significativas en los resultados antropométricos y metabólicos entre ambas técnicas, los cambios lipídicos postquirúrgicos se analizaron de manera conjunta.

En cuanto a la cohorte pediátrica, el tamaño reducido de la muestra es una limitación importante. Sin embargo, el reclutamiento de pacientes pediátricos y la obtención de muestras de suero consecutivas resultan restrictivos en la

práctica clínica. Este estudio se centró únicamente en la altura, el peso, la circunferencia de la cintura y el IMC como marcadores de composición corporal. La inclusión de medidas adicionales, como pliegues cutáneos tricipitales y subescapulares, circunferencia de cadera o análisis mediante absorciometría de rayos X de energía dual (DXA), en futuros estudios permitiría una comprensión más detallada de la relación entre los cambios en la composición corporal pediátrica y las modificaciones lipídicas asociadas.

Por último, aunque se midieron algunos biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo, no se incluyeron ciertos ácidos grasos libres relevantes, como los n-3 y n-6, ni se evaluaron los niveles de FFA en circulación. Su incorporación en futuras investigaciones podría aportar perspectivas valiosas y ampliar la comprensión del impacto de estas intervenciones.

Este estudio, mediante un método mínimamente invasivo, permitió describir los cambios en un conjunto específico de especies lipídicas tras la intervención conductual y sentó las bases de una posible firma lipidómica en las primeras etapas de la vida. Sin embargo, debido a su naturaleza preliminar, es necesario realizar más investigaciones para comprender el papel potencial y la posible aplicación clínica de cada una de las especies identificadas.

El análisis lipidómico en suero presenta un desafío importante. Interpretar los resultados y las implicaciones metabólicas resultantes es complejo debido a que los lípidos circulantes no provienen exclusivamente del TA. También se originan en el hígado, el intestino y los músculos, principalmente (119). El TA es el órgano responsable del almacenamiento y movilización de los lípidos y el primero en alterarse en la fisiopatología de la obesidad. Por esta razón, se propuso, en una fase posterior, estudiar de manera específica el lipidoma del TA en niños con y sin obesidad.

2 Objetivo 2: Identificar las diferencias en el patrón lipidómico del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) de niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar

Dado que la lipidómica tiene la capacidad de detectar cambios metabólicos tempranos, se consideró la herramienta adecuada para investigar los mecanismos subyacentes a la adaptación y remodelación del TAB en la obesidad infantil. Además, se planteó comparar el TABs y TABv en cada paciente, para analizar el rol específico y conjunto de estos depósitos en la obesidad infantil.

Por un lado, el lipidoma del TABs en niños con obesidad reveló la existencia de nuevas familias y especies lipídicas no definidas en LIPIDMAPS, lo que requirió una inspección manual de los espectros MS/MS para reconstruir su estructura molecular. La nueva familia y especies lipídicas identificadas fueron los EtherTG y varios OxTG, respectivamente. El TABs de niños con obesidad presentó una concentración elevada de TG oxidados ricos en PUFA, especialmente aquellos relacionados con las vías omega-3 y omega-6. Los PUFA son esenciales para la regulación de la inflamación y la función de las membranas celulares, contribuyendo al equilibrio metabólico y la integridad de las células (4). Sin embargo, debido a su estructura química, los PUFA son más susceptibles a la oxidación, lo que genera formas oxidadas que pueden ser perjudiciales. El acúmulo de estos lípidos en el TABs puede interpretarse como un intento del TA para proteger al organismo al almacenar estos ácidos grasos esenciales en un depósito relativamente seguro, reduciendo así el impacto de su posible toxicidad. No obstante, el alto contenido de PUFA oxidados en el TABs de niños con obesidad es indicativo de un mayor estrés oxidativo en este tejido. El estrés oxidativo contribuye al daño celular, lo que puede alterar la función de los adipocitos, favorecer la inflamación crónica y desencadenar disfunciones metabólicas sistémicas (4,203).

Por otra parte, el análisis del lipidoma del TABs en niños con obesidad reveló una disminución en el contenido de etherTG y etherPE. Los lípidos éteres, abundantes en la leche materna, pueden aumentar el contenido mitocondrial y la formación de adipocitos beige en el TABs, a la vez que reducen el contenido

de TG y el tamaño de los adipocitos, favoreciendo un perfil metabólico más saludable (203). La reducción observada en los niveles de etherTG podría, por lo tanto, interferir en la generación de adipocitos beige y fomentar una mayor acumulación de grasa en el TABs (204). El déficit de etherPE también se ha vinculado con la disfunción de los adipocitos beige, la inflamación y el estrés oxidativo (204).

En resumen, la reducción de los lípidos éteres, combinada con el aumento del daño oxidativo en TABs, sugiere un proceso de remodelación lipídica que podría afectar la capacidad del TABs para amortiguar el estrés metabólico y almacenar lípidos de manera protectora.

En cuanto al TABv de niños con obesidad, se observó que, aunque los niveles generales de PC estaban reducidos, PC 18:1_20:4 mostraba niveles elevados. PC 18:1_20:4 es un fosfolípido que puede acumularse en el retículo endoplásmico como respuesta a la ingesta alimentaria y se asocia con la resistencia a la insulina secundaria a la obesidad (205). El alto contenido de PC 18:1_20:4 en TABv sugiere, por lo tanto, un vínculo entre la disrupción del metabolismo lipídico y la resistencia a la insulina en el contexto de la obesidad infantil. Otro hallazgo a destacar fue el aumento de la ceramida Cer 18:0;2O/24:1 en el TABv de niños con obesidad. Las ceramidas son lípidos bioactivos que pueden interferir en la señalización de la insulina y promover la inflamación. La acumulación de Cer 18:0;2O/24:1 en el TABv se ha relacionado con la disfunción del TA y un mayor riesgo cardiometabólico (206). Además, se observó una reducción de los DG saturados y poliinsaturados, a favor de un aumento en los DG monoinsaturados, diinsaturados y triinsaturados. Este cambio sugiere una tendencia hacia la acumulación de especies lipídicas metabólicamente menos favorables, lo que posiblemente contribuya a un aumento en la adiposidad, inflamación y disfunciones metabólicas.

En resumen, los resultados indicaron que el TABv acumula lípidos con un perfil metabólico desfavorable, implicados en la inflamación, la resistencia a la insulina y el riesgo cardiovascular, destacando el papel de la lipotoxicidad en la obesidad. Los cambios lipidómicos observados en el TABs y TABv de niños con obesidad se resume en la figura 39.

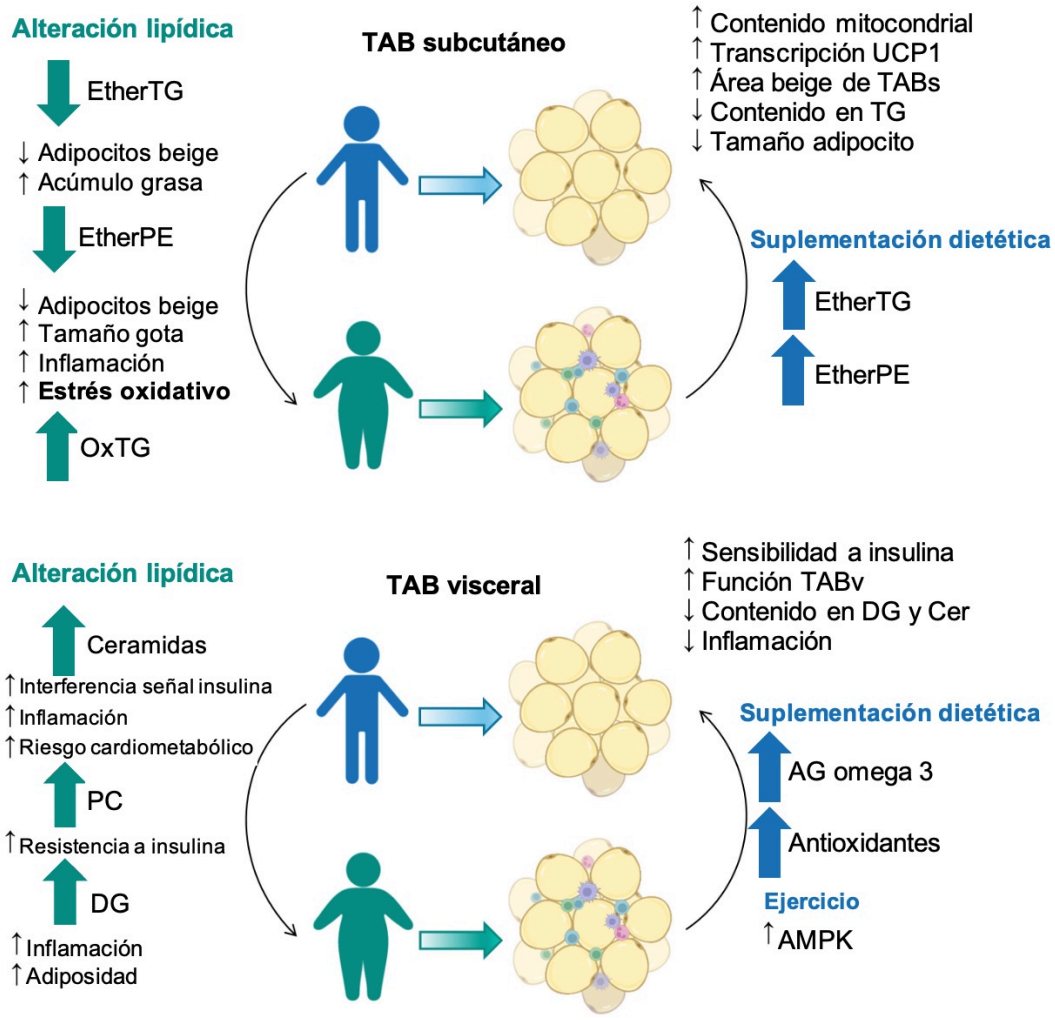


Figura 39. Interpretación biológica de la remodelación lipídica en los TABs y TABv de niños en respuesta a la obesidad y posibles intervenciones

Resumen de las alteraciones lipídicas (verde) en los TAB subcutáneo y visceral de niños con obesidad. En azul, se detallan posibles intervenciones para contrarrestar los efectos de la remodelación lipídica. *EtherTG: éter triglicérido; EtherPE: éter fosfatidiletanolamina; OxTG: triglicérido oxidado; PC: fosfatidilcolinas; DG: diglicéridos; UCP1: proteína desacoplante 1; TG: triglicérido; Cer: ceramidas; AG: ácidos grasos; AMPK: proteína quinasa activada por AMP*. Figura cedida por C. González-Riano, C. Barbas, CEMBIO

Posteriormente, se calcularon las correlaciones entre los lípidos relevantes del TABs y el TABv, para analizar el alcance de la remodelación lipídica observada. Se encontraron numerosas correlaciones entre ambos depósitos en niños con obesidad, confirmando el carácter sistémico de la alteración en el almacenamiento de lípidos. La dirección de la correlación permitió aclarar si los mecanismos de remodelación eran compartidos (correlación positiva) o

específicos del depósito (correlación negativa). Globalmente, se encontraron abundantes y muy intensas correlaciones positivas entre los TG de ambos depósitos, indicando que tanto el TABs como el TABv contribuyen al almacenamiento del exceso de energía en forma de TG en los niños con obesidad. Sin embargo, se reconoce ampliamente que el TABv tiene una mayor actividad metabólica (128,207). Por lo tanto, aunque los mecanismos de manejo de lípidos sean similares, es probable que las consecuencias resultantes difieran entre los depósitos.

Varios oxTG se correlacionaron positivamente entre los depósitos, particularmente aquellos que contenían PUFA como el ácido linoleico (FA 18:2) y el ácido linolénico (FA 18:3). Los PUFA en los TG se oxidan debido al acúmulo de especies reactivas de oxígeno, producto de la inflamación crónica de bajo grado asociada a la obesidad (208). Una vez oxidados, los PUFAs son más susceptibles a la degradación, contribuyendo a la disfunción de los adipocitos, el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina (4,203). Este hallazgo sugiere, por tanto, que el estrés oxidativo impacta a ambos depósitos. Asimismo, se detectó el acúmulo de formas oxidadas de etherTG en ambos depósitos, respaldando la hipótesis de un daño oxidativo generalizado.

Los etherTG mostraron tendencias paralelas en ambos depósitos, indicando mecanismos coordinados de almacenamiento lipídico. Dado que el TABs en niños con obesidad presentó un contenido reducido de etherTG, contribuyendo a la disfunción de los adipocitos, al incremento del almacenamiento de grasa y al empeoramiento del perfil metabólico, las consecuencias del déficit de etherTG podrían, por lo tanto, tener un alcance sistémico.

La ceramida cer 18:0;2O/24:1 en TABv se correlacionó positivamente con TG saturados y monoinsaturados, y negativamente con TG ricos en PUFA del TABs. Este hallazgo sugiere un efecto sistémico de la acumulación de ceramidas sobre el almacenamiento de lípidos y la inflamación en ambos depósitos. Tanto el acúmulo de ceramidas como la reducción de lípidos beneficiosos, etherPE y etherTG, reflejan la lipotoxicidad ya presente en las primeras etapas de la obesidad.

Por otro lado, los TG saturados y monoinsaturados, típicamente más estables que los TG que contienen PUFA, mostraron tendencias similares entre ambos

depósitos. Este hallazgo podría sugerir mecanismos similares de almacenamiento o de síntesis y elongación de ácidos grasos, dado que estos lípidos se sintetizan frecuentemente *de novo* en el TA.

Finalmente, las asociaciones directas entre TG específicos, como TG 16:0_18:1_18:2;O1 en el TABv y TG 16:0_18:2_18:2;O1 en el TABs, podrían sugerir un metabolismo lipídico coordinado a nivel sistémico influenciado por la ingesta dietética y procesos comunes de almacenamiento o movilización de lípidos.

Además de los mecanismos compartidos de regulación lipídica, se revelaron diferencias claras en el comportamiento de ambos depósitos.

La correlación negativa observada entre los TG con PUFA de cadena larga (>56 átomos de carbono) en el TABs y los TG saturados o monoinsaturados de cadena más corta (>47 átomos de carbono) en el TABv sugiere que ambos depósitos tienen mecanismos diferentes para el almacenamiento y manejo de lípidos. Mientras que el TABs preferentemente almacena o metaboliza PUFA de cadena larga, que son más propensos a la oxidación, el TABv está involucrado en el almacenamiento de TG más cortos y con mayor densidad energética. Esta especialización en el manejo de lípidos explicaría el rol específico de cada depósito, donde el TABv juega un papel más activo en el metabolismo energético y la movilización de lípidos, mientras que el TABs se encarga más del almacenamiento de lípidos y la protección frente al estrés oxidativo. En otras palabras, el TABv al ser más activo en la movilización de lípidos contribuye en mayor medida al desarrollo de complicaciones metabólicas, como la resistencia insulínica y la dislipidemia, mientras que el TABs sirve como almacenamiento de PUFA antiinflamatorios. Del mismo modo, la asociación negativa entre TG ricos en PUFA y OxTG en el TABs y TG saturados con cadenas más cortas en el TABv respaldaría la misma hipótesis.

Este segundo estudio presenta algunas limitaciones. El número de pacientes reclutados fue relativamente reducido. A pesar de extender el período de reclutamiento durante 3 años, la pandemia de COVID-19 afectó significativamente el ritmo de inclusión de pacientes, especialmente en el grupo OW/OB, debido a las restricciones impuestas en los ingresos hospitalarios y las intervenciones quirúrgicas pediátricas durante ese periodo. Los estrictos criterios

de exclusión representaron un desafío adicional para la inclusión de pacientes. La inclusión de tres pacientes con sobrepeso podría haber subestimado los efectos asociados con la obesidad. Sin embargo, los modelos de PCA, PLS y OPLS confirmaron una clara diferenciación entre los grupos en función del IMC, lo que respalda la solidez del análisis. Aunque se obtuvo un perfil analítico exhaustivo para todos los pacientes, la evaluación de biomarcadores circulantes de inflamación y estrés oxidativo habría aportado información adicional valiosa.

Se incluyeron pacientes prepuberales y puberales, lo que podría haber introducido sesgos en los resultados del análisis del TA. Sin embargo, al no encontrarse diferencias significativas en la prevalencia de ambos grupos, se logró una comparación equitativa de los efectos. Además, la inclusión de pacientes en diferentes etapas del desarrollo infantil permitió observar cómo los procesos metabólicos relacionados con la obesidad afectan estas fases del crecimiento.

Por otro lado, este estudio presenta importantes fortalezas. Es un estudio prospectivo que contó con un grupo control y con la obtención de dos muestras por paciente, subcutánea y visceral, permitiendo que cada paciente sirviera como su propio control. Según la literatura disponible, se trata del primer estudio de casos y controles que combina ambos tipos de muestras en una cohorte pediátrica. Gracias a la metodología utilizada en este estudio, no sólo se reafirmó el papel ya conocido de algunos lípidos implicados en el remodelado del TAB en niños con obesidad, sino que se identificaron nuevas familias y especies de lípidos implicadas en este proceso, abriendo nuevas perspectivas para investigaciones futuras. Además, se observaron patrones específicos y compartidos en el manejo de lípidos en ambos depósitos adiposos, lo que proporciona información adicional para comprender mejor el funcionamiento del TAB en la obesidad pediátrica.

En conclusión, el análisis lipidómico del TABs y TABv en niños con y sin obesidad permitió descubrir nuevas especies lipídicas involucradas en el remodelado del TA y en la inflamación en obesidad infantil.

Para dar continuidad a esta línea de investigación, se planteó investigar los niveles séricos de proteínas con un papel endocrino importante en el metabolismo y la inflamación que podrían verse alteradas por la disregulación del TAB.

3 Objetivo 3: Evaluar los niveles circulantes de 30 proteínas claves en el metabolismo lipídico, la ingesta y la inflamación en niños con obesidad frente a niños con normopeso de edad similar

En la cohorte empleada para llevar a cabo este objetivo, el grupo OW/OB presentó un fenotipo claro de obesidad donde todos los índices antropométricos cumplieron con criterios de obesidad. El ICC medio y la prevalencia de ICC de riesgo cardiovascular no fue diferente en ambos grupos. El ICC puede ser muy similar en ambos grupos por varias razones. En primer lugar, el ICC mide la distribución de grasa entre la cintura y la cadera, no la cantidad de grasa corporal total. Si la acumulación de grasa está proporcionalmente distribuida entre la cintura y las caderas en un niño con obesidad o un niño normopeso tiene una constitución corporal equilibrada, el ICC mantiene proporciones muy similares y cercanas a 1 en ambos casos. En segundo lugar, los pacientes prepuberales todavía mantienen proporciones equilibradas, lo que también explicaría un ICC cercano a 1. Por lo tanto, en este estudio, el ICC no fue un buen indicador de obesidad abdominal (209). Sin embargo, el ICT fue un indicador más sensible, significativamente más elevado en el grupo OW/OB después de corregir por edad y sexo.

En las variables analíticas se detectaron signos de resistencia insulínica (HOMA-IR patológico, insulinemia en rango alto) e hipotiroidismo subclínico (TSH elevada en rango patológico) reflejos del desarrollo precoz de síndrome metabólico en el grupo OW/OB. Los niveles de ALT fueron más elevados en el grupo OW/OB después de ajustar por edad y sexo. Este hallazgo podría ser un indicador temprano de estrés hepático o de esteatosis secundarios a la resistencia insulínica y al estado inflamatorio crónico. La hiperinsulinemia basal, el HOMA-IR elevado, el descenso de HDL-c y la elevación de mediadores proinflamatorios como IL18, OLR1, OSM y TLR1 apoyaron esta hipótesis. Aunque los niveles de HDL-c en el grupo OW/OB fueron 22 puntos más bajos, la diferencia no resultó significativa. Los niveles de LDL-c, TG o colesterol total tampoco presentaron diferencias significativas después de ajustar por edad y sexo. Este resultado puede deberse a varios factores: la presencia de una

dislipemia en etapas iniciales, la inclusión de niños con obesidad metabólicamente saludable o la capacidad del hígado para mantener la producción de lipoproteínas, incluso en un contexto de inflamación de bajo grado. Los niveles de SHBG fueron significativamente más bajos en el grupo OW/OB después de ajustar por edad y sexo. La producción hepática de SHBG está regulada por diversas vías. Por una parte, el aumento de la síntesis en el hígado de otras proteínas puede desplazar y reducir la producción de SHBG. Concretamente, la activación en la producción de factores de crecimiento insulina *like* IGF-1 secundaria a la resistencia insulínica conlleva la inhibición de la expresión del gen de la SHBG (210). Asimismo, la producción hepática de citoquinas proinflamatorias como TNF-α secundaria al estado inflamatorio crónico podría interferir también en la síntesis hepática de SHBG (211). Por otra parte, la obesidad asocia un incremento en la producción adrenal de andrógenos. El TA posee además una acción de aromatasa que aumenta la conversión periférica de androstenediona a estrona, y de testosterona a estradiol, independientemente de los niveles plasmáticos de gonadotropinas. El desequilibrio hormonal resultante inhibe la producción hepática de SHBG (212). De las 30 proteínas analizadas en la proteómica dirigida, 11 resultaron significativamente moduladas en la obesidad después de ajustar por edad y sexo. Para discutir estos resultados, las principales proteínas seleccionadas se agruparon en tres categorías según su papel en la obesidad.

3.1 Proteínas relacionadas con el metabolismo

3.1.1 HSD11B1

La 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11β-HSD1) cataliza la regeneración de cortisol activo a partir de cortisona inactiva, amplificando los niveles de cortisol y la acción de los glucocorticoides en el TA y el hígado, entre otros. El grupo OW/OB presentó niveles significativamente bajos de HSD11B1, con una diferencia de más de 8000 pg/mL con respecto al grupo NW. Hasta la fecha, no se han publicado resultados sobre los niveles circulantes de HSD11B1 en niños con o sin obesidad. Sin embargo, sí existe literatura relacionada con diversos aspectos de la HSD11B1. Por ejemplo, un estudio genético demostró la asociación entre el polimorfismo rs3753519 en el gen HSD11B1 y la obesidad

infantil. Efectivamente, los niños portadores del alelo de riesgo presentaron un mayor IMC, peso y circunferencia de cintura y menores niveles plasmáticos de cortisol y adiponectina frente a los niños no portadores. Ese polimorfismo se relacionó positivamente con la enzima hepática GGT (marcador de hígado graso) y con el PAI-1 (marcador de riesgo cardiovascular) pero no con marcadores inflamatorios (213). En nuestra cohorte, el grupo OW/OB también presentó correlaciones negativas con variables antropométricas como el perímetro de cintura, ds IMC y ds IMT. A diferencia del estudio previo, sí se encontraron asociaciones positivas con biomarcadores inflamatorios como VEGFA, TGF-β1 y LAMP3. Nuestros resultados se basaron en la cuantificación de la proteína circulante y no en la presencia del polimorfismo, lo que puede explicar la diferencia en las correlaciones encontradas. Además, varios grupos han investigado la actividad enzimática global de 11β-HSD1 mediante cálculos indirectos, obteniendo conclusiones contradictorias. Por un lado, un estudio estimó la actividad de 11β-HSD1 a partir de la relación de excreción urinaria de metabolitos de cortisol a cortisona (tetrahidrocortisol + 5α-tetrahidrocortisol / tetrahidrocortisona) y reportó que esta relación era más baja en los niños con obesidad en comparación con los normopeso. En esa cohorte, la actividad de 11β-HSD1 no mostró correlación con el ICC, la adiposidad relativa o el HOMA-IR (214). Por otro lado, un estudio estimó la actividad global de la 11β-HSD1 calculando la relación en suero de metabolitos de cortisol a cortisona [(cortisol + aldo-DHF + aldo-THF + THF) / cortisona], así como la actividad relativa de la 5α/5β-reductasa y de la 3-alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa en 227 niñas con obesidad central. Este estudio demostró un aumento tanto en la producción de cortisol mediada por la 11β-HSD1 como en el catabolismo del cortisol, mediado por la 5α/5β-reductasa y la 3-alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa (215). Aunque la literatura existente no aclare cómo se regula la actividad global de la 11β-HSD1 en los niños con obesidad, sí resalta que el metabolismo del cortisol está alterado en estos pacientes. En esta tesis doctoral, se midieron por primera vez los niveles circulantes de HSD11B1 en niños con obesidad frente a niños normopeso y su evolución tras 6 meses de intervención conductual. La disminución observada de HSD11B1 en el grupo OW/OB se mantuvo después de ajustar por las covariables edad y sexo, confirmando la asociación entre

HSD11B1 y la obesidad. La actividad de 11β-HSD1 se regula específicamente en cada tejido y ajusta las concentraciones locales de cortisol independientemente de las concentraciones plasmáticas de cortisol controladas por el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (213). La 11β-HSD1, a través de la amplificación intracelular del cortisol, se propone como el principal responsable de la respuesta exagerada de glucocorticoides observada en el síndrome metabólico (216). Esta hipótesis se ha confirmado en modelos experimentales ya que la sobreexpresión de 11β-HSD1 en ratones se acompaña de hiperfagia, mayor ganancia ponderal, acumulación de TABv y resistencia a la insulina (217) y su interrupción resulta en una distribución más favorable del TA, así como en la protección contra la ganancia ponderal y la diabetes inducida por una dieta alta en grasas (216). En adultos con obesidad se ha demostrado un aumento en la expresión del gen y la actividad enzimática de 11β-HSD1 en el TABv y TABs (218). El aumento resultante de cortisol en el TA promueve la diferenciación de preadipocitos a adipocitos, intensifica la acumulación de grasa e induce resistencia a la insulina. Los efectos de la hiperactividad de 11β-HSD1 se han descrito principalmente en la obesidad central (219). Por otra parte, se ha observado una regulación a la baja en la expresión del gen y la actividad enzimática de 11β-HSD1 en el hígado, lo que reduce la acción de los glucocorticoides y aumenta la sensibilidad a la insulina en los hepatocitos (217). Esta reducción en la actividad hepática de la 11β-HSD1 podría ser mediada por la hiperinsulinemia y representa un mecanismo compensatorio para contrarrestar el exceso de glucocorticoides en el TAB y las complicaciones intrahepáticas derivadas. No obstante, la limitada literatura disponible sobre HSD11B1 en niños con obesidad difiere con lo publicado en adultos. Un estudio demostró que la expresión de HSD11B1 estaba efectivamente regulada al alza en el TABs de niños con sobrepeso u obesidad comparado con los controles pero no era el caso en el TABv (220). Asimismo, no se detectaron diferencias en la expresión de HSD11B1 entre el TABv y TABs de niños con obesidad. Por lo tanto, los mecanismos de regulación de la expresión de HSD11B1 en el TAB y en el hígado de los niños con obesidad requieren mayor investigación. A partir de la evidencia disponible, se planteó la hipótesis de que los bajos niveles plasmáticos de HSD11B1 observados en la cohorte OW/OB fueran el producto de una

regulación a la baja de la expresión hepática de HSD11B1 para reducir el potencial impacto metabólico adverso a nivel sistémico.

En nuestra cohorte, destacó la asociación positiva entre HSD11B1 y SHBG en el grupo OW/OB. Ambas presentaron niveles muy bajos en el grupo OW/OB, probablemente ligadas al hiperandrogenismo. El análisis por PCR en tiempo real de TABv y TABs de niños tratado *in vitro* con testosterona y cortisol demostró que tanto la testosterona como el cortisol aumentan específicamente la expresión del gen HSD11B1 y la actividad enzimática de 11β-HSD1 en el TABv (221). Este hallazgo podría explicar la relación entre HSD11B1 y SHBG. Por una parte el exceso de cortisol en el TAB, secundario al aumento de la actividad enzimática de 11β-HSD1, favorece la conversión de precursores hormonales a andrógenos. El hiperandrogenismo resultante activa a su vez la actividad de 11β-HSD1 en el TAB, cerrando el círculo, e inhibe la producción hepática de SHBG. De hecho, un estudio mostró que tanto el síndrome de ovario poliquístico, que se caracteriza por hiperandrogenismo y bajos niveles de SHBG, como la obesidad, se asociaron independientemente con un aumento en la expresión del gen HSD11B1 en el TABs de mujeres con obesidad (222). Por otra parte, se identificaron correlaciones positivas entre HSD11B1 y múltiples citoquinas proinflamatorias como TGF-β1, CD36, LAMP3 y VEGFA. Efectivamente, la expansión forzada del TAB conlleva un importante reclutamiento de macrófagos y la liberación de TNF-α, que junto con el cortisol, e IL1β activan la expresión del gen HSD11B1 (216). El reclutamiento y la activación de los macrófagos M1 en el TAB también implican la secreción de TGF-β1, lo que explicaría la correlación observada en el grupo OW/OB. CD36 es un receptor clave para la captación de ácidos grasos en el TAB que contribuye a su expansión y al reclutamiento de macrófagos M1 (223). En base a lo explicado anteriormente, se puede deducir que el aumento en la expresión de CD36 en el TAB provoca una mayor secreción de TNF-α, lo que a su vez incrementa la expresión de HSD11B1 en el TAB. Toda esta secuencia explica que el aumento en la expresión del gen HSD11B1 este directamente relacionado con el incremento de la adiposidad y el tamaño de los adipocitos. La hipertrofia y el remodelado del TAB inducidos por el incremento de HSD11B1 deben ir acompañados de un aumento de la angiogénesis, lo que explicaría la correlación observada entre HSD11B1 y VEGFA en el grupo

OW/OB. El contexto de cascada inflamatoria y activación inmunitaria asociado a la obesidad podría explicar igualmente la correlación observada entre HSD11B1 y LAMP3. La expresión de HSD11B1 está sujeta a muchos factores relacionados con la inflamación y el metabolismo energético, sugiriendo un papel clave en la integración entre la inflamación y el síndrome metabólico en la obesidad.

3.1.2 GDF2

La proteína GDF2, también conocida como BMP9 (*Bone morphogenetic protein 9*), pertenece a la superfamilia de TGF-β. GDF2 es secretada principalmente por el hígado y actúa sobre el sistema musculoesquelético y el metabolismo donde desempeña una función reguladora similar a la leptina. Los niveles de GDF2 fueron significativamente más bajos en el grupo OW/OB, con una diferencia de 58 pg/mL con el grupo NW, después de corregir por edad y sexo. En el grupo OW/OB se detectaron correlaciones negativas entre GDF2 y variables antropométricas como el perímetro de cintura, ds IMC, ds IMT y el HOMA-IR. Estos resultados concuerdan con la escasa literatura existente en adultos. Chen et al. reportaron niveles disminuidos de GDF2 en individuos con obesidad, diabetes y MASLD. Los niveles de GDF2 se correlacionaron con el IMC, insulina, LDL-c y HDL-c (224). De hecho, otros investigadores demostraron que los niveles de GDF2 disminuyen a medida que aumenta el número de componentes del síndrome metabólico. Además, establecieron un punto de corte de 56,6 pg/mL para los niveles de BMP9 como predictor del síndrome metabólico (225). Modelos experimentales han confirmado que GDF2 media sus efectos en el metabolismo de glucosa y lípidos a través de la activación de la expresión de FGF21 y que dichos efectos eran dosis dependiente (226). Reduce la ingesta de alimentos y promueve el gasto energético, mejorando la eficiencia alimentaria. En el hígado, GDF2 reduce la gluconeogénesis hepática, mejora la sensibilidad a la insulina e inhibe la lipogénesis hepática, mejorando la acumulación de lípidos y protegiendo de la esteatosis hepática (226). El efecto protector de GDF2 estaría relacionado con un incremento en la expresión del receptor activado por proliferador de peroxisomas α (PPARα) y en la oxidación de ácidos grasos (227). En el TAB, GDF2 regula positivamente la proliferación de precursores adipocitarios, efecto similar al de la leptina. Además, GDF2 conduce a la

activación de la termogénesis del TAM, mejorando la resistencia a la insulina así como al *browning* del TABs, protegiendo de la obesidad (228,229). Los mediadores de estos efectos parecen incluir FGF21 e IL6, pudiendo ser secretados por el propio TAM de manera autocrina (230,231). En el músculo esquelético promueve la síntesis de glucógeno muscular y aumenta la captación y utilización de glucosa. En el páncreas, podría estimular directamente la secreción de insulina tras una carga de glucosa, pero esta hipótesis requiere más investigación (226). Por otra parte, la inhibición de la secreción hipotalámica e intestinal de GDF2 podría estar involucrada también en la resistencia a la insulina, la diabetes y el disbalance energético (232,233). A diferencia de otros miembros de la misma familia, como BMP4, no se le conocen efectos antiinflamatorios por el momento. En nuestra cohorte se identificó una correlación positiva con FST. La interacción entre la FST y otras proteínas de la familia BMP, como BMP2/4/6/7, ha sido documentada, y se ha demostrado que favorece características propias del TAM al estimular la expresión de UCP1 y PRDM16 en los adipocitos marrones (234). Es posible que una interacción similar entre la FST y BMP9 también esté presente. Además se identificaron otras correlaciones positivas entre GDF2 y TGF-β1, CD36 y PER3, lo que evidencia múltiples interacciones aún no descritas que requieren estudios adicionales.

En base a la evidencia extraída de modelos experimentales, podemos deducir el impacto negativo de la inhibición de la expresión de GDF2 en el grupo OW/OB. La disminución de los niveles de GDF2 implica perder la protección frente a la resistencia insulínica y la esteatosis hepática, la capacidad de activación termogénica del TAM y *browning* del TABs, y el equilibrio del balance energético. Por todo lo anterior, GDF2 constituye una atractiva diana terapéutica que requiere más investigación.

3.1.3 FGF21

FGF21 se produce principalmente en el hígado bajo el control del receptor PPAR-α y funciona como una hormona endocrina. En nuestra cohorte, los niveles de FGF21 fueron significativamente más elevados en el grupo OW/OB en comparación con el grupo NW, con una diferencia de 53 pg/mL, después de

corregir por edad y sexo. El resultado observado coincide con la literatura previa. Los niveles séricos de FGF21 observados en adultos y niños con obesidad fueron más elevados en comparación con individuos normopeso (235). Concretamente, los niños con obesidad y síndrome metabólico o diabetes presentaron niveles de FGF21 más altos (236–238) y la alteración en los niveles de FGF21 fue mayor en los niños con diabetes tipo 2 que con tipo 1 (238). Un estudio genético demostró una asociación entre una mutación del gen FGF21 y la obesidad en niños. Los niveles circulantes de FGF21 fueron más elevados en los niños portadores de los dos alelos de la mutación (239). En estudios previos, los niveles de FGF21 en suero se correlacionaron positivamente con la adiposidad, el IMC, la circunferencia de la cintura, los TG, la resistencia a la insulina, los FFA y negativamente con HDL-c (235,240). Con respecto a la adiposidad, las asociaciones específicas de FGF21 con la grasa hepática, visceral o subcutánea son contradictorias (241,242). No obstante, se ha descrito una relación proporcional entre los niveles de FGF21 y el grado de MASLD (235). Algunos estudios identificaron una correlación entre los niveles de FGF21 y el incremento de marcadores inflamatorios como la PCR o TNF-α (236,243). Por otra parte, se ha postulado que una mutación en el regulador glucocinasa, que aumenta la disponibilidad de glucosa para la síntesis de lípidos, es la responsable de la hipertrigliceridemia observada en niños y adolescentes con obesidad, a pesar del efecto hipolipemiante de FGF21 (244). En nuestra cohorte, se identificaron en el grupo OW/OB correlaciones positivas con la antropometría, la insulina y HOMA-IR y negativas con HDL-c confirmando la asociación de FGF21 con la adiposidad, la resistencia a la insulina y la dislipemia descritas en la literatura. Estas correlaciones no se observaron en el grupo NW, sugiriendo que las correlaciones previamente descritas se asociaban a la obesidad. Por otra parte, los niveles de FGF21 en el grupo OW/OB fueron 109 pg/mL. Un estudio en adultos fijó en 160 pg/mL la concentración de FGF21 como punto de corte para predecir la glucemia alterada en ayunas (245). Aunque este límite requiera de una adaptación en la población pediátrica, la concentración de FGF21 observada en el grupo OW/OB no es diagnóstica de glucemia alterada en ayunas pero sí refleja una alteración establecida en la homeostasis de la glucosa.

FGF21 regula el metabolismo de la glucosa y los lípidos en circunstancias como el ayuno prolongado, la restricción de proteínas en la dieta, el consumo excesivo de azúcares, el consumo agudo o crónico de alcohol y el estrés del retículo endoplásmico. Su receptor se expresa selectivamente en tejidos metabólicos como el TAB y el TAM, el páncreas y los músculos donde FGF21 desempeña varias funciones para contrarrestar la alteración metabólica, la inflamación y el daño por estrés (245).

Estudios *in vitro* y en animales han demostrado que FGF21 estimula la cetogénesis y la glucogenogénesis hepáticas a la vez que inhibe la gluconeogénesis. Además, FGF21 mejora significativamente la señalización de insulina, incrementa las adipocinas sensibilizadoras de insulina como la adiponectina y reduce la leptina, antagonista de la insulina. Activado por la GDF2, FGF21 inhibe la lipogénesis hepática, protegiendo de la esteatosis hepática. FGF21 también mejora la dislipidemia al disminuir los niveles de TG y LDL-c y aumentar los de HDL-c (235).

En el TA, FGF21 mejora la sensibilidad a la insulina, reduciendo la acumulación de grasa y promoviendo la oxidación de ácidos grasos. Estudios recientes destacan la importancia del eje de regulación entre el hígado y el TA, en el que los adipocitos son clave para el efecto sensibilizante a la insulina de la FGF21 y la señalización de FGF21 limita la lipólisis en el TA en condiciones de sobreingesta (241). Asimismo, FGF21 regula al alza la expresión de la proteína UCP1 en el TAB y el TAM promoviendo el *browning* del TAB y la termogénesis (241,246). FGF21 es también liberada por el TAM y de manera autocrina favorece su activación termogénica (230,231).

Estudios previos en humanos han mostrado la implicación de FGF21 en la regulación en el hipotálamo de la ingesta y del gasto energético. Concretamente, estudios genéticos han asociado ciertos polimorfismos en el gen FGF21 con la preferencia por carbohidratos, proteínas, grasas y alcohol. Asimismo, un metaanálisis demostró que diversos estímulos como fumar, consumir alcohol, el ejercicio agudo y las dietas ricas en carbohidratos o grasas aumentaban significativamente los niveles de FGF21 (247). Además, se ha sugerido que puede jugar un papel en la mejora de la sensibilidad a la insulina en el cerebro, lo que influye en la función cognitiva y en la regulación del peso corporal (248).

Sin embargo, su mecanismo exacto de acción aún no está completamente claro. En base a la evidencia científica actual, el aumento de FGF21 en el grupo OW/OB puede ser la consecuencia de varios procesos. Primero, podría tratarse de la respuesta frente a la sobrecarga metabólica. Efectivamente, el acúmulo de lípidos en la obesidad desequilibra el retículo endoplásmico que activa la respuesta de proteínas no plegadas y a la larga agrava el daño celular. Dado que FGF21 induce la expresión de genes mitocondriales, su incremento podría ser un mecanismo para reducir el estrés metabólico (241). Segundo, el aumento en la expresión de FGF21 podría deberse a la expansión del TAB y la diferenciación de los adipocitos blancos. Por último, se ha propuesto la posibilidad de un mecanismo de resistencia a FGF-21 aunque está hipótesis ha sido muy debatida (241).

3.2 Proteínas relacionadas con la inflamación

3.2.1 OLR1

OLR1 (también llamada LOX-1, *Lectin-like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1*) es el principal receptor para lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox) y se encuentra regulado al alza en varias enfermedades cardiovasculares, incluida la aterosclerosis. Los niveles plasmáticos de la proteína OLR1 fueron significativamente más elevados en el grupo OW/OB, con una diferencia de casi 240 pg/mL comparado con el grupo NW. Este hallazgo es consistente con la literatura previa. En niños con obesidad, un estudio transversal de casi 4000 niños demostró que los niveles de LOX-1 soluble fueron más altos en los niños y adolescentes con obesidad frente a los normopeso. LOX-1 se relacionó positivamente con citoquinas proinflamatorias, IMC, percentil de circunferencia de cintura, adiposidad relativa y negativamente con HDL-c. Los niveles de LOX-1 se correlacionaron además con ALT elevada, resistencia a la insulina y dislipemia (249). En nuestra cohorte, las correlaciones identificadas en el grupo OW/OB fueron consistentes con el estudio de Stinson et al, destacando las asociaciones positivas con la antropometría, ALT, insulina y HOMA- IR. Estas correlaciones no se observaron en el grupo NW, lo que sugiere que estaban asociadas con la obesidad.

La activación de LOX-1 en las células endoteliales promueve la disfunción endotelial e induce señales proaterogénicas, lo que lleva a la formación de placas. La unión de LDLox a LOX-1 aumenta la generación de especies reactivas de oxígeno, lo que puede inducir la expresión de LOX-1 y oxidar las LDL, generando LDLox y regulando aún más la expresión de LOX-1 (250). El receptor LOX-1 se relaciona también con el metabolismo lipídico. La inhibición del gen OLR1 en ratones *knock out* conlleva la supresión generalizada de genes diana de NF-κB relacionados con la respuesta inmune y de enzimas clave en la lipogénesis de novo (251). Los niveles circulantes de LOX-1 se encuentran regulados al alza tanto en modelos de ratón con obesidad como en modelos con diabetes, sin identificar diferencias entre ellos (252). En la obesidad, la expresión de OLR1 aumenta en el TAB y el tratamiento *in vivo* con ligandos del receptor nuclear PPARγ potencia aún más esta expresión. Al estimular la captación de LDLox en los adipocitos, incrementa el contenido de colesterol en los adipocitos y mejora la captación de ácidos grasos, regulando así el metabolismo lipídico y mejorando la sensibilidad a la insulina en los adipocitos (253). La expresión de OLR1 se encuentra también regulada por miARNs en los enterocitos (254).

En base a lo expuesto anteriormente, el aumento de OLR1 en el grupo OW/OB podría reflejar varios procesos. Por un lado, el desarrollo de aterosclerosis, estrés oxidativo y acumulación de lipoproteínas oxidadas. Por otro, la sobre expresión de receptores en el TAB y de enzimas clave en la lipogénesis, regulando así el metabolismo lipídico. Por último, la activación de genes diana de NF-κB relacionados con la respuesta inmune y el estado proinflamatorio.

En nuestra cohorte, OLR1 presentó numerosas correlaciones significativas positivas con CCL2, IL6, OSM, IL1β, TLR1, IL18, CSF1, IKBKG, TGF-β1 y VEGFA. Entre ellas, destacaron las correlaciones con OSM, IKBKG e IL1β por presentar índices cercanos a 0,8. Globalmente, los hallazgos pueden contextualizarse en dos procesos. Por un lado, la activación de la señalización NF-κB en los adipocitos y macrófagos del TAB, regulada por IKBKG, contribuye a la producción de IL6 e IL1β, entre otras citoquinas. Por otro lado, la infiltración y activación de los macrófagos M1 en el TAB involucra a proteínas como CCL2, OSM, TLR1, IL18, CSF1, TGF-β1.

3.2.2 TGF-β1

TGF-β1 es una citoquina multifuncional que juega un papel crucial en la regulación del crecimiento y diferenciación celulares, la reparación de tejidos, la inmunidad y la fibrosis. En nuestra cohorte, los niveles circulantes de TGF-β1 fueron significativamente más altos en el grupo OW/OB, con una diferencia de 200 pg/mL en comparación con el grupo NW. En condiciones de obesidad, la evidencia coincide en que los niveles de TGF-β1 en el TAB de adultos y niños son elevados. Sin embargo, existen discrepancias sobre los niveles plasmáticos de TGF-β1 en los niños y adultos con obesidad. A pesar de esa controversia, estudios recientes sugieren que la expresión sostenida de TGF-β1 en la obesidad infantil está vinculada con etapas avanzadas de inflamación (255). Efectivamente, el aumento de TGF-β1 en la cohorte OW/OB refleja la predominancia de los macrófagos M1 en la composición del TAB en condiciones de obesidad, los principales efectores del estado proinflamatorio (256). La sobreexpresión de TGF-β conlleva alteraciones cualitativas del TAB como el envejecimiento de las células madre mesenquimatosas, el aumento en la producción de matriz extracelular y la disfunción mitocondrial (257). Además, TGF-β1 impide la adipogénesis beige al aumentar la fibrosis local e inhibir el reclutamiento de progenitores de TABe, mermando la capacidad del TAB de contrarrestar la obesidad. En efecto, la inactivación de TGF-β1 y otros miembros de la familia TGF-β, como FST y miostatina, y sus vías de señalización SMAD3 y Bmal1 (*Brain and Muscle ARNT-Like 1*) en modelos experimentales promueve el *browning* de los adipocitos blancos, aumenta la biogénesis mitocondrial y protege a los ratones de la obesidad inducida por la dieta (258–262).

En la cohorte OW/OB se identificó una correlación positiva entre TGF-β1 y ALT. Este hallazgo concuerda con la literatura previa, ya que se han descrito concentraciones más altas de TGF-β y ALT en adolescentes con obesidad y esteatosis hepática (263). En el hígado, TGF-β juega un rol fundamental en la progresión de MASLD en la obesidad, promoviendo la activación de las células estrelladas hepáticas y la producción de la matriz extracelular (264). La capacidad de fibrosis e inflamación crónica inducida por TGF-β en el hígado se ha relacionado con la actividad de la proteína HMGB1 (*High Mobility Group Box 1*) (255). En adolescentes con obesidad, los niveles plasmáticos de TGF-β se

asociaron con la aparición de esteatosis hepática de manera independiente, apoyando el rol de TGF-β como biomarcador diagnóstico. Concretamente, valores circulantes de TGF-β > 31,6 pg/mL mostraron una precisión total del 83%, con una sensibilidad del 75% y una especificidad del 88,9% para diagnosticar la esteatosis hepática (263). En este estudio no se dispone de ecografía para apoyar el diagnóstico de esteatosis hepática en el grupo OW/OB. Sin embargo, el aumento de ALT y los altos niveles de TGF-β1 apoyan la sospecha clínica de daño hepático secundario a la obesidad en la cohorte OW/OB.

En la cohorte OW/OB no se identificaron correlaciones entre TGF-β1 y glucosa, insulina, HOMA-IR o perfil lipídico. Este resultado coincide con otras publicaciones en las cuáles los niveles de TGF-β1 de niños con obesidad tampoco se asociaron a alteración lipídica ni resistencia a la insulina (255). Sin embargo, es un dato conocido que la vía de señalización TGF-β/Smad3 tiene un papel importante en la regulación de la homeostasis de la glucosa y la energía. Por ejemplo, los ratones deficientes en Smad3 están protegidos contra la obesidad y la diabetes inducidas por la dieta, gracias a un perfil bioenergético y de expresión génica de TABe favorables (265). Asimismo, el factor de transcripción FOXM1, sobreexpresado en el TABv de niños con obesidad, aumenta la señalización de TGF-β y la proliferación de las células β, sugiriendo un mecanismo compensatorio frente a la resistencia insulínica (266). Igualmente, se ha observado que el aumento de TGF-β1 en los adipocitos de niños con obesidad y resistencia insulínica podía contribuir a la nefropatía asociada a la obesidad (255). Además, el factor de transcripción JUND, un regulador clave del metabolismo lipídico y de la miocardiopatía inducida por obesidad a través de la activación de la señalización de TGF-β, está sobreexpresado en el TABv de niños con obesidad (266). En la cohorte OW/OB sí se detectaron anomalías de la homeostasis glucosa pero no se pudieron asociar con los niveles de TGF-β1. Por otro lado, se identificaron numerosas correlaciones positivas entre TGF-β1 y otras proteínas proinflamatorias como CCL2, TNF-α, TLR1, OLR1, IL18 y VEGFA. Estos hallazgos concuerdan con la evidencia actual. El análisis transcriptómico del TABv de niños con obesidad demostró la relevancia de la vía de señalización TGF-β era en la alteración inmunitaria observada en la obesidad

pediátrica (266). Por ejemplo, un estudio encontró un aumento en la expresión de TGF-β en monocitos no clásicos en niños obesos, sugiriendo un intento de modulación del sistema inmunitario para restaurar la homeostasis. En ese contexto de inflamación de bajo grado y monocitos alterados, TGF-β, en lugar de IL10, podría adquirir una función reguladora fundamental (255). Concretamente, en nuestra cohorte las correlaciones con CCL2, OLR1, TNF-α, IL18, TLR1 y VEGFA podrían estar relacionadas con la cascada inflamatoria y remodelado patológico del TAB y la aterosclerosis.

3.2.3 IL18

IL18 es una citocina proinflamatoria que juega un papel clave en la inflamación asociada a la obesidad, promoviendo la resistencia a la insulina y contribuyendo al desarrollo de comorbilidades metabólicas. En nuestra cohorte, se observó que los niveles de IL18 en el grupo OW/OB fueron significativamente más elevados que en el grupo NW, después de corregir por edad y sexo. La diferencia entre ambos grupos fue superior a 70 pg/mL. Este hallazgo amplía los resultados de estudios previos que han confirmado que los niños con obesidad producen niveles más altos de citocinas de la familia IL1, incluida IL18 (255). En niños con obesidad se ha demostrado una correlación positiva entre IL18 y el IMC tanto en estudios transversales como longitudinales (267–270). Los pacientes con IMC en rango de sobrepeso durante la infancia y adolescencia tardía presentaron mayores niveles de IL18 con respecto a los pacientes con IMC en rango normal o bajo. La elevación en los niveles de IL18 se mantuvo hasta la adultez temprana, convirtiendo a IL18 en un potencial marcador de sobrepeso a largo plazo (270). Modelos experimentales han puesto en evidencia la asociación entre IL18 y la obesidad. Los ratones deficientes en IL18 presentaron hiperfagia, ganancia ponderal, aumento del TA y reducción del gasto energético, sugiriendo que la señalización endógena de IL18 modula la ingesta de alimentos, el metabolismo y la adiposidad (271). Aunque la mayor parte de la evidencia actual señala que las células no adiposas del TAB humano, en particular los macrófagos, son las principales responsables de la liberación de IL18 (269), estudios recientes indican que tanto los preadipocitos como los adipocitos de TABv y TABs también tienen la capacidad de secretar IL18, y que sus niveles están elevados en

individuos con obesidad (272). Sin embargo, es posible que la secreción de IL18 dependa más del TABv que del TABs (273). En nuestra cohorte, IL18 no presentó correlaciones significativas con IMC, ds IMC, IMT o ds IMT en el grupo OW/OB pero sí se correlacionó positivamente con el percentil de cintura. Es interesante destacar que en el grupo NW, IL18 se correlacionó negativamente con IMC.

Por otra parte, IL18 se correlacionó positivamente con ALT en el grupo OW/OB pero no en el grupo NW. Efectivamente, estudios previos revelaron que los niveles de IL18 y ALT en niños con obesidad y MASLD estaban considerablemente elevados con respecto a los controles sanos y los niños con obesidad sin MASLD. Los niveles de IL18 en suero se correlacionaron con el daño de los hepatocitos, la inflamación sistémica y la esteatosis hepática, sugiriendo la implicación de IL18 en el inicio de la MASLD. Además, la medición de IL18 en suero mostró capacidad para diferenciar a los niños con y sin esteatosis, proponiendo un nivel sérico de IL18 superior a 326,8 pg/mL como límite óptimo para diagnosticar MALSD en niños con obesidad (269). La concentración media de IL18 en el grupo OW/OB de nuestra cohorte fue de 344 pg/mL, superando el punto de corte propuesto por Flisiak-Jackiewicz et al. En este estudio no se dispone de ecografía para apoyar el diagnóstico de esteatosis hepática en el grupo OW/OB. Sin embargo, el aumento de ALT y los altos niveles de IL18 apoyan la sospecha clínica de daño hepático secundario a la obesidad en la cohorte OW/OB.

En el presente estudio, IL18 se correlacionó positivamente con insulina, HOMA-IR y negativamente con HDL-c en el grupo OW/OB, pero no en el grupo NW. Este hallazgo sugiere una relación entre los niveles elevados de IL18 y el síndrome metabólico en los niños con obesidad. En adultos con obesidad, la relación entre los altos niveles de IL18 y el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 está ampliamente documentada (274). En población pediátrica, los niños y adolescentes normopeso con diabetes tipo 1 presentaron un incremento significativo de IL18 comparado con los controles sanos y sus niveles se correlacionaron con la HbA1c, sugiriendo una asociación entre la hiperglucemia y la regulación de IL18 (255). Aunque estudios previos han reportado que los niños con obesidad y síndrome metabólico presentan niveles más altos de IL18,

sólo se ha demostrado una asociación significativa con la insulinoresistencia en pacientes con obesidad y SAOS (255,267,268). Dado que la prevalencia de SAOS en población pediátrica con obesidad es mucho menor que la de síndrome metabólico, la correlación encontrada en esta cohorte de niños con obesidad y SAOS entre IL18 y la insulinoresistencia puede estar vinculada con etapas avanzadas del síndrome metabólico. Wang et al. postularon que IL18 altera la homeostasis glucosa y lipídica en niños con obesidad a través de la *Wnt1-inducible signaling pathway protein-1* (WISP1) (275). En nuestra cohorte, las correlaciones detectadas entre IL18, insulina y HOMA-IR fueron de intensidad moderada, reflejando la alteración de la homeostasis glucosa presente en el grupo OW/OB. Por otra parte, la correlación entre IL18 y la dislipemia sí ha sido documentada en niños con obesidad, síndrome metabólico y MASLD (269,270,276).

Es interesante destacar la correlación negativa identificada entre IL18 y SHBG en el grupo OW/OB. Esta observación respalda investigaciones previas en las que se ha relacionado el incremento de IL18 con la inflamación y la reducción en la defensa anti-apoptótica observadas en niñas con obesidad y síndrome de ovario poliquístico (255). Dado que la obesidad agrava la disminución de SHBG asociada al síndrome de ovario poliquístico, es plausible que IL18 actúe como un mediador en este proceso.

En el grupo OW/OB, IL18 presentó numerosas correlaciones positivas con otras proteínas como CCL2, OLR1, CSF1, TGF-β1, OSM, TLR1, IFNG y otras IL como IL6, IL15 e IL10. De todas ellas, las correlaciones más altas fueron con CSF1 y TGF-β1. Efectivamente, IL18 es una citocina proinflamatoria que desempeña un papel crucial en la cascada inflamatoria y en múltiples procesos relacionados con la lipotoxicidad. En primer lugar, IL18 es una potente inductora de IFNG a través de su interacción con células NK y linfocitos T CD4+ y CD8+ (269). Segundo, IL18 es un factor de riesgo independiente reconocido para enfermedades cardiovasculares y eventos isquémicos en la población adulta (277,278). En modelos animales, la administración de IL18 conduce a un aumento en el tamaño de las lesiones ateroscleróticas y promueve un mayor número de linfocitos T en la lesión. En adultos, IL18 está presente en las lesiones ateroscleróticas y sus concentraciones son más altas en las placas inestables

(277). En población pediátrica, altos niveles de IL18 se han correlacionado con marcadores inflamatorios y de daño endotelial como la PCR y la sE-selectina, respectivamente, apoyando su participación en la fisiopatología de aterosclerosis (268). En base a todo lo anterior, las correlaciones encontradas en el presente estudio entre IL18 y CCL2, OLR1 y TGF-β1 destacan el desarrollo temprano de la aterosclerosis en el grupo OW/OB de nuestra cohorte y el papel de la inflamación mediada por IL18. Tercero, CSF1 promueve la proliferación de los macrófagos en el TAB y su polarización al fenotipo M1, lo que conlleva la liberación de TNF-α, IL6 y TGF-β1 y el mantenimiento del estado proinflamatorio (279). Los receptores TLR1 median la liberación de citoquinas proinflamatorias por macrófagos y adipocitos (280). La OSM es secretada por macrófagos activados a través de una vía de PGE2 y actúa sobre los adipocitos para inducir la secreción de citocinas inflamatorias que perpetúan la infiltración y activación de más macrófagos en el TAB (281). Por lo tanto, las correlaciones identificadas entre IL18 y CSF1, OSM, TLR1, TGF-β1 e IL6 evidencian la cascada proinflamatoria presente en los niños con obesidad de este estudio. Asimismo, estudios previos han destacado el papel de IL18 e IL6 en la patogénesis de la diabetes tipo 2, vinculándolos con la hiperglucemia y el desarrollo de vasculopatía diabética (274).

3.3 Proteínas relacionadas con el circuito de hambre y saciedad

3.3.1 GHRL

La GHRL es uno de los péptidos orexígenos más potentes, se produce en el estómago y su acción está relacionada con la activación de neuronas NPY/AgRP y la supresión de neuronas POMC en el núcleo arcuato (282). En nuestra cohorte, los niveles plasmáticos de GHRL en el grupo OW/OB fueron significativamente más bajos que en el grupo NW, con una diferencia de 478 pg/mL. Otras investigaciones ya han evidenciado que los niveles basales de GHRL en niños con obesidad eran más bajos comparado con los de niños normopeso e inversamente proporcionales al IMC y la adiposidad relativa, independientemente de la raza, el sexo y el estadio puberal (282,283). Modelos experimentales han confirmado la asociación entre la GHRL y la obesidad. Efectivamente, los ratones que carecían de receptores de GHRL resistieron el

desarrollo de obesidad inducida por la dieta (284). Evidencias recientes sugieren que la obesidad inducida por la dieta provoca resistencia a la GHRL, suprimiendo el eje neuroendocrino de la GHRL en un intento por limitar la ingesta de alimentos. De este modo, los niveles reducidos de GHRL en la obesidad deberían proporcionar una protección contra la ingesta y la ganancia ponderal (284). Esta hipótesis podría justificar el descenso en los niveles de GHRL observado en el grupo OW/OB en el presente estudio. Por otro lado, la GHRL induce la expresión de proteínas involucradas en el almacenamiento de grasa y en la lipogénesis, favoreciendo el aumento del TA y del peso corporal (284). En nuestra cohorte, se identificaron en el grupo OW/OB numerosas correlaciones negativas con la antropometría, confirmando la asociación de la GHRL con la adiposidad descrita en la literatura.

La supresión basal de la GHRL altera también otros aspectos de su regulación, como la respuesta postprandial. En condiciones fisiológicas, los niveles de GHRL tienen una regulación bifásica: el aumento preprandial promueve el inicio de la ingesta y el descenso postprandial induce una reducción del apetito. La supresión de la GHRL activa es proporcional a la carga calórica ingerida y oscila entre un 25% - 60% 1-2 horas después de la ingesta (282). No obstante, un estudió reportó que los niños con obesidad mostraban una menor supresión postprandial, lo que conllevaba una menor sensación de saciedad. Este estudio demostró que la disregulación del apetito puede aparecer en etapas muy tempranas (285). La alteración en la supresión postprandial se relacionó significativamente con el IMC y no con el contenido macronutricional de la ingesta (286). En esta tesis doctoral no se midieron las diferencias pre y postprandiales de la GHRL pero se tendrá en cuenta para futuras investigaciones.

En nuestra cohorte, los niveles de GHRL se correlacionaron negativamente con los niveles de insulina y HOMA-IR. Dichas correlaciones no se identificaron en el grupo NW, lo que sugiere que estaban relacionadas con la obesidad. Esta observación concuerda con investigaciones previas. La GHRL disminuye la secreción de insulina estimulada por glucosa y antagoniza el efecto inhibidor de la insulina sobre la gluconeogénesis, lo que conlleva un incremento en los niveles de glucosa en sangre y una menor sensibilidad a la insulina (284). Los

niños con obesidad y niveles bajos de GHRL presentaron peores respuestas a la prueba de sobrecarga oral de glucosa, sugiriendo una alteración en el control de la glucosa en estos niños (287). Las alteraciones en los niveles basales y la respuesta postprandial de la GHRL fueron más marcadas en niños con obesidad e insulinoresistencia que en niños con obesidad sensibles a la insulina (288). Asimismo, se ha demostrado una relación inversa entre los niveles de GHRL y la adiposidad visceral, lo cual podría estar relacionado con la mayor capacidad de este depósito para inducir hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (284). La GHRL representa, por tanto, un nexo entre la sensibilidad a la insulina y el control del apetito, y, a su vez, la supresión atenuada de la GHRL constituye una manifestación de la resistencia a la insulina en la obesidad.

Como hallazgo novedoso, se identificó una correlación negativa entre GHRL e IL6, citoquina proinflamatoria, en el grupo OW/OB planteando una conexión entre la alteración entre el sistema regulador del apetito y la inflamación.

3.3.2 PYY

PYY es liberada por las células L del intestino delgado distal tras la ingesta y produce saciedad (282). En nuestra cohorte, los niveles basales de PYY fueron significativamente más altos en el grupo OW/OB, con una diferencia de 26 pg/mL. Existe disparidad de criterio sobre los niveles de PYY en ayunas en niños con obesidad. Otro estudio también reportó que los niveles basales de PYY fueron más altos en los niños con obesidad que en los niños con normopeso o anorexia (289). La disregulación del apetito en la obesidad no sólo afecta a la GHRL, ya que también se han descrito alteraciones en el efecto saciante de PYY y GLP-1. Sin embargo, la evidencia actual sugiere que es la respuesta atenuada de PYY tras la ingesta lo que podría contribuir a un incremento en la ingesta y la ganancia ponderal en los niños con obesidad (282,285). No disponemos de las mediciones pre y postprandiales de PYY en este estudio que respalden esta hipótesis. Sin embargo, los niveles de PYY se correlacionaron positivamente con GCG y GIP, confirmando su papel en el metabolismo energético y la homeostasis glucosa en el grupo OW/OB.

3.3.3 AGRP

El AGRP es un péptido orexígeno producido por las neuronas NPY/AgRP que antagoniza los efectos de la hormona saciante alfa-estimulante de melanocitos mediante la unión a los receptores MC4R del hipotálamo (290). En nuestra cohorte, los niveles de AGRP en el grupo OW/OB no fueron significativamente distintos a los del grupo NW, hallazgo consistente con la literatura previa (291). El papel de AGRP en la obesidad ha sido el objeto de muchas investigaciones. En situaciones de déficit energético, la activación de las neuronas AGRP induce conductas de búsqueda y consumo de alimentos en cuestión de minutos y de efecto duradero. Al contrario, señales de saciedad de acción prolongada como la leptina o la insulina actúan para disminuir AGRP. Además de los cambios en el comportamiento alimentario, datos recientes indican que el AGRP también actúa para suprimir el gasto energético, con un efecto significativo en la homeostasis energética. Su expresión en tejidos periféricos, en particular en la glándula adrenal, sugiere una implicación en el circuito de retroalimentación con la leptina (290). Sin embargo, su rol exacto en esta compleja red de retroalimentación y equilibrio energético requiere más investigación. En nuestra cohorte, se identificó una correlación positiva entre los niveles de AGRP y los de GCG, lo que iría a favor de su participación en la homeostasis glucosa.

Este tercer estudio presenta ciertas limitaciones que deben considerarse. Para contextualizar los hallazgos descritos en el grupo OW/OB sería interesante explorar en estudios futuros otras pruebas diagnósticas, como la actividad enzimática y la expresión génica de HSD11B1 en el TAB y el hígado, por ejemplo. Un test de sobrecarga oral de glucosa permitiría confirmar las asociaciones identificadas entre las proteínas, los niveles de insulina circulante y el HOMA-IR. De igual manera, una ecografía abdominal podría validar las relaciones entre las proteínas identificadas y MASLD. Por otro lado, incluir termografía infrarroja habría permitido comparar la actividad del TAM entre niños con obesidad y normopeso. Asimismo, una ecografía carotídea podría haber evaluado el grado de aterosclerosis y su correlación con las proteínas asociadas al riesgo cardiovascular. Medir los niveles circulantes de leptina y adiponectina habría complementado la información sobre las adipocinas, mientras que

registrar la presión arterial sistólica/diastólica habría facilitado la evaluación de la hipertensión arterial, el síndrome metabólico y el riesgo cardiovascular.

También habría sido relevante medir los niveles de GHRL y PYY tras la ingesta para valorar posibles diferencias en la supresión hormonal postprandial en el grupo OW/OB. No obstante, la utilidad de estas pruebas diagnósticas se evidenció tras los resultados obtenidos. Este estudio se diseñó para restringir los procedimientos en los niños a los estrictamente necesarios para alcanzar el objetivo principal, pero serán consideradas en futuros estudios.

Aunque la antropometría recogida en este estudio es más completa que en trabajos previos, todavía faltan mediciones de pliegues tricipitales y subescapulares, así como la incorporación de DXA, para evaluar cambios en la adiposidad corporal en relación con los resultados proteómicos. Además, se incluyeron pacientes prepuberales y postpuberales, lo que podría haber introducido sesgos en los resultados. Sin embargo, estos fueron controlados mediante análisis de covarianza (ANCOVA), lo que minimizó el impacto de la edad y el sexo en los datos. De cara al futuro, realizar estudios de transcriptómica y proteómica directamente en el TAB permitiría vincular los resultados proteómicos observados en plasma con la remodelación lipídica identificada en el objetivo 2. Finalmente, probar las hipótesis planteadas en modelos experimentales ayudaría a establecer relaciones causales de manera más sólida.

No obstante, las fortalezas metodológicas de este estudio han permitido obtener resultados de gran relevancia. Se trata de un estudio prospectivo de casos y controles que incluyó a 68 pacientes, duplicando el tamaño de la muestra con respecto al objetivo 2 y alcanzando un número comparable al de otros estudios publicados. Combinar el reclutamiento de pacientes con la práctica asistencial continuada supuso un esfuerzo sostenido durante 36 meses. El análisis proteómico se centró específicamente en moléculas relacionadas con el metabolismo y la inflamación en la obesidad. Las proteínas analizadas fueron seleccionadas por los investigadores a partir de las propuestas ofrecidas por la empresa Cobiomic. Esta metodología ha permitido confirmar hallazgos previamente descritos en la literatura, como FGF21, OLR1, IL18 y GHRL, reportar descubrimientos inéditos en población pediátrica, como GDF2, y

complementar estudios previos con nuevos hallazgos en proteínas como HSD11B1, TGF-β1, PYY y AGRP, que abren nuevas líneas de investigación. El análisis proteómico dirigido en suero ha permitido identificar proteínas intensamente moduladas en el grupo OW/OB, tanto a la baja (HSD11B1 8000 pg/mL y GHRL 478 pg/mL) como al alza (OLR1 238 pg/mL y TGF-β1 192 pg/mL), mientras que la analítica estándar sólo mostró cambios que, aunque significativos en comparación con el grupo NW, no superaron los rangos patológicos definidos por el laboratorio y, por lo tanto, podrían haber pasado desapercibidos en la práctica clínica. Este estudio propone, por tanto, proteínas relevantes que están altamente alteradas en niños con obesidad, las cuales podrían ser útiles para el diagnóstico de la obesidad y sus complicaciones en la población pediátrica en la práctica clínica.

En conclusión, la comparación de los niveles séricos de proteínas con un papel clave en el metabolismo y la inflamación entre los grupos con obesidad y normopeso ha resaltado las proteínas potencialmente más relevantes en la disfunción del TAB en esta cohorte, así como sus posibles interacciones. Para abordar nuevas perspectivas en esta línea de trabajo, se propuso determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas después de una intervención de control de peso en niños con obesidad.

4 Objetivo 4: Determinar los cambios en las concentraciones de estas 30 proteínas en el patrón proteómico circulante de niños con obesidad después de una intervención de control de peso

Después de 6 meses de seguimiento, durante los cuales 12 pacientes realizaron visitas de seguimiento mensuales y recibieron recomendaciones sobre la dieta, el ejercicio y estilo de vida, se pudieron observar cambios significativos en el perfil antropométrico y analítico.

Se observó un leve descenso, aunque significativo, de variables antropométricas como ds IMT, ICT y porcentaje de adiposidad. El descenso de ds IMC fue de 0,33 unidades y el de IMC 0,71 kg/m², aunque no fue significativo. Estos modestos resultados concuerdan con la literatura previa. Una revisión sistemática analizó 37 ensayos con 4019 niños y encontró que las intervenciones conductuales lograron una reducción promedio de 0,06 ds IMC en comparación con los grupos de control. Además, en 24 ensayos con 2785 niños, el IMC promedio fue 0,53 kg/m² menor en los grupos de intervención. El seguimiento de estos pacientes fue de 6 meses a 3 años (292). En base a estos resultados, se puede concluir que el programa de intervención conductual tuvo un pequeño impacto pero significativo en la composición corporal de la cohorte. Sin embargo, existe controversia sobre la efectividad de la terapia conductual como única intervención en la sostenibilidad de la pérdida de peso a largo plazo y la resolución de comorbilidades (94,95). El aumento significativo de altura después de 6 meses refleja el crecimiento esperado de los pacientes.

En el perfil analítico, se observaron tendencias hacia la normalización de los niveles de TSH, glucosa, insulina, HOMA-IR y HDL-c, aunque estas no fueron significativas. Variables alteradas al inicio del seguimiento como ALT y SHBG no presentaron cambios. Con respecto al perfil lipídico, se identificó un aumento significativo de LDL-c y casi significativo del colesterol total. Este resultado podría explicarse por varios factores. Por una parte, la pérdida de peso conllevaría un proceso de redistribución del TAB y liberación transitoria de ácidos grasos al torrente sanguíneo. Por otro lado, cambios en la dieta que favorezcan el consumo de grasas saludables podrían modular el perfil lipídico. Por último, el aumento en la síntesis hepática de colesterol podría ser una respuesta

adaptativa a la pérdida de peso y cambios en la dieta. En cualquier caso, la monitorización analítica estándar no reflejó ninguna mejora metabólica en nuestra cohorte tras 6 meses de intervención conductual.

De las 30 proteínas analizadas en la proteómica dirigida, 8 resultaron significativamente moduladas tras la intervención conductual. La discusión de los resultados obtenidos se estructura, siguiendo la línea argumental del objetivo 3, en tres apartados: metabolismo, inflamación y circuito de hambre y saciedad.

4.1 Proteínas relacionadas con el metabolismo

4.1.1 HSD11B1

Previo a la intervención conductual, los niveles plasmáticos de HSD11B1 estaban reducidos en el grupo OW/OB, posiblemente como un mecanismo de protección contra el impacto metabólico adverso a nivel sistémico. Al finalizar los 6 meses de seguimiento, los niveles circulantes de HSD11B1 alcanzaron niveles similares a los controles. No hay evidencia sobre los niveles circulantes ni la expresión ni la actividad de HSD11B1 en niños con obesidad tras la pérdida de peso. En adultos, la literatura se centra en la respuesta en la expresión del gen HSD11B1 en el TABs o TABv después de la pérdida de peso inducida por la dieta o la cirugía bariátrica. Los datos publicados en adultos con obesidad sometidos a dieta son contradictorios. Una dieta hipocalórica durante 10 semanas indujo un aumento de la actividad global de la HSD11B1 y en la expresión de HSD11B1 en adipocitos aislados (293). En hombres y mujeres tras 6-24 meses de dieta se observó una disminución de la expresión de HSD11B1 en el TABs, dicha reducción se correlacionó con la mejoría en el IMC (294,295). Otro estudio no mostró cambios en la expresión de HSD11B1 en el TAB tras la dieta (295). Un estudio describió que una dieta rica en grasas y baja en carbohidratos en hombres incrementó la actividad sistémica de HSD11B1 y redujo la actividad de 5α- y 5β-reductasa en el hígado sin afectar la expresión ni la actividad de HSD11B1 en el TABs (296). No obstante, los datos publicados sobre la respuesta de la expresión de HSD11B1 tras la cirugía bariátrica son más homogéneos. La pérdida de peso tras el bypass gástrico conllevó la disminución de la expresión génica de HSD11B1 en el TABs y el TABv, el incremento en la actividad hepática de HSD11B1 y la reducción en la excreción urinaria de

metabolitos totales de cortisol y cortisona (297–300). Globalmente, los hallazgos descritos sugieren una regulación a la baja de las actividades netas de HSD11B1 y 5α-reductasa. Por lo tanto, la literatura en adultos sugiere que la pérdida de peso corrige el aumento en el metabolismo del cortisol inducido por la obesidad, al reducir la expresión génica de HSD11B1 en el TAB. En niños con obesidad se ha confirmado una alteración en el metabolismo del cortisol aunque no está claro si se acompaña de una alteración en la expresión o actividad de HSD11B1 en el hígado o en el TAB. Dada la evidencia disponible, se postuló que los niveles plasmáticos de HSD11B1 estaban reducidos en el grupo OW/OB como mecanismo de protección frente al hipercortisolismo sistémico. Al cabo de los 6 meses de intervención conductual, los niveles de HSD11B1 se normalizaron, señalando que ese mecanismo de protección se ha revertido. Los patrones de expresión y actividad de HSD11B1 en el TABv y TABs de niños con obesidad y tras la pérdida de peso requieren mayor investigación.

4.1.2 GDF2

Antes de la intervención conductual, los niveles de la proteína GDF2/BMP9, con efectos similares a los de la leptina, fueron significativamente más bajos en el grupo OW/OB. En base a la evidencia extraída de modelos experimentales, se postuló que esta disminución de GDF2 podría estar relacionada con una menor protección contra la resistencia insulínica y la esteatosis hepática, una reducción en la capacidad de activación termogénica del TAM y de *browning* del TABs, así como con un desequilibrio energético. En nuestro estudio, al finalizar la intervención conductual, se corrigieron 30 de los 57 pg/mL de diferencia con respecto al grupo NW, y esta corrección resultó significativa. No existe literatura sobre la evolución de los niveles de GDF2 antes y después de un programa conductual en humanos. En modelos experimentales, la administración hipotalámica de BMP9 mejoró la resistencia a la insulina y redujo la neoglucogénesis en ratones con dieta rica en grasas (232). Del mismo modo, la administración de MB109, un derivado recombinante del BMP9 humano, en ratones obesos logró una disminución del peso corporal y de la resistencia a la insulina así como la mejora del perfil lipídico y de la esteatosis hepática, a través de la estimulación de la expresión de FGF21 (301). Estos efectos fueron

dependientes de la dosis administrada. En nuestra cohorte, los cambios en los niveles de GDF2 se correlacionaron positivamente con los cambios en TNF-α, CSF1, IL4, CD36 y GHRL. La respuesta de GDF2 tras la pérdida de peso se acompañó de cambios en la lipotoxicidad del TAB y el apetito. Aunque no se haya publicado evidencia directa en humanos, el aumento observado en los niveles de GDF2 al finalizar la intervención conductual en la cohorte con obesidad puede reflejar una mejoría en la regulación metabólica.

4.2 Proteínas relacionadas con la inflamación

Después de 6 meses de intervención conductual, los niveles circulantes de TGF-β1, VEGFA e IL15 continuaron en aumento, destacando TGF-β1 por un incremento de 398 pg/mL en comparación con el valor inicial. La evidencia sobre cómo evolucionan los niveles circulantes de estas citoquinas proinflamatorias en niños y adultos con obesidad que logran perder peso es muy escasa. Sin embargo, la evidencia disponible no coincide con los resultados obtenidos en esta cohorte. Un estudio demostró que la inhibición de la expresión de TGF-β1 y sus genes relacionados en el TAB de adultos con obesidad contribuía a prevenir la reganancia ponderal (302). En modelos experimentales, tanto el ejercicio agudo como crónico redujeron la expresión de TGF-β1 en el hipotálamo lo que atenuó la inflamación hipotalámica y mejoró el metabolismo energético, protegiendo a los ratones del desarrollo de obesidad (303–305).

Por otra parte, CCL2, LAMP3 y TNF-α, que inicialmente estaban disminuidos, experimentaron un aumento tras la intervención conductual. Concretamente, CCL2 aumentó 120 pg/mL y fue significativo. CCL2, también denominada MCP-1, es una proteína inmunomoduladora que favorece la migración de células inmunitarias hacia el TA. La mayoría de la literatura indica que sus niveles están elevados en niños con obesidad, en contraste con nuestros resultados, y que participan en el proceso inflamatorio asociado a la obesidad (306–314). Los niveles basales de CCL2 observados en la cohorte OW/OB podrían ser el resultado de una regulación a la baja. Efectivamente, estudios previos han demostrado que existen numerosos puntos de regulación de la expresión y acción de CCL2 que permitirían reducir sus niveles o actividad y, con ello, evitar sus efectos proinflamatorios. Por ejemplo, la eliminación farmacológica del

receptor CCR2 en modelos experimentales demostró reducir la acumulación de grasa, el estrés oxidativo y el estrés en el retículo endoplásmico (306). Asimismo, la inhibición de la expresión génica de CCL2 en la corteza prefrontal de ratones con obesidad redujo el estado pro-inflamatorio (315). En ratones con deficiencia de CCL2 se observó un aumento del gasto energético mediante la activación del *browning* del TAB y de la actividad del TAM (316). Finalmente, una revisión sistemática identificó 65 miARNs del TAB relacionados con la producción de CCL2 en niños con obesidad (317). Como cabría esperar, la evidencia referente a la evolución de los niveles circulantes de CCL2 tras una intervención conductual no coincide con los resultados observados en esta cohorte. Varios estudios describieron un descenso de los niveles circulantes de CCL2 tras la pérdida de peso en niños con obesidad sometidos a intervención conductual (308,318). Asimismo, el tratamiento de células mononucleares de sangre periférica de niños con obesidad con agentes antiinflamatorios indujo una reducción de las quimiocinas CCL2 y CCL4 (319). En adultos, se ha reportado que entre 2 y 12 semanas de entrenamiento físico reducen los niveles circulantes de CCL2 y el porcentaje de monocitos positivos para CCR2, lo cual está relacionado con una mejora en el síndrome metabólico y el daño tubular renal (306,320). En modelo experimental, el ejercicio aeróbico también disminuyó la expresión del gen CCL2 en el músculo esquelético (321). Sólo un estudio en el que 74 niños con obesidad fueron aleatorizados para participar en una intervención conductual de 6 meses, evidenció un aumento significativo de los niveles circulantes de CCL2 en el grupo de intervención, asociado a mejoras en el porcentaje de grasa abdominal, la presión arterial diastólica y la función endotelial (307).

A partir de la literatura disponible, es difícil razonar el aumento de TGF-β1, VEGFA, IL15, CCL2, LAMP3 y TNF-α tras la intervención conductual en niños con obesidad. Dado que CCL2, LAMP3 y TNF-α cambiaron de tendencia y aumentaron después de la intervención conductual, una hipótesis es que el incremento de estas proteínas proinflamatorias podría estar relacionado con el remodelado del TAB. La inflamación aguda en los adipocitos parece ser crucial para el buen funcionamiento y la adaptación del TAB a la hipertrofia, así como para el control metabólico (322). La supresión de la inflamación mediada por

TLR4, TNF-α e IL1β en adipocitos de ratones sometidos a una dieta alta en grasas demostró que, a pesar de ganar menos peso, estos ratones presentaron una mayor resistencia a la insulina y otros problemas metabólicos. Así, se puede concluir que un cierto grado de estrés metabólico es necesario para una adaptación hacia un metabolismo saludable, y las complicaciones metabólicas surgen cuando este estímulo inflamatorio se mantiene de manera crónica. Por otra parte, dado que TGF-β1, VEGFA e IL15 estaban elevadas al inicio y permanecieron elevadas al final de la intervención, otra hipótesis es que la pérdida de adiposidad tras la intervención conductual no fuera suficiente para revertir la lipotoxicidad, y que los niveles elevados observados fueran un reflejo de esta condición. Estas hipótesis requieren una exploración más profunda en futuros estudios.

4.3 Proteínas relacionadas el circuito de hambre y saciedad

4.3.1 GHRL

Comprender las respuestas de los péptidos del apetito a las intervenciones en el estilo de vida es clave para entender su regulación así como los cambios en el apetito y la ingesta observados en los pacientes sometidos a intervención conductual. Antes de la intervención, los niveles circulantes de la proteína orexígena GHRL en el grupo OW/OB estaban disminuidos como mecanismo compensatorio a la hiperfagia y la ganancia ponderal. Además, los niveles de GHRL eran inversamente proporcionales a la antropometría y la resistencia insulínica, estableciendo un nexo entre la adiposidad, el control del apetito y la sensibilidad a la insulina. Tras 6 meses de terapia conductual, se observó un aumento casi significativo (p= 0,06) de la GHRL, corrigiendo 175 pg/mL de los 478 pg/mL de diferencia con el grupo NW. El aumento de la GHRL coincidió con una reducción de IMT y ds IMT con un índice cercano a 0,7. El aumento en los niveles de GHRL con la pérdida de peso inducida por el ejercicio con o sin dieta ha sido ampliamente documentado, así como su correlación con la reducción de la adiposidad y del IMC (282,323–325). Asimismo, el incremento en los niveles de GHRL se asoció con una disminución en la resistencia a la insulina (324,325). Un estudio postuló que el incremento de la GHRL tras la pérdida de peso podría reflejar el cambio de la oxidación de grasas hacia la oxidación de carbohidratos (326). En nuestra cohorte, la GHRL se corrigió un 36% con respecto a los niveles del grupo NW. Otro estudio demostró que, incluso después de una reducción del 50% de ds IMC, la GHRL no alcanzó los niveles de control mientras que los niveles de GHRL de adolescentes con anorexia se normalizaron con la recuperación del 25% de ds IMC (327). Estos hallazgos sugieren que la alteración en la regulación de la GHRL en la obesidad podría no ser completamente reversible. Por otra parte, algunos estudios han reportado la ausencia de cambios en la GHRL tras una intervención conductual. En uno de ellos, la intervención dietética consistió en una dieta rica en carbohidratos, sugiriendo que la composición de la dieta podría ser un factor moderador en la respuesta de la GHRL (282). En otros la pérdida de peso no fue significativa, planteando la necesidad de un balance energético negativo para observar

cambios en la GHRL (328). En los estudios con seguimiento posterior a la finalización de la intervención conductual, la recuperación de peso se acompañó de un descenso de la GHRL hacia los niveles iniciales (324). Otros estudios que abordaron modificaciones en otros aspectos del estilo de vida, como la duración del sueño no reportaron cambios en los niveles de GHRL en niños con y sin obesidad (329). Dado que la GHRL es orexígena, su aumento con la pérdida de peso podría estimular el apetito y dificultar el mantenimiento de la pérdida ponderal. No obstante, Kim et al. demostraron que el aumento observado de la GHRL se debió a un incremento de GHRL desacilada (inactiva) mientras que los niveles de GHRL acilada (activa) permanecieron sin cambios (282). Los mecanismos que vinculan el aumento de GHRL con la pérdida ponderal no están completamente establecidos. El hipotálamo podría percibir los cambios en el balance energético y modular las concentraciones de GHRL en respuesta a los cambios en la disponibilidad energética (282).

Según la evidencia disponible, el aumento de GHRL observado en nuestra cohorte podría interpretarse como un intento de restaurar el circuito regulador de hambre y saciedad, contribuyendo a la mejora de la resistencia a la insulina tras la intervención conductual.

4.3.2 AGRP

Previo a la intervención conductual, los niveles del péptido orexígeno AGRP en el grupo OW/OB fueron similares a los del grupo NW, sugiriendo que AGRP no desempeñaba un papel en la disregulación de la ingesta y del balance energético en el grupo OW/OB. Tras la terapia conductual, AGRP aumentó significativamente en las chicas de la cohorte, con una variación de 15 pg/mL. Es interesante destacar que la mejoría antropométrica tras la terapia conductual fue más acusada en este subgrupo. Los hallazgos de este estudio no se alinean con la evidencia previa disponible en la literatura. En primer lugar, varios estudios asociaron una pérdida de peso efectiva con la reducción de los niveles de AGRP, considerándolo un indicador de respuesta positiva al tratamiento (330,331). Otro estudio reportó una evolución bifásica, con un ascenso de los niveles a los 6 meses y un descenso al finalizar el tratamiento, relacionando dicha evolución con el tipo de ejercicio realizado, aeróbico y de resistencia (332). Un tercer

estudio demostró un aumento de AGRP en los pacientes que perdieron menos del 10% de su peso corporal, sugiriendo que el aumento en AGRP podría haber dificultado el control de la ingesta calórica y la pérdida de peso en este subgrupo (333). Por lo tanto, con la información disponible en este estudio, no es posible explicar los hallazgos obtenidos. Asimismo, la variabilidad de la respuesta de AGRP puede estar relacionada con múltiples factores como la hiperleptinemia (333,334), la hipoadiponectinemia (335) o polimorfismos del gen del receptor de leptina. Por ejemplo, un estudio mostró que los portadores del alelo C presentaron niveles más altos de AGRP al inicio, perdieron menos peso y experimentaron un aumento en los niveles de AGRP al finalizar la terapia conductual (336). Sin embargo, no se han reportado diferencias en la respuesta de AGRP a la pérdida de peso según el sexo.

Este cuarto estudio presenta también algunas limitaciones. El tamaño de la muestra fue relativamente pequeño. De los 20 pacientes iniciales, 8 no completaron el seguimiento clínico y analítico, incluyendo un abandono antes de iniciar la intervención. Factores como la frecuencia mensual de las visitas y el contexto socioeconómico y psicológico de los pacientes pueden dificultar la finalización del tratamiento. Aunque el protocolo de cambios en el estilo de vida se definió previamente y se consensuó entre los investigadores, la intervención se centró en dar recomendaciones y retroalimentación positiva durante el tiempo limitado de consulta. Una intervención más intensiva, que incluyera talleres grupales sobre ejercicio físico o talleres familiares sobre alimentación saludable, podría haber sido más efectiva. Sin embargo, este tipo de intervención requiere infraestructura, personal y recursos materiales por parte del hospital, así como disponibilidad y compromiso de las familias. No obstante, la mejora observada en los valores antropométricos fue equiparable a la reportada en estudios de duración similar. El uso de autorregistros de ingesta para monitorizar los cambios dietéticos, en términos de ingesta calórica diaria y contenido macronutricional, debería considerarse en futuros estudios. Como se discutió previamente, algunos resultados observados en nuestra cohorte, como los niveles de GHRL y HSD11B1, podrían estar influenciados por el tipo de ingesta. No obstante, se emplearon los cuestionarios KIDMED y PAU-7S como métodos objetivos para evaluar la ingesta y la actividad física. Tal como se abordó en el objetivo 3, la

inclusión de pruebas complementarias como el test de sobrecarga oral de glucosa, la ecografía abdominal y la ecografía de carótidas podría ser especialmente útil para correlacionar los cambios proteómicos observados con la evolución de las comorbilidades durante la intervención conductual. Además, no se contó con un grupo control para aislar los efectos específicos de la intervención conductual, lo que sería esencial incluir en futuros estudios.

No obstante, este estudio prospectivo ha permitido analizar la respuesta de las proteínas seleccionadas a una intervención en el estilo de vida, aportando una nueva perspectiva a los resultados observados en el grupo OW/OB en el objetivo 3. Observar los cambios en la regulación de estas proteínas con la pérdida de peso no sólo permite evaluar el efecto de la intervención, sino también comprender cómo se regulaban a nivel basal. Después de 6 meses, la intervención conductual contrarrestó completamente las alteraciones observadas en HSD11B1 y TGF-β1, y parcialmente las de GDF2 y GHRL (aunque esta última no fue significativa), además de provocar cambios atípicos en proteínas como CCL2 o AGRP (esta última sólo en las chicas). Es importante señalar que algunas proteínas alteradas a nivel basal y de gran relevancia en la fisiopatología de la obesidad, como FGF21, OLR1, IL18 y PYY, no mostraron cambios significativos tras la intervención conductual. Aunque la intervención tuvo una duración corta y no se dispuso de seguimiento posterior, estos datos sugieren que la intervención en el estilo de vida, como única herramienta terapéutica, tiene resultados modestos para revertir las alteraciones metabólicas e inmunológicas asociadas a la obesidad. Esto resalta la necesidad de combinar esta intervención con tratamientos farmacológicos o quirúrgicos en pacientes seleccionados.

En conclusión, la evaluación de los cambios en las concentraciones de las 30 proteínas seleccionadas tras una intervención de control de peso en niños con obesidad ha permitido identificar la reversión total o parcial de algunas proteínas inicialmente alteradas, así como respuestas atípicas que requieren de más estudios.

Para ofrecer una perspectiva traslacional a este trabajo de investigación, se propuso analizar las correlaciones entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad detectadas en este estudio y el estilo de vida.

5 *Objetivo 5: Estudiar la relación entre las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad y el estilo de vida (nivel socioeconómico, ejercicio, dieta) en nuestra cohorte de pacientes pediátricos*

Para abordar este objetivo, se analizaron inicialmente las diferencias en el estilo de vida entre los grupos NW y OW/OB, así como las correlaciones entre las proteínas alteradas y los distintos aspectos del estilo de vida. Posteriormente, se evaluaron los cambios en el estilo de vida de los niños con obesidad tras la intervención conductual, y se estudiaron las correlaciones entre las alteraciones metabólicas y los diversos ítems del estilo de vida en esta segunda cohorte.

5.1 Estilo de vida y correlaciones con alteraciones metabólicas en la cohorte NW y OW/OB

En la primera cohorte, 66 pacientes (31 del grupo OW/OB) completaron encuestas sobre aspectos como la dieta, la actividad física y el sueño durante una visita ambulatoria.

De todos los ítems registrados destacó el uso de pantallas tecnológicas. Efectivamente, el tiempo medio de uso diario de pantallas entre semana fue significativamente mayor en el grupo OW/OB, superando al grupo NW por 90 minutos. Además, el 84% del grupo OW/OB excedió la recomendación diaria de uso de pantallas de 120 minutos. Estos hallazgos resaltaron la potencial relación entre el uso excesivo de pantallas y el sedentarismo, alineándose con la literatura existente. El uso excesivo de pantallas se ha convertido en un problema de salud pública por sus efectos negativos en el desarrollo cognitivo, lingüístico y socioemocional de los niños, y su asociación con obesidad, trastornos del sueño, depresión y ansiedad (337). Organizaciones como la *American Heart Association* y el *European Childhood Obesity Group* han recomendado reducir el tiempo frente a pantallas, fomentar un modelo de crianza saludable y promover actividades al aire libre para contrarrestar estos efectos (338,339). Investigaciones previas han reportado una asociación entre el comportamiento sedentario, el tiempo frente a pantallas, la adiposidad y los riesgos cardiometabólicos, independientemente del nivel de actividad física de los niños (338,340). El problema central del uso excesivo de pantallas no radica

únicamente en la cantidad de tiempo frente a ellas, sino en las conductas asociadas que este hábito fomenta. Por ejemplo, una revisión sistemática relacionó el tiempo frente a pantallas con una mayor ingesta comparado con comportamientos no relacionados con pantallas, incluso en ausencia de publicidad de alimentos. La distracción, la asociación de conductas (pantalla-ingesta), la interrupción de la formación de la memoria y los efectos del sistema de recompensa fueron los mecanismos propuestos para explicar dicha asociación (341). Asimismo, el análisis de 11.674 niños europeos demostró que los grupos caracterizados por un elevado comportamiento sedentario asociaban un consumo insuficiente de frutas y verduras, un consumo excesivo de bebidas azucaradas y bajo nivel de actividad física (342). No obstante, la asociación entre el uso excesivo de pantallas y el sedentarismo no se pudo corroborar en nuestra cohorte. Aunque el tiempo dedicado al ejercicio físico fue 15 minutos menor al día en el grupo OW/OB, la diferencia no resultó significativa. Asimismo, el uso excesivo de pantallas entre semana no asoció un mayor consumo de dulces según el índice KIDMED. Sin embargo, el análisis multivariante reveló una asociación negativa significativa entre el tiempo de uso de pantallas y las horas de sueño entre semana, lo que concuerda con estudios previos (343). Entre todos los tipos de pantallas, el uso del móvil destacó por mostrar una correlación negativa significativa con el tiempo de sueño, con un índice de -0,5. Asimismo, el análisis multivariante mostró una asociación significativa entre el tiempo de uso de pantallas, tanto entre semana como durante los fines de semana, y la alteración del apetito (disminución de GHRL) así como con la insulinoresistencia (aumento de insulina y HOMA-IR). Si bien la asociación entre el uso de pantallas y la insulinoresistencia en niños ya es un hallazgo bien documentado (343), la relación con la hipogrelinemia resulta más novedosa, dado que la evidencia publicada hasta ahora es muy limitada. Por otra parte, el uso de pantallas durante el fin de semana fue muy similar y elevado en ambos grupos. La proporción de niños que cumplió con la recomendación diaria de uso de pantallas durante el fin de semana fue baja en ambos grupos, situándose alrededor del 10%. Estos datos reflejaron que el uso excesivo de pantallas es generalizado en la población analizada.

Como se mencionó anteriormente, el tiempo diario dedicado a la actividad física

moderada a intensa en el grupo OW/OB fue 15 minutos menor pero no fue significativo. La actividad física, cuando se cuantifica mediante medidas indirectas como un cuestionario, corre el riesgo de sobrestimar el tiempo realmente dedicado a la práctica deportiva (344). Esta sobreestimación podría haber desdibujado la diferencia real en la práctica deportiva. El uso de medidas directas, como el acelerómetro, para disminuir este sesgo se tendrá en cuenta para futuras investigaciones. Igualmente, no se trata de la actividad física en términos absolutos sino del estilo de vida que la acompaña. Por ejemplo, un estudio demostró que los niños que no participaban en deportes extracurriculares dedicaron más tiempo al uso de pantallas y presentaron patrones dietéticos menos saludables (345). En la cohorte NW y OW/OB, el análisis multivariante identificó una asociación significativa entre la actividad física y la mejora en la alteración del apetito (GHRL), la inflamación (TGF-β1) y la insulinoresistencia (insulina y HOMA-IR).

El grupo OW/OB presentó una tendencia a dormir menos durante el fin de semana comparado con el grupo NW pero no afectó a las tasas de cumplimiento de la recomendación de sueño por edad. La asociación entre la falta de sueño y la obesidad ha sido ampliamente estudiada. Un meta-análisis que incluyó 56.584 niños demostró que los niños con menor duración de sueño tuvieron un 76% más de probabilidades de padecer obesidad y un mayor aumento anual del IMC (346). Otros estudios han evidenciado una relación entre la falta de sueño y hábitos dietéticos poco saludables, como un mayor consumo de alimentos de alta densidad energética y bebidas azucaradas (347). También se ha asociado con insulinoresistencia y un mayor riesgo cardiovascular (343,348). Sin embargo, no se ha encontrado una asociación clara entre la duración del sueño y los marcadores inflamatorios, GHRL o leptina (349). En nuestra cohorte, las horas de sueño en los fines de semana mostraron una correlación positiva significativa con HSD11B1, lo que sugiere que un aumento en el tiempo de sueño podría contribuir a revertir la reducción de los niveles de HSD11B1 observada en el grupo OW/OB. No obstante, no se detectaron diferencias ni correlaciones significativas en el tiempo de sueño entre semana.

Por otro lado, se observaron diferencias significativas en el contexto socioeconómico familiar del grupo OW/OB. La proporción de progenitores con

estudios básicos o sin formación académica fue notablemente mayor en este grupo, superando el 50%. Además, el 75% de las familias en el grupo OW/OB reportó una renta anual baja, lo cual también resultó significativo. La distribución geográfica por comarcas también mostró diferencias significativas entre los grupos. Aunque podría ser tentador establecer una relación directa entre el nivel educativo, los ingresos familiares y la zona de residencia, es importante considerar otros factores externos, como la influencia del área sanitaria asociada a nuestro centro. Una revisión sistemática concluyó que el bajo nivel socioeconómico se asoció con una exposición excesiva a la televisión. Efectivamente, en familias con menor posición socioeconómica fue más frecuente que los niños tuvieran un televisor en su cuarto y que los padres presentaran un mayor consumo televisivo, reflejando hábitos menos estructurados y opciones limitadas de ocio alternativo (350). La adversidad socioeconómica puede actuar como un catalizador de estrés y disfunción familiar, desencadenando inseguridades y trastornos emocionales en los niños que desempeñan un papel crucial en el desarrollo de conductas alimentarias poco saludables (351). De hecho, un estudio confirmó la relación entre entornos familiares adversos y la alteración de hormonas implicadas en la regulación del apetito. El análisis de casi 600 niños concluyó que los adolescentes con mayor estrés familiar y tasa de depresión materna presentaron niveles más bajos de adiponectina y GHRL y mayor adiposidad central que aquellos con menor estrés familiar o niveles más bajos de depresión materna (352).

En relación con los hábitos dietéticos, ambos grupos presentaron una adherencia intermedia a la dieta mediterránea y resultados similares en cuanto al consumo de dulces, comida rápida o bollería, lo que contrasta con la literatura previa. Estos resultados podrían deberse a que la versión del cuestionario KIDMED utilizada en esta tesis no logró reflejar con precisión la presencia de conductas alimentarias no saludables. La dieta mediterránea ha demostrado contribuir al control del peso, mejorar el perfil lipídico, la sensibilidad a la insulina y la función endotelial, reduciendo así el riesgo de síndrome metabólico en niños y adolescentes con obesidad (353). No obstante, la adherencia a la dieta mediterránea en niños sigue siendo baja y está siendo reemplazada por diferentes modelos nutricionales generados por cambios culturales y sociales (354).

La relación causal entre la dieta y la obesidad se encuentra en el consumo excesivo de bebidas azucaradas y alimentos ultraprocesados, los cuales han demostrado contribuir al aumento del IMC y al desarrollo de adiposidad (355). Los alimentos ultraprocesados están diseñados para ser altamente agradables al paladar, atractivos y densos en energía, con una combinación única de ingredientes potenciadores del sabor para generar un estímulo de recompensa fuerte e influir en los circuitos relacionados con la ingesta excesiva. Una dieta poco saludable no sólo está relacionada con elecciones alimentarias inadecuadas, sino que también se ve reforzada por otros factores que perpetúan la obesidad. Una revisión sistemática reportó que el consumo excesivo de bebidas azucaradas se asoció con el tiempo frente a pantallas, el consumo de snacks no saludables, el estatus socioeconómico familiar bajo, el consumo parental de bebidas azucaradas y el uso de comida como recompensa (356). No obstante, en nuestra cohorte no se detectaron diferencias ni correlaciones significativas entre la dieta y otras variables.

5.2 Estilo de vida y correlaciones con alteraciones metabólicas en niños con obesidad tras una intervención conductual

En la segunda cohorte, 12 pacientes con obesidad completaron las mismas encuestas antes y después de 6 meses de intervención conductual. Estos resultados permitieron evaluar objetivamente el impacto de la intervención en áreas específicas del estilo de vida.

Se observaron mejoras en el tiempo medio diario de uso de pantallas tanto entre semana como durante el fin de semana, así como en el tiempo dedicado a la actividad física; sin embargo, estas diferencias no alcanzaron significancia estadística. Una intervención conductual de mayor duración e intensidad podría lograr resultados más destacados. Aunque las intervenciones enfocadas a reducir el tiempo frente a la pantalla pueden ser efectivas, un metaanálisis que incluyó 1.894 niños demostró que, como intervención aislada, no tuvo impacto en el IMC ni en el riesgo de obesidad (357). No obstante, en nuestra cohorte, el uso excesivo de pantallas los fines de semana presentó una relación lineal con la insulinoresistencia y el riesgo cardiovascular tanto al inicio como al final de la intervención, lo que señala la importancia de incidir en esta conducta en los niños

con obesidad. Con el objetivo de combinar la intervención en el uso de pantallas con la actividad física, algunos grupos proponen fomentar el uso "adecuado" de las pantallas mediante los *exergames* o juegos virtuales activos. Efectivamente, los *exergames* pueden aumentar el gasto energético, el consumo máximo de oxígeno, la frecuencia cardíaca, el porcentaje de actividad física realizada y reducir la circunferencia de la cintura (358). Sin embargo, no está claro todavía que aumenten la actividad física habitual o disminuyan el comportamiento sedentario (359). Esta herramienta podría ser una estrategia más atractiva para fomentar la actividad física en pacientes seleccionados.

Aunque el incremento en la actividad física no fuera significativo en valores absolutos, los análisis demostraron asociaciones muy interesantes sobre esta intervención. Por una parte, el análisis multivariante mostró una correlación significativa entre la práctica deportiva y la mejora en la inflamación, específicamente en los niveles de TGF-β1 y OLR1, así como en la insulinoresistencia. La regresión lineal confirmó la relación inversa entre la actividad física y los niveles de TGF-β1 antes de la intervención así como la relación inversa con los niveles de glucosa y LDL-c al finalizar la intervención. A su vez, el índice KIDMED mostró una relación lineal inversa con los niveles de TGF-β1, lo que subraya la importancia de promover una dieta mediterránea.

Por otro lado, la proporción de niños que cumplían con la recomendación diaria de sueño los fines de semana empeoró, aunque no fue significativo. De nuevo, el uso del móvil destacó por mostrar una correlación negativa significativa con el tiempo de sueño entre semana y casi significativa los fines de semana. Mejorar la duración del sueño en los niños ha demostrado un impacto positivo en la obesidad. El análisis de 56.584 niños demostró que con cada incremento de 1 hora/día en la duración del sueño, el riesgo de obesidad se redujo en un 21% y el aumento anual del IMC disminuyó en 0,05 kg/m^2 (346). En nuestra cohorte, la duración del sueño se correlacionó con los niveles de HSD11B1, señalando un posible efecto en el metabolismo del cortisol. Lograr una mejora en la duración del sueño y en los factores asociados, como el uso del móvil, será un objetivo clave para futuros estudios.

Aunque los cambios en el estilo de vida no se pudieron objetivar en los cuestionarios, se evidenciaron pequeños cambios en la composición corporal de

los pacientes, con la reducción en ds IMT, ICT y el porcentaje de adiposidad relativa. Asimismo, cumplir con las recomendaciones de estilo de vida mostró un impacto significativo en los cambios observados de algunas proteínas tras la intervención conductual. El incremento observado en los niveles de LDL-c, CCL2 y GDF2 tras la intervención conductual en la cohorte completa fue más pronunciado en los pacientes que cumplieron con la recomendación de uso de pantallas durante el fin de semana. Se observó el mismo fenómeno con el incremento de LAMP3 y la recomendación de actividad física. Estos hallazgos resaltan el impacto de las modificaciones en el estilo de vida sobre las alteraciones metabólicas en niños con obesidad, generando cambios en las proteínas alteradas incluso antes de que se manifiesten de manera evidente en la antropometría y la analítica.

La eficacia de los programas de intervención en niños con obesidad ha sido ampliamente revisada en la literatura. El éxito de este tipo de intervenciones depende de la colaboración entre múltiples actores, como el personal sanitario, las familias y las escuelas, y cuya interacción resulta esencial para lograr resultados. La participación de las familias en estos cambios es fundamental ya que cambios en los estilos de crianza se han asociado a mejoras en la autorregulación alimentaria infantil, en la actividad física y el tiempo frente a pantallas (360–362). La familia constituye un factor externo que en este estudio no fue posible controlar. Asimismo, se ha demostrado que las intervenciones basadas en modificar un solo comportamiento no muestran efectos consistentes sobre el cambio en el IMC de los niños (363,364). Esto es comprensible, ya que la dieta, el sueño, la actividad física, el uso de pantallas y el sedentarismo son factores estrechamente interconectados. En este sentido, el programa conductual propuesto en esta tesis abordó de manera integral todas las áreas vinculadas al desarrollo de la obesidad y adoptó un enfoque multidisciplinario.

En este quinto estudio se reconocen diversas limitaciones. Por un lado, no se logró evidenciar una conducta alimentaria poco saludable en el grupo OW/OB, lo que podría deberse al cuestionario empleado. Aunque la versión utilizada del cuestionario KIDMED incluye el consumo de dulces, no contempla ítems específicos sobre el consumo de bebidas energéticas o azucaradas, ni de snacks salados. Además, no se evaluaron conductas alimentarias de riesgo

asociadas a la obesidad, como el "*binge eating*". En relación con la actividad física, el uso de medidas directas, como el actígrafo, podría haber minimizado el sesgo de infraestimación. También se omitió considerar la posibilidad de *exergaming* dentro del tiempo de pantalla dedicado a videojuegos, aspecto que se tendrá en cuenta en futuros proyectos. El tiempo de sueño, al ser reportado por los padres o autoreportado en adolescentes, podría estar sobreestimado, ya que meterse en la cama no implica necesariamente quedarse dormido. Además, el cuestionario BEARS no discrimina pacientes con SAOS, cuya prevalencia es mayor en niños con obesidad. La polisomnografía permitiría una evaluación cuantitativa y cualitativa del sueño así como la detección de niños con SAOS y obesidad. Finalmente, no se incluyeron cuestionarios que evaluaran la calidad de vida global de estos pacientes, una información que habría sido valiosa para contextualizar mejor los resultados obtenidos.

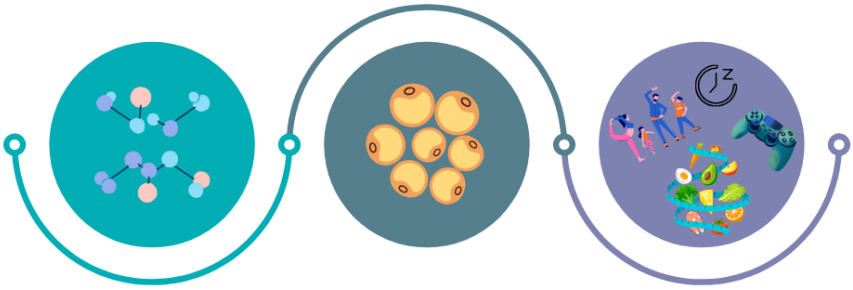
Tras la intervención no se observaron diferencias significativas en ninguno de los ítems. Los talleres grupales sobre alimentación o actividad física podrían ser una herramienta más práctica y directa para promover hábitos saludables. Según nuestros resultados, la intervención sobre el tiempo de pantallas debería extenderse a toda la población pediátrica, especialmente en lo que respecta al uso durante los fines de semana. Medir y mejorar la duración de sueño en los pacientes con obesidad será un área de mejora en futuros estudios. En cuanto a factores externos, como el entorno socioeconómico familiar, la realización de talleres dirigidos a las familias sobre alimentación, actividad física, uso de pantallas y sueño permitiría involucrarlas más directamente, lo que mejoraría las posibilidades de éxito de la intervención. Por ello, la colaboración entre centros sanitarios, escuelas y organizaciones como la *Gasol Foundation* es esencial.

Sin embargo, este estudio ha permitido identificar asociaciones relevantes que van más allá de los parámetros diagnósticos o de seguimiento habituales, como la antropometría y la analítica. En niños con obesidad, se confirmaron asociaciones bien establecidas, como la relación entre el uso de pantallas, la insulinoresistencia y el tiempo de sueño. Además, se identificaron asociaciones novedosas, como la conexión entre el uso de pantallas y la hipogrelinemia, la actividad física y las proteínas relacionadas con el apetito, la inflamación y la sensibilidad a la insulina, así como entre las horas de sueño y los niveles de

HSD11B1. Asimismo, se analizaron estas asociaciones en niños con obesidad que intentaban modificar su estilo de vida. El uso de pantallas mostró una correlación tanto antes como después de la intervención con la insulinoresistencia y el riesgo cardiovascular. La actividad física se asoció con mejoras en la inflamación, reflejadas específicamente en los niveles de TGF-β1 y OLR1, así como con mejoras en la insulinoresistencia y la dislipemia. Por otro lado, el uso del móvil se relacionó con una reducción en el tiempo de sueño. Además, este estudio no solo evaluó la asociación entre el nivel de una proteína y un aspecto del estilo de vida, sino también cómo el cumplimiento de una recomendación de estilo de vida influye en la respuesta de las proteínas a los cambios conductuales.

En resumen, este estudio evidenció que el estilo de vida está vinculado a las alteraciones metabólicas en niños con obesidad. Incluso modificaciones conductuales de corta duración y sin significancia estadística lograron impactar en las proteínas asociadas a la obesidad y en su respuesta a la terapia conductual.

CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

1. El perfil lipidómico circulante de niños con obesidad mostró cambios significativos en 71 especies lipídicas tras una intervención conductual, de las cuales 15 también se modificaron significativamente en adultos con obesidad sometidos a cirugía bariátrica. Estos cambios en las 15 especies lipídicas coincidentes se asociaron con mejoras en la inflamación, la resistencia a la insulina, la enfermedad hepática esteatósica asociada a la disfunción metabólica y la restauración de funciones metabólicas alteradas por la obesidad. Este conjunto específico de especies lipídicas podría constituir la base para desarrollar una firma lipidómica que caracterice la obesidad temprana y la lipotoxicidad.

2. El perfil lipidómico del tejido adiposo blanco subcutáneo y visceral en niños con obesidad mostró diferencias significativas en comparación con niños con normopeso de edad similar. El perfil lipidómico del TABs en niños con obesidad identificó nuevas familias y especies lipídicas desconocidas hasta ahora, además de evidenciar un proceso de remodelación lipídica que podría limitar la capacidad del TABs para mitigar el estrés metabólico y almacenar lípidos de forma segura. El perfil lipidómico del TABv mostró el acúmulo de lípidos con un perfil metabólico desfavorable, asociados a la inflamación, resistencia a la insulina y mayor riesgo cardiovascular. Ambos depósitos compartieron cambios lipidómicos relacionados con el estrés oxidativo, la disfunción de los adipocitos, la acumulación de ceramidas y la lipotoxicidad. Sin embargo, también se observaron cambios específicos según el tipo de depósito: el TABs prioriza el almacenamiento de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como mecanismo protector frente a la oxidación, mientras que el TABv se caracteriza por una mayor movilización de triglicéridos más cortos y de mayor densidad energética, lo que contribuye en mayor medida al desarrollo de complicaciones metabólicas.

3. De las 30 proteínas circulantes analizadas, 11 mostraron diferencias significativas entre los niños con obesidad y aquellos con normopeso, y se relacionaron con el metabolismo del cortisol, la glucosa, los lípidos, la inflamación y el circuito de hambre y saciedad. Algunas de estas diferencias parecieron responder a mecanismos de contrarregulación destinados a mitigar los efectos sistémicos de la obesidad, como HSD11B1, GHRL y PYY. En cambio, otras reflejaron procesos propios de la lipotoxicidad asociados a la obesidad, como GDF2, FGF21, OLR1, TGF-β1 e IL18. Además de sus efectos directos, estas proteínas presentaron múltiples correlaciones entre sí, evidenciando la complejidad e interconexión de las alteraciones metabólicas, inflamatorias y del apetito en la obesidad temprana. Estos cambios se observaron en niños con obesidad cuyos parámetros analíticos estaban dentro del rango normal, lo que resalta la utilidad de estas proteínas para el diagnóstico clínico de la obesidad y sus complicaciones.

4. De las 30 proteínas circulantes analizadas, 8 aumentaron significativamente en niños con obesidad tras la intervención conductual. Las alteraciones observadas inicialmente en HSD11B1 y GDF2 se corrigieron en su totalidad y parcialmente, respectivamente, lo que tuvo un impacto positivo en el metabolismo. El incremento de TGF-β1, CCL2, TNF-α, IL15, LAMP3 y VEGFA podría reflejar el estado inflamatorio agudo necesario para el remodelado del tejido adiposo blanco tras la hipertrofia. Proteínas alteradas a nivel basal y de gran relevancia en la fisiopatología de la obesidad, como GHRL, FGF21, OLR1 e IL18, no mostraron cambios significativos. La intervención en el estilo de vida, como única herramienta terapéutica, tuvo un impacto modesto en el perfil antropométrico y las alteraciones metabólicas e inmunológicas asociadas a la obesidad.

5. En comparación con los niños de peso normal, los niños con obesidad mostraron un uso excesivo de pantallas durante la semana, especialmente del móvil, lo cual se correlacionó con la falta de sueño y

con alteraciones en GHRL, insulina y HOMA-IR en nuestra cohorte. La actividad física, por su parte, se relacionó con mejoras en la alteración del apetito (GHRL), la inflamación (TGF-β1) y la insulinoresistencia (insulina y HOMA-IR). Además, las horas de sueño mostraron una correlación positiva significativa con el metabolismo del cortisol (HSD11B1). En los niños con obesidad que completaron 6 meses de intervención conductual, la actividad física se correlacionó con una mejora en la inflamación (TGF-β1 y OLR1). Cumplir con las recomendaciones sobre el uso de pantallas y la actividad física intensificó los cambios observados en LDL-c, CCL2, GDF2 y LAMP3 tras la intervención. Al finalizar la intervención, la asociación entre el uso excesivo de pantallas, la insulinoresistencia y el riesgo cardiovascular se mantuvo, lo que resalta la importancia de continuar con la intervención conductual en estos pacientes. Estos hallazgos subrayan el impacto de las modificaciones en el estilo de vida sobre las alteraciones metabólicas en niños con obesidad, generando cambios en las proteínas alteradas incluso antes de que se reflejen de manera evidente en la antropometría y la analítica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E, Eid G, Kuller L, Kelley DE, et al. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: Implications and effect of weight loss. Obes Surg. 2004;14(5):589–600.
2. May FJ, Baer LA, Lehnig AC, So K, Chen EY, Gao F, et al. Lipidomic Adaptations in White and Brown Adipose Tissue in Response to Exercise Demonstrates Molecular Species-Specific Remodeling. Cell Rep. 2017;18(6):1558–72.
3. Marcher AB, Loft A, Nielsen R, Sysi-aho M, Ekroos K, Mandrup S, et al. RNA-Seq and Mass-Spectrometry-Based Lipidomics Reveal Extensive Changes of Glycerolipid Pathways in Brown Adipose Tissue in Response to Cold. Cell Rep. 2015;13(9):2000–13.
4. Pietiläinen KH, Rog T, Seppänen-Laakso T, Virtue S, Peddinti G, Jing T, et al. Association of Lipidome Remodeling in the Adipocyte Membrane with Acquired Obesity in Humans. PLoS Biol. 2011;9(6):e1000623.
5. Unger RH, Orci L. Diseases of liporegulation : new perspective on obesity. FASEB J. 2001;15:312–21.
6. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane W V, Taksali SE, Yeckel CW, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. N Engl J Med. 2004;3;350(23):2362–74.
7. 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;26(11):2541–6.
8. Norris AL, Steinberger J, Steffen LM, Metzig AM, Schwarzenberg SJ, Kelly AS. Circulating oxidized LDL and inflammation in extreme pediatric obesity. Obesity (Silver Spring). 2011;17;19(7):1415–9.
9. Apostolopoulos V, de Courten MP, Stojanovska L, Blatch GL, Tangalakis K, de Courten B. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. Mol Nutr Food Res. 2016;60:43–57.
10. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. J Clin Invest. 2005;115(5):1111–9.

11. Brand-Miller J, Dickinson S, Barclay A, Celermajer D. The glycemic index and cardiovascular disease risk. Curr Atheroscler Rep. 2007;9:479–85.
12. Sokolowska E, Blachnio-zabielska A. The Role of Ceramides in Insulin Resistance. Front Endocrinol (Lausanne). 2019;21:10:577.
13. Kolak M, Westerbacka J, Velagapudi VR, Wågsa D, Yetukuri L, Makkonen J, et al. Content Characterize Subjects With High Liver Fat Content Independent of Obesity. Diabetes. 2007;56(8):1960-8.
14. Anjos S, Feiteira E, Cerveira F, Melo T, Reboredo A, Colombo S, et al. Lipidomics Reveals Similar Changes in Serum Phospholipid Signatures of Overweight and Obese Pediatric Subjects. J Proteome Res. 2019;2;18(8):3174–83.
15. Wang Y, Jiang C, Song J, Song Q, Ma J, Wang H. Lipidomic profile revealed the association of plasma lysophosphatidylcholines with adolescent obesity. Biomed Res Int. 2019;13:2019:1382418.
16. Rodriguez-Cuenca S, Pellegrinelli V, Campbell M, Oresic M, Vidal-Puig A. Sphingolipids and glycerophospholipids - The “ying and yang” of lipotoxicity in metabolic diseases. Prog Lipid Res. 2017;1;66:14–29.
17. Rauschert S, Uhl O, Koletzko B, Kirchberg F, Mori TA, Huang RC, et al. Lipidomics Reveals Associations of Phospholipids With Obesity and Insulin Resistance in Young Adults. J Clin Endocrinol Metab. 2016;1;101(3):871–9.
18. Trim W, Turner JE, Thompson D. Parallels in immunometabolic adipose tissue dysfunction with ageing and obesity. Front Immunol. 2018;9:9:169.
19. Casabona Monterde C. Sobrepeso y obesidad infantil: no tiramos la toalla. En: AEPap (ed.). Curso de Actualización Pediatría 2017. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2017. p. 39-52.
20. Carrascosa A, Yeste D, Moreno-Galdó A, Gussinyé M, Ferrández Á, Clemente M, et al. Índice de masa corporal e índice de masa triponderal de 1.453 niños no obesos ni malnutridos de la generación del milenio. Estudio longitudinal de Barcelona. An Pediatr (Engl Ed). 2018;89(3):137–43.
21. Sobradillo B, Aguirre A, Uresti U, Bilbao A, Fernández-Ramos C, Lizarraga A, et al. Curvas y tablas de crecimiento. Estudios longitudinal y transversal. Bilbao: Fundación Faustino Orbegozo Eizaguirre; 2004. 1–31 p.

22. Carrascosa A, Yeste D, Fernández-Cancio M, Clemente M, Moreno A. Millennials' Growth: Estudio longitudinal de crecimiento Barcelona 1995 – 2017. An Pediatr (Bar). 2018;89:137–14.
23. Viner RM, White B, Barrett T, Candy DCA, Gibson P, Gregory JW, et al. Assessment of childhood obesity in secondary care : OSCA consensus statement. Arch Dis Child Educ Pract Ed. 2012;97(3):98–105.
24. Yeste D, Vilallonga R, Campos A, Fábregas A, Mogas E. Cirugía bariátrica : Indicaciones clínicas en la edad pediátrica. Resultados a largo plazo Bariatric surgery : Clinical indication in pediatrics. Long-term outcomes. Rev Esp Endocrinol Pediatr. 2018;9:15–22.
25. Lobstein T, Jackson-Leach R, Powis J, Brinsden H, Gray M. World Obesity Atlas 2023. World Obesity Federation. 2023;5–25. Available from: https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-atlas-2023
26. Gómez SF, Berruezo P, Torres S, Ródenas J, Lorenzo L, Tribaldos M, et al. Resultados principales de la 2ª edición del estudio PASOS sobre: Los estilos de vida y el estado de salud de la población española de 8 a 16 años en 2022-2023. Evolución de los estilos de vida y el estado de salud del 2019-2020 al 2022-2023 [Internet]. Gasol Foundation Europa; 2023. Available from: https://gasolfoundation.org/es/estudio-pasos/
27. Generalitat de Catalunya. Taules ESCA 2021-2022 població infantil Total [Internet]. 2022.
28. Guo SS, Wu W, Chumlea WC, Roche AF. Predicting overweight and obesity in adulthood from body mass index values in childhood and adolescence. Am J Clin Nutr. 2002;1;76(3):653–8.
29. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane W V., Banyas B, Allen K, et al. Prevalence of Impaired Glucose Tolerance among Children and Adolescents with Marked Obesity. N Engl J Med. 2002;14;346(11):802–10.
30. Morrison JA, Friedman LA, Gray-McGuire C. Metabolic Syndrome in Childhood Predicts Adult Cardiovascular Disease 25 Years Later : The Princeton Lipid Research Clinics Follow-up Study. Pediatrics. 2007;120(2):340–5.
31. Sevilla S, Hubal MJ. Genetic modifiers of obesity and bariatric surgery outcomes. Semin Pediatr Surg. 2014;23:43–8.

32. Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, Helgadottir A, et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. Nat Genet. 2009;41(1):18–24.
33. Nehring I, Chmitorz A, Reulen H, von Kries R, Ensenauer R. Gestational diabetes predicts the risk of childhood overweight and abdominal circumference independent of maternal obesity. Diabetic Medicine. 2013;30(12):1449–56.
34. Nilsson C, Carlsson A, Landin-Olsson M. Increased risk for overweight among Swedish children born to mothers with gestational diabetes mellitus. Pediatr Diabetes. 2014;15(1):57–66.
35. Sandoval Jurado L, Jiménez Báez MV, Olivares Juárez S, de la Cruz Olvera T. Lactancia materna, alimentación complementaria y el riesgo de obesidad infantil. Aten Primaria. 2016;48(9):572–8.
36. Alqahtani AR, Elahmedi M, Alqahtani YA. Bariatric surgery in monogenic and syndromic forms of obesity. Semin Pediatr Surg. 2014;23:37–42.
37. Mahumud RA, Sahle BW, Owusu-Addo E, Chen W, Morton RL, Renzaho AMN. Association of dietary intake, physical activity, and sedentary behaviours with overweight and obesity among 282,213 adolescents in 89 low and middle income to high-income countries. Int J Obes. 2021;45(11):2404–18.
38. Goran MI, Ball GDC, Cruz ML. Obesity and risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in children and adolescents. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88(4):1417–27.
39. Ohkuma T, Hirakawa Y, Nakamura U, Kiyohara Y, Kitazono T, Ninomiya T. Association between eating rate and obesity: A systematic review and meta-analysis. Int J Obes. 2015;39(11):1589–96.
40. Liberali R, Kupek E, Assis MAA De. Dietary Patterns and Childhood Obesity Risk: A Systematic Review. Child Obes. 2020;16(2):70–85.
41. Jebeile H, Kelly AS, O'Malley G, Baur LA. Obesity in children and adolescents: epidemiology, causes, assessment, and management. Lancet Diabetes Endocrinol. 2022;10(5):351–65.
42. Kelly AS, Barlow SE, Rao G, Inge TH, Hayman LL, Steinberger J, et al. Severe Obesity in Children and Adolescents: Identification, Associated

Health Risks, and Treatment Approaches. Circulation. 2013;8;128(15):1689–712.

43. Chung A, Backholer K, Wong E, Palermo C, Keating C, Peeters A. Trends in child and adolescent obesity prevalence in economically advanced countries according to socioeconomic position: a systematic review. Obes Rev. 2016;17(3):276–95.
44. Wrzosek M, Wiśniewska K, Sawicka A, Tałałaj M, Nowicka G. Early Onset of Obesity and Adult Onset of Obesity as Factors Affecting Patient Characteristics Prior to Bariatric Surgery. Obes Surg. 2018;28(12):3902–9.
45. Juonala M, Sabin MA, Burgner D, Cheung M, Kähönen M, Hutri-Kähönen N, et al. Increased body mass index in parent-child dyads predicts the offspring risk of meeting bariatric surgery criteria. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(11):4257–63.
46. Gawlik A, Salonen A, Jian C, Yanover C, Antosz A, Shmoish M, et al. Personalized approach to childhood obesity: Lessons from gut microbiota and omics studies. Narrative review and insights from the 29th European childhood obesity congress. Pediatr Obes. 2021;16(10):1–9.
47. García García E. Obesidad y síndrome metabólico en pediatría. En AEPap ed. Curso de Actualización Pediatría 2015. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2015. p. 71-84.
48. García García E, Vázquez López MÁ, Galera Martínez R, Alias I, Martín González M, Bonillo Perales A, et al. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes de 2 a 16 años. Endocrinol Nutr. 2013;60(3):121–6.
49. Burns TL, Moll PP, Lauer RM. The relation between ponderosity and coronary risk factors in children and their relatives. The Muscatine Ponderosity Family Study. Am J Epidemiol. 1989;129(5):973–87.
50. Hayman LL, Meininger JC, Coates PM, Gallagher PR. Nongenetic influences of obesity on risk factors for cardiovascular disease during two phases of development. Nurs Res. 1995;44(5):277–83.
51. Kikuchi DA, Srinivasan SR, Harsha DW, Webber LS, Sellers TA, Berenson GS. Relation of serum lipoprotein lipids and apolipoproteins to obesity in children: the Bogalusa Heart Study. Prev Med. 1992;21(2):177–90.

52. Morrison JA, Barton BA, Biro FM, Daniels SR, Sprecher DL. Overweight, fat patterning, and cardiovascular disease risk factors in black and white boys. J Pediatr. 1999;135(4):451–7.
53. Muntner P, He J, Cutler JA, Wildman RP, Whelton PK. Trends in blood pressure among children and adolescents. JAMA. 2004;291(17):2107–13.
54. 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;26(1):118–24.
55. Di Bonito P, Pacifico L, Chiesa C, Valerio G, Miraglia del Giudice E, Maffeis C, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in children and adolescents with overweight/obesity. J Endocrinol Invest. 2017;40(4):409–16.
56. Ice CL, Murphy E, Cottrell L, Neal WA. Morbidly obese diagnosis as an indicator of cardiovascular disease risk in children: Results from the CARDIAC Project. Int J Pediatr Obes. 2011;6(2):113–9.
57. Kelly AS, Hebbel RP, Solovey AN, Schwarzenberg SJ, Metzig AM, Moran A, et al. Circulating Activated Endothelial Cells in Pediatric Obesity. J Pediatr. 2010;157(4):547–51.
58. Meyer AA. Impaired Flow-Mediated Vasodilation, Carotid Artery Intima-Media Thickening, and Elevated Endothelial Plasma Markers in Obese Children: The Impact of Cardiovascular Risk Factors. Pediatrics. 2006;117(5):1560–7.
59. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Children and Young Adults. N Engl J Med. 1998;338(23):1650–6.
60. Michalsky MP, Inge TH, Simmons M, Jenkins TM, Buncher R, Helmrath M, et al. Cardiovascular Risk Factors in Severely Obese Adolescents. JAMA Pediatr. 2015;169(5):438.
61. Paul W. Franks, Robert L. Hanson, William C. Knowler, Maurice L. Sievers PHB and HCL. Childhood Obesity, Other Cardiovascular Risk Factors, and Premature Death. N Engl J Med. 2010;362(6):485–93.
62. McGill HC, McMahan CA, Zieske AW, Tracy RE, Malcom GT, Herderick EE, et al. Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with

microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. Circulation. 2000 Jul 25;102(4):374–9.

63. McGill HC, McMahan CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, et al. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. Circulation. 2002;105(23):2712–8.
64. Obert P, Gueugnon C, Nottin S, Vinet A, Gayrard S, Rupp T, et al. Two-dimensional strain and twist by vector velocity imaging in adolescents with severe obesity. Obesity (Silver Spring). 2012;20(12):2397–405.
65. Daniels SR, Witt SA, Glascock B, Khoury PR, Kimball TR. Left atrial size in children with hypertension: The influence of obesity, blood pressure, and left ventricular mass. J Pediatr. 2002;141(2):186–90.
66. Speiser PW, Rudolf MCJ, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, et al. Consensus statement: Childhood obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(3):1871–87.
67. De Luca M, Angrisani L, Himpens J, Busetto L, Scopinaro N, Weiner R, et al. Indications for Surgery for Obesity and Weight-Related Diseases: Position Statements from the International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders (IFSO). Obes Surg. 2016;26(8):1659–96.
68. Shine NP, Coates HL, Lannigan FJ. Obstructive sleep apnea, morbid obesity, and adenotonsillar surgery: a review of the literature. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2005;69(11):1475–82.
69. Kohler MJ, Thormaehlen S, Kennedy JD, Pamula Y, van den Heuvel CJ, Lushington K, et al. Differences in the association between obesity and obstructive sleep apnea among children and adolescents. J Clin Sleep Med. 2009;5(6):506–11.
70. Charlton M. Nonalcoholic fatty liver disease: a review of current understanding and future impact. Clin Gastroenterol Hepatol. 2004;2(12):1048–58.
71. Younossi Z, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: An agenda for clinical research. Hepatology. 2002;35(4):746–52.
72. Boyraz M, Hatipoğlu N, Sari E, Akçay A, Taşkin N, Ulucan K, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in obese children and the relationship between metabolic syndrome criteria. Obes Res Clin Pract. 2014;8(4):1–8.

73. Alqahtani A, Elahmedi M, Alswat K, Arafah M, Fagih M, Lee J. Features of nonalcoholic steatohepatitis in severely obese children and adolescents undergoing sleeve gastrectomy. Surg Obes Relat Dis. 2017;13(9):1599–609.
74. Saland JM. Update on the metabolic syndrome in children. Curr Opin Pediatr. 2007;19(2):183–91.
75. Aragónes A, Blasco L, Cabrinety N. Capítulo 7: Obesidad infantil. In: DOYMA, editor. Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la adolescencia. 2nd ed. 2000. p. 170–200.
76. Brara SM, Koebnick C, Porter AH, Langer-Gould A. Pediatric idiopathic intracranial hypertension and extreme childhood obesity. J Pediatr. 2012;161(4):602–7.
77. Weiss R, Bremer AA, Lustig RH. What is metabolic syndrome, and why are children getting it? Ann N Y Acad Sci. 2013;1281(1):123–40.
78. Nehus EJ, Khoury JC, Inge TH, Xiao N, Jenkins TM, Moxey-Mims MM, et al. Kidney outcomes three years after bariatric surgery in severely obese adolescents. Kidney Int. 2017;91(2):451–8.
79. Taylor ED, Theim KR, Mirch MC, Ghorbani S, Tanofsky-Kraff M, Adler-Wailes DC, et al. Orthopedic complications of overweight in children and adolescents. Pediatrics. 2006;117(6):2167–74.
80. Montgomery CO, Young KL, Austen M, Jo CH, Blasier RD, Ilyas M. Increased risk of Blount disease in obese children and adolescents with vitamin D deficiency. J Pediatr Orthop. 2010;30(8):879–82.
81. Fradin K, Racine AD, Belamarich PF. Obesity and symptomatic cholelithiasis in childhood: Epidemiologic and case-control evidence for a strong relation. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014;58(1):102–6.
82. Bischoff SC, Barazzoni R, Busetto L, Campmans-Kuijpers M, Cardinale V, Chermesh I, et al. European guideline on obesity care in patients with gastrointestinal and liver diseases – Joint ESPEN/UEG guideline. Clin Nutr. 2022;41(10):2364–405.
83. Santoro N, Amato A, Grandone A, Brienza C, Savarese P, Tartaglione N, et al. Predicting metabolic syndrome in obese children and adolescents: Look, measure and ask. Obes Facts. 2013;6(1):48–56.

84. Baselga Torres E, Torres-Pradilla M. Cutaneous manifestations in children with diabetes mellitus and obesity. Actas Dermosifiliogr. 2014;105(6):546–57.
85. Schwimmer JB, Burwinkle TM, Varni JW. Health-Related Quality of Life of Severely Obese Children and Adolescents. JAMA. 2003;289(14):1813.
86. Zeller MH, Roehrig HR, Modi AC, Daniels SR, Inge TH. Health-related quality of life and depressive symptoms in adolescents with extreme obesity presenting for bariatric surgery. Pediatrics. 2006;117(4):1155–61.
87. Eddy KT, Tanofsky-Kraff M, Thompson-Brenner H, Herzog DB, Brown TA, Ludwig DS. Eating disorder pathology among overweight treatment-seeking youth: clinical correlates and cross-sectional risk modeling. Behav Res Ther. 2007;45(10):2360–71.
88. Wildes JE, Marcus MD, Kalarchian MA, Levine MD, Houck PR, Cheng Y. Self-reported binge eating in severe pediatric obesity: impact on weight change in a randomized controlled trial of family-based treatment. Int J Obes (Lond). 2010;34(7):1143–8.
89. Goossens L, Braet C, Decaluwé V. Loss of control over eating in obese youngsters. Behav Res Ther. 2007;45(1):1–9.
90. Cypess AM. Reassessing Human Adipose Tissue. N Engl J Med. 2022 24;386(8):768–79.
91. Kaitosaari T, Rönnemaa T, Viikari J, Raitakari O, Arffman M, Marniemi J, et al. Low – Saturated Fat Dietary Counseling Starting in Infancy Improves Insulin Sensitivity in 9-Year-Old Healthy Children. Diabetes Care. 2006;29(4):781–5.
92. Pahkala K, Hietalampi H, Laitinen TT, Viikari JSA, Rönnemaa T, Niinikoski H, et al. Ideal cardiovascular health in adolescence effect of lifestyle intervention and association with vascular intima-media thickness and elasticity (the Special Turku Coronary Risk Factor Intervention Project for Children [STRIP] Study). Circulation. 2013;127(21):2088–96.
93. Felső R, Lohner S, Hollódy K, Erhardt, Molnár D. Relationship between sleep duration and childhood obesity: Systematic review including the potential underlying mechanisms. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2017;27(9):751–61.

94. Reinehr T, Kleber M, Lass N, Toschke AM. Body mass index patterns over 5 y in obese children motivated to participate in a 1-y lifestyle intervention: age as a predictor of long-term success. Am J Clin Nutr. 2010;91(5):1165–71.
95. Al-Khudairy L, Loveman E, Colquitt JL, Mead E, Johnson RE, Fraser H, et al. Diet, physical activity and behavioural interventions for the treatment of overweight or obese adolescents aged 12 to 17 years. Cochrane Database Syst Rev. 2017;6(6):CD012691.
96. Van Can J, Sloth B, Jensen CB, Flint A, Blaak EE, Saris WHM. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. Int J Obes. 2014;38(6):784–93.
97. Kelly AS, Auerbach P, Barrientos-Perez M, Gies I, Hale PM, Marcus C, et al. A Randomized, Controlled Trial of Liraglutide for Adolescents with Obesity. N Engl J Med. 2020;382(22):2117–28.
98. Mead E, Atkinson G, Richter B, Metzendorf MI, Baur L, Finer N, et al. Drug interventions for the treatment of obesity in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 2016;11(11):CD012436.
99. Raman V, Gupta A, Ashraf AP, Breidbart E, Gourgari E, Kamboj M, et al. Pharmacologic Weight Management in the Era of Adolescent Obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2022;107(10):2716–28.
100. Singhal V, Sella AC, Malhotra S. Pharmacotherapy in Pediatric Obesity: Current Evidence and Landscape. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2021;28(1):55–63.
101. Pratt JSA, Browne A, Browne NT, Bruzoni M, Cohen M, Desai A, et al. ASMBS Pediatric Metabolic and Bariatric Surgery Guidelines, 2018. Surg Obes Relat Dis. 2018;14(7):882-901.
102. Inge TH, Jenkins TM, Zeller M, Dolan L, Daniels SR, Garcia VF, et al. Baseline BMI is a strong predictor of nadir BMI after adolescent gastric bypass. J Pediatr. 2010;156(1):103-108.e1.
103. Lawson ML, Kirk S, Mitchell T, Chen MK, Loux TJ, Daniels SR, et al. One-year outcomes of Roux-en-Y gastric bypass for morbidly obese adolescents: a multicenter study from the Pediatric Bariatric Study Group. J Pediatr Surg. 2006;41(1):137–43.

104. Sugerman HJ, Sugerman EL, DeMaria EJ, Kellum JM, Kennedy C, Mowery Y, et al. Bariatric surgery for severely obese adolescents. J Gastrointest Surg. 2003;7(1):102–8.
105. Kalra M, Inge T, Garcia V, Daniels S, Lawson L, Curti R, et al. Obstructive sleep apnea in extremely overweight adolescents undergoing bariatric surgery. Obes Res. 2005;13(7):1175–9.
106. Inge TH, Miyano G, Bean J, Helmrath M, Courcoulas A, Harmon CM, et al. Reversal of type 2 diabetes mellitus and improvements in cardiovascular risk factors after surgical weight loss in adolescents. Pediatrics. 2009;123(1):214–22.
107. Teeple EA, Teich S, Schuster DP, Michalsky MP. Early metabolic improvement following bariatric surgery in morbidly obese adolescents. Pediatr Blood Cancer. 2012;58(1):112–6.
108. Zeller MH, Reiter-Purtill J, Ratcliff MB, Inge TH, Noll JG. Two-year trends in psychosocial functioning after adolescent Roux-en-Y gastric bypass. Surg Obes Relat Dis. 2011;7(6):727–32.
109. Olbers T, Beamish AJ, Gronowitz E, Flodmark CE, Dahlgren J, Bruze G, et al. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass in adolescents with severe obesity (AMOS): a prospective, 5-year, Swedish nationwide study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2017;5(3):174-83.
110. Varela JE, Hinojosa MW, Nguyen NT. Perioperative outcomes of bariatric surgery in adolescents compared with adults at academic medical centers. Surg Obes Relat Dis. 2007;3(5):537–40.
111. Alqahtani AR, Elahmedi MO, Al Qahtani A. Co-morbidity resolution in morbidly obese children and adolescents undergoing sleeve gastrectomy. Surg Obes Relat Dis. 2014;10(5):842–50.
112. Kaulfers AMD, Bean JA, Inge TH, Dolan LM, Kalkwarf HJ. Bone Loss in Adolescents After Bariatric Surgery. Pediatrics. 2011;127(4):e956–61.
113. Vilallonga R, Manuel J, Villares M, Fernández DY, Santos RS, Freijo FC, et al. Initial Approach to Childhood Obesity in Spain. A Multisociety Expert Panel Assessment. Obes Surg. 2017;27(4):997-1006.
114. Carbajo MA, Gonzalez-Ramirez G, Jimenez JM, Luque-de-Leon E, Ortiz-de-Solorzano J, Castro MJ, et al. A 5-Year Follow-up in Children and Adolescents Undergoing One-Anastomosis Gastric Bypass (OAGB) at a

European IFSO Excellence Center (EAC-BS). Obes Surg. 2019;29(9):2739-44.

115. Maitre L, De Bont J, Casas M, Robinson O, Aasvang GM, Agier L, et al. Human Early Life Exposome (HELIX) study: A European population-based exposome cohort. BMJ Open. 2018;8(9):e021311.
116. Koch S, Lasinsky AM, Puterman E. Leveraging Omics Profiling to advance the treatment of pediatric Obesity. JAMA Pediatr. 2019;173(10):910–1.
117. Abu Bakar MH, Sarmidi MR, Cheng KK, Ali Khan A, Suan CL, Zaman Huri H, et al. Metabolomics - the complementary field in systems biology: a review on obesity and type 2 diabetes. Mol Biosyst. 2015;11(7):1742–74.
118. Orešič M, Hänninen VA, Vidal-Puig A. Lipidomics: a new window to biomedical frontiers. Trends Biotechnol. 2008;26(12):647–52.
119. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. New York: Garland Science; 2002.
120. Jenkins BJ, Seyssel K, Chiu S, Pan PH, Lin SY, Stanley E, et al. Odd Chain Fatty Acids; New Insights of the Relationship Between the Gut Microbiota, Dietary Intake, Biosynthesis and Glucose Intolerance. Sci Rep. 2017;23:7:44845.
121. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemistry. 5th ed. New York: W.H. Freeman Publishing; 2002.
122. Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. Prog Lipid Res. 2014;(53):124–44.
123. Wymann MP, Schneiter R. Lipid signalling in disease. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008;9(2):162–76.
124. Harayama T, Riezman H. Understanding the diversity of membrane lipid composition. Nat Rev Mol Cell Biol. 2018;19(5):281-96.
125. Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill AH, Murphy RC, et al. A comprehensive classification system for lipids. J Lipid Res. 2005;46(5):839–61.
126. Fang X, Miao R, Wei J, Wu H, Tian J. Advances in multi-omics study of biomarkers of glycolipid metabolism disorder. Comput Struct Biotechnol. 2022;20:5935–51.
127. COBIOMIC. Protein assay list Olink® Target Flex. 2024. Available from: www.olink.com/flex

128. Kwok KHM, Lam KSL, Xu A. Heterogeneity of white adipose tissue: Molecular basis and clinical implications. Exp Mol Med. 2016;48(3):e215-12.
129. Richard AJ, White U, Elks CM, Stephens JM. Adipose Tissue: Physiology to Metabolic Dysfunction. Endotext. 2000;(2):1–60.
130. Leiria LO, Tseng YH. Lipidomics of brown and white adipose tissue: Implications for energy metabolism. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids. 2020;1865(10):158788.
131. Vegiopoulos A, Rohm M, Herzig S. Adipose tissue: between the extremes. EMBO J. 2017;36(14):1999–2017.
132. van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JMAFL, Kemerink GJ, Bouvy ND, et al. Cold-Activated Brown Adipose Tissue in Healthy Men. N Engl J Med. 2009;360(15):1500–8.
133. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. Obstet Gynecol Surv. 2009;64(8):519–20.
134. Cinti S. Pink Adipocytes. Trends Endocrinol Metab. 2018;29(9):651–66.
135. Kelly AS, Metzig AM, Schwarzenberg SJ, Norris AL, Fox CK, Steinberger J. Hyperleptinemia and hypoadiponectinemia in extreme pediatric obesity. Metab Syndr Relat Disord. 2012;10(2):123–7.
136. Grzybek M, Palladini A, Alexaki VI, Surma MA, Simons K. Comprehensive and quantitative analysis of white and brown adipose tissue by shotgun lipidomics. Mol Metab. 2019;22:12–20.
137. Furse S, Snowden SG, Olga L, Prentice P, Ong KK, Hughes IA, et al. Evidence from 3-month-old infants shows that a combination of postnatal feeding and exposures in utero shape lipid metabolism. Sci Rep. 2019;9(1):1–10.
138. Acharjee A, Prentice P, Acerini C, Smith J, Hughes IA, Ong K, et al. The translation of lipid profiles to nutritional biomarkers in the study of infant metabolism. Metabolomics. 2017;13(3):25
139. Hellmuth C, Uhl O, Demmelmair H, Grunewald M, Auricchio R, Castillejo G, et al. The impact of human breast milk components on the infant metabolism. PLoS One. 2018;13(6):e0197713.

140. Gliniak CM, Scherer PE. Critical lipids link breastfeeding to healthy adipose tissue in infancy and adulthood. J Clin Invest. 2019;129(6):2198–200.
141. León-Aguilar LF, Croyal M, Ferchaud-Roucher V, Huang F, Marchat LA, Barraza-Villarreal A, et al. Maternal obesity leads to long-term altered levels of plasma ceramides in the offspring as revealed by a longitudinal lipidomic study in children. Int J Obes. 2019;43(6):1231–43.
142. Martos-Moreno G, Mastrangelo A, Barrios V, García A, Chowen JA, Rupérez FJ, et al. Metabolomics allows the discrimination of the pathophysiological relevance of hyperinsulinism in obese prepubertal children. Int J Obes. 2017;41(10):1473–80.
143. Jauregibeitia I, Portune K, Rica I, Tueros I, Velasco O, Grau G, et al. Fatty acid profile of mature red blood cell membranes and dietary intake as a new approach to characterize children with overweight and obesity. Nutrients. 2020; 12(11):3446.
144. De Spiegeleer M, De Paepe E, Van Meulebroek L, Gies I, De Schepper J, Vanhaecke L. Paediatric obesity: a systematic review and pathway mapping of metabolic alterations underlying early disease processes. Mol Med. 2021;27(1):145.
145. Wahl S, Yu Z, Kleber M, Singmann P, Holzapfel C, He Y, et al. Childhood obesity is associated with changes in the serum metabolite profile. Obes Facts. 2012;5(5):660–70.
146. Draijer LG, Froon-Torenstra D, Van Weeghel M, Vaz FM, Bohte AE, Holleboom AG, et al. Lipidomics in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Exploring Serum Lipids as Biomarkers for Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2020;71(4):433–9.
147. Yin R, Wang X, Li K, Yu K, Yang L. Lipidomic profiling reveals distinct differences in plasma lipid composition in overweight or obese adolescent students. BMC Endocr Disord. 2021;21(1):1–10.
148. Olga L, van Diepen JA, Bobeldijk-Pastorova I, Gross G, Prentice PM, Snowden SG, et al. Lipid ratios representing SCD1, FADS1, and FADS2 activities as candidate biomarkers of early growth and adiposity. EBioMedicine. 2021;63:103198.
149. Syme C, Czajkowski S, Shin J, Abrahamowicz M, Leonard G, Perron M, et al. Glycerophosphocholine Metabolites and Cardiovascular Disease Risk

Factors in Adolescents: A Cohort Study. Circulation. 2016;134(21):1629–36.

150. Prats-Puig A, Bassols J, Bargalló E, Mas-Parareda M, Ribot R, Soriano-Rodríguez P, et al. Toward an early marker of metabolic dysfunction: Omentin-1 in prepubertal children. Obesity. 2011;19(9):1905–7.
151. Berardo C, Calcaterra V, Mauri A, Carelli S, Messa L, Destro F, et al. Subcutaneous Adipose Tissue Transcriptome Highlights Specific Expression Profiles in Severe Pediatric Obesity: A Pilot Study. Cells. 2023;12(8):1–17.
152. Zingale VD, D'Angiolini S, Chiricosta L, Calcaterra V, Selvaggio GGO, Zuccotti G, et al. Does Childhood Obesity Trigger Neuroinflammation? Biomedicines. 2022;10(8):1–14.
153. Sheldon RD, Kanosky KM, Wells KD, Miles L, Perfield JW, Xanthakos S, et al. Transcriptomic differences in intra-abdominal adipose tissue in extremely obese adolescents with different stages of NAFLD. Physiol Genomics. 2016;48(12):897–911.
154. Kobayashi Y, Eguchi A, Imami K, Tempaku M, Izuoka K, Takase T, et al. Circulating extracellular vesicles are associated with pathophysiological condition including metabolic syndrome-related dysmetabolism in children and adolescents with obesity. J Mol Med. 2024;102(1):23–38.
155. Małecki P, Tracz J, Łuczak M, Figlerowicz M, Mazur-Melewska K, Służewski W, et al. Serum proteome assessment in nonalcoholic fatty liver disease in children: a preliminary study. Expert Rev Proteomics. 2020;17(7–8):623–32.
156. Bălănescu A, Stan I, Codreanu I, Comănici V, Bălănescu E, Bălănescu P. Circulating Hsp90 isoform levels in overweight and obese children and the relation to nonalcoholic fatty liver disease: Results from a cross-sectional study. Dis Markers. 2019; 2019:9560247.
157. Walker GE, Follenzi A, Bruscaggin V, Manfredi M, Bellone S, Marengo E, et al. Fetuin B links vitamin D deficiency and pediatric obesity: Direct negative regulation by vitamin D. J Steroid Biochem Mol Biol. 2018;182:37–49.
158. Walker GE, Ricotti R, Roccio M, Moia S, Bellone S, Prodam F, et al. Pediatric obesity and vitamin D deficiency: A proteomic approach identifies

multimeric adiponectin as a key link between these conditions. PLoS One. 2014;9(1):e83685.

159. Plaza-Florido A, Rodriguez-Ayllon M, Altmäe S, Ortega FB, Esteban-Cornejo I. Cardiorespiratory fitness and targeted proteomics involved in brain and cardiovascular health in children with overweight/obesity. Eur J Sport Sci. 2023;23(10):2076–85.
160. Olvera-Rojas M, Plaza-Florido A, Solis-Urra P, Rodriguez-Ayllon M, Toval A, Esteban-Cornejo I, et al. Association of muscular strength and targeted proteomics involved in brain health in children with overweight/obesity. Scand J Med Sci Sports. 2023;33(9):1738–51.
161. Olvera-Rojas M, Plaza-Florido A, Solis-Urra P, Osuna-Prieto FJ, Ortega FB. Neurological-related proteomic profiling in plasma of children with metabolic healthy and unhealthy overweight/obesity. Pediatr Obes. 2024;19(9):e13155.
162. Englich B, Herberth G, Rolle-Kampczyk U, Trump S, Röder S, Borte M, et al. Maternal cytokine status may prime the metabolic profile and increase risk of obesity in children. Int J Obes. 2017;41(9):1440–6.
163. Miao Z, Wang J, Wang F, Liu L, Ding H, Shi Z. Comparative proteomics of umbilical vein blood plasma from normal and gestational diabetes mellitus patients reveals differentially expressed proteins associated with childhood obesity. Proteomics Clin Appl. 2016;10(11):1122–31.
164. Zhen S, Ma Y, Han Y, Zhao Z, Yang X, Wen D. Serum galectin-3BP as a novel marker of obesity and metabolic syndrome in Chinese adolescents. BMJ Open Diabetes Res Care. 202;9(1):e001894.
165. Galata Z, Moschonis G, Makridakis M, Dimitraki P, Nicolaides NC, Manios Y, et al. Plasma proteomic analysis in obese and overweight prepubertal children. Eur J Clin Invest. 2011;41(12):1275–83.
166. Oberbach A, Bergen M Von, Blüher S, Lehmann S, Till H. Combined serum proteomic and metabonomic profiling after laparoscopic sleeve gastrectomy in children and adolescents. J Laparoendosc Adv Surg Tech A. 2012;22(2):184–8.
167. Marrodán MD, Martínez-Álvarez JR, De Espinosa MGM, López-Ejeda N, Cabañas MD, Prado C. Precisión diagnóstica del índice cintura-talla para

la identificación del sobrepeso y de la obesidad infantil. Med Clin (Barc). 2013;140(7):296–301.

168. Marrodán MD, Martínez Álvarez JR, González-Montero De Espinosa ML, Ejeda LN, Cabañas MD, Pacheco JL, et al. Estimación de la adiposidad a partir del índice cintura talla: Ecuaciones de predicción aplicables en población infantil Española. Nutr Clin Diet Hosp. 2011;31(3):45–51.
169. Marrodán MD, Álvarez JMR, De Espinosa MGM, Carmenate MM, López-Ejeda N, Cabañas MD, et al. Predicting percentage body fat through waist-to-height ratio (WtHR) in Spanish schoolchildren. Public Health Nutr. 2014;17(4):870–6.
170. Marrodán Serrano MD, Mesa Santurino MS, Alba Díaz JA, Ambrosio Soblechero B, Barrio Caballero PA, Drak Hernández L, et al. Diagnosis de la obesidad: Actualización de criterios y su validez clínica y poblacional. An Pediatr (Engl Ed). 2006;65(1):5–14.
171. Moreno Aznar LA, Lorenzo Garrido H. Obesidad infantil. Protoc diagn ter pediatr. 2023;(1):535–42.
172. Maffeis C, Banzato C, Talamini G. Waist-to-Height Ratio, a Useful Index to Identify High Metabolic Risk in Overweight Children. J Pediatr. 2008;152(2):207-13.
173. Moore LM, Fals AM, Jennelle PJ, Green JF, Pepe J, Richard T. Analysis of Pediatric Waist to Hip Ratio Relationship to Metabolic Syndrome Markers. J Pediatr Health Care. 2015;29(4):319–24.
174. De Lorenzo A, Romano L, Di Renzo L, Gualtieri P, Salimei C, Carrano E, et al. Triponderal mass index rather than body mass index: An indicator of high adiposity in Italian children and adolescents. Nutrition. 2019;60:41–7.
175. González-Jiménez E, Montero-Alonso MÁ, Schmidt-RioValle J. Estudio de la utilidad del índice de cintura-cadera como predictor del riesgo de hipertensión arterial en niños y adolescents. Nutr Hosp. 2013;28(6):1993–8.
176. de Arriba Muñoz A, López Úbeda M, Rueda Caballero C, Labarta Aizpún JI, Ferrández Longás Á. Valores de normalidad de índice de masa corporal y perímetro abdominal en población española desde el nacimiento a los 28 años de edad. Nutr Hosp. 2016;33(4):887–93.

177. Netter FH. Atlas de anatomía humana. 4ª ed. Madrid: Elsevier Masson; 2007.
178. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem. 1957;226(1):497–509.
179. González-Riano C, Santos M, Díaz M, García-Beltrán C, Lerin C, Barbas C, et al. Birth Weight and Early Postnatal Outcomes: Association with the Cord Blood Lipidome. Nutrients. 2022;14(18):1–18.
180. Fernández Requena B, Nadeem S, Reddy VP, Naidoo V, Glasgow JN, Steyn AJC, et al. LiLA: lipid lung-based ATLAS built through a comprehensive workflow designed for an accurate lipid annotation. Commun Biol. 2024;7(1):45.
181. Liebisch G, Fahy E, Aoki J, Dennis EA, Durand T, Ejsing CS, et al. Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. J Lipid Res. 2020;61(12):1539–55.
182. Shah VN, Dubose SN, Li Z, Beck RW, Peters AL, Weinstock RS, et al. Continuous Glucose Monitoring Profiles in Healthy Nondiabetic Participants: A Multicenter Prospective Study. J Clin Endocrinol Metab. 2019;104(10):4356–64.
183. Adeli K, Higgins V, Trajcevski K, White-Al Habeeb N. The Canadian laboratory initiative on pediatric reference intervals: A CALIPER white paper. Crit Rev Clin Lab Sci. 2017;54(6):358–413.
184. Gujral J, Gupta J. Pediatric dyslipidemia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: https://www.statpearls.com
185. Lundberg M, Eriksson A, Tran B, Assarsson E, Fredriksson S. Homogeneous antibody-based proximity extension assays provide sensitive and specific detection of low-abundant proteins in human blood. Nucleic Acids Res. 2011;39(15).
186. Gómez SF, Homs C, Wärnberg J, Medrano M, Gonzalez-Gross M, Gusi N, et al. Study protocol of a population-based cohort investigating Physical Activity, Sedentarism, lifestyles and Obesity in Spanish youth: The PASOS study. BMJ Open. 2020;10(9):1–6.

187. Soria-Gondek A, Fernández-García P, González L, Reyes-Farias M, Murillo M, Valls A, et al. Lipidome Profiling in Childhood Obesity Compared to Adults: A Pilot Study. Nutrients. 2023;15(15):3341.
188. Gaud C, Sousa BC, Nguyen A, Fedorova M, Ni Z, O'Donnel VB, et al. BioPAN: A web-based tool to explore mammalian lipidome metabolic pathways on LIPID MAPS. F1000Res. 2021;10:4.
189. Szczerbinski L, Wojciechowska G, Olichwier A, Taylor MA, Puchta U, Konopka P, et al. Untargeted Metabolomics Analysis of the Serum Metabolic Signature of Childhood Obesity. Nutrients. 2022;14(1):214.
190. Okada T, Furuhashi N, Kuromori Y, Miyashita M, Iwata F, Harada K. Plasma palmitoleic acid content and obesity in children. Am J Clin Nutr. 2005;82(4):747-50.
191. Castillo EC, Elizondo-Montemayor L, Hernández-Brenes C, Rodríguez-Sánchez DG, Silva-Platas C, Marín-Obispo LM, et al. Integrative analysis of lipid profiles in plasma allows cardiometabolic risk factor clustering in children with metabolically unhealthy obesity. Oxid Med Cell Longev. 2020;2020:2935278.
192. Reinehr T, Wolters B, Knop C, Lass N, Hellmuth C, Harder U, et al. Changes in the serum metabolite profile in obese children with weight loss. Eur J Nutr. 2015;54(2):173-81.
193. Balagopal P, de Ferranti SD, Cook S, Daniels SR, Gidding SS, Hayman LL, et al. Nontraditional Risk Factors and Biomarkers for Cardiovascular Disease: Mechanistic, Research, and Clinical Considerations for Youth: A Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation. 2011;123(23):2749-69.
194. Farpour-Lambert NJ, Martin XE, Bucher S, Torre D, Von Haller L, Ells LJ, et al. Effectiveness of individual and group programmes to treat obesity and reduce cardiovascular disease risk factors in pre-pubertal children. Clin Obes. 2019;9(6):e12335.
195. Sirico F, Bianco A, Alicandro GD', Castaldo C, Montagnani S, Spera R, et al. Effects of Physical Exercise on Adiponectin, Leptin, and Inflammatory Markers in Childhood Obesity: Systematic Review and Meta-Analysis. Child Obes. 2018;14(4):207-217.

196. Blüher S, Panagiotou G, Petroff D, Markert J, Wagner A, Klemm T, et al. Effects of a 1-Year Exercise and Lifestyle Intervention on Irisin, Adipokines, and Inflammatory Markers in Obese Children. Obesity (Silver Spring). 2014;22(7):1701–8.
197. Tanaka Y, Shimanaka Y, Caddeo A, Kubo T, Mao Y, Kubota T, et al. LPIAT1/MBOAT7 depletion increases triglyceride synthesis fueled by high phosphatidylinositol turnover. Gut. 2021;70(1):180–93.
198. Hannun YA, Obeid LM. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. Nat Rev Mol Cell Biol. 2018;19(3):175–91.
199. Ramos-Molina B, Castellano-Castillo D, Alcaide-Torres J, Pastor O, de Luna Díaz R, Salas-Salvadó J, et al. Differential effects of restrictive and malabsorptive bariatric surgery procedures on the serum lipidome in obese subjects. J Clin Lipidol. 2018;12(6):1502–12.
200. Kayser BD, Lhomme M, Dao MC, Ichou F, Bouillot JL, Prifti E, et al. Serum lipidomics reveals early differential effects of gastric bypass compared with banding on phospholipids and sphingolipids independent of differences in weight loss. Int J Obes (Lond). 2017;41(6):917–25.
201. Bajnok L, Seres I, Varga Z, Jeges S, Peti A, Karanyi Z, et al. Relationship of endogenous hyperleptinemia to serum paraoxonase 1, cholesteryl ester transfer protein, and lecithin cholesterol acyltransferase in obese individuals. Metabolism. 2007;56(11):1542–9.
202. Mayneris-Perxachs J, Mousa A, Naderpoor N, Fernández-Real JM, de Courten B. Plasma Phospholipids with Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Dihydroceramides at the Crossroads of Iron Stores and Insulin Resistance. Mol Nutr Food Res. 2020;64(5):e1901055.
203. Colak E, Pap D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. J Med Biochem. 2021;40(1):1–9.
204. Rauschert S, Uhl O, Koletzko B, Kirchberg F, Mori TA, Huang RC, et al. Lipidomics Reveals Associations of Phospholipids With Obesity and Insulin Resistance in Young Adults. J Clin Endocrinol Metab. 2016;1;101(3):871–9.
205. Rong X, Wang B, Palladino EN, De Aguiar Vallim TQ, Ford DA, Tontonoz P. ER phospholipid composition modulates lipogenesis during feeding and in obesity. J Clin Invest. 2017;127(10):3640–51.

206. Chaurasia B, Talbot CL, Summers SA. Adipocyte Ceramides-The Nexus of Inflammation and Metabolic Disease. Front Immunol. 2020;11:576347.
207. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. Front Cardiovasc Med. 2020;7:22.
208. Huang CJ, McAllister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-Related Oxidative Stress: the Impact of Physical Activity and Diet Manipulation. Sports Med Open. 2015;1(1):32.
209. Bacopoulou F, Efthymiou V, Landis G, Rentoumis A, Chrousos GP. Waist circumference, waist-to-hip ratio and waist-to-height ratio reference percentiles for abdominal obesity among Greek adolescents. BMC Pediatr. 2015;15(1).
210. Nokoff N, Thurston J, Hilkin A, Pyle L, Zeitler PS, Nadeau KJ, et al. Sex Differences in Effects of Obesity on Reproductive Hormones and Glucose Metabolism in Early Puberty. J Clin Endocrinol Metab. 2019;104(10):4390–7.
211. Simó R, Barbosa-Desongles A, Lecube A, Hernandez C, Selva DM. Potential role of tumor necrosis factor-α in downregulating sex hormone-binding globulin. Diabetes. 2012;61(2):372–82.
212. Reinehr T, Roth CL. Is there a causal relationship between obesity and puberty? Lancet Child Adolesc Health. 2019;3(1):44-54.
213. Olza J, Gil-Campos M, Leis R, Rupérez AI, Tojo R, Cañete R, et al. A gene variant of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 is associated with obesity in children. Int J Obes. 2012;36(12):1558–63.
214. Wiegand S, Richardt A, Remer T, Wudy SA, Tomlinson JW, Hughes B, et al. Reduced 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in obese boys. Eur J Endocrinol. 2007;157(3):319–24.
215. Kim SH, Kim SE, Choi MH, Park MJ. Altered glucocorticoid metabolism in girls with central obesity. Mol Cell Endocrinol. 2021;527:111225.
216. Staab CA, Maser E. 11β-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 is an important regulator at the interface of obesity and inflammation. J Steroid Biochem Mol Biol. 2010;119(1–2):56–72.

217. Seckl JR, Walker BR. Minireview: 11-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1-A Tissue-Specific Amplifier of Glucocorticoid Action. Endocrinology. 2001;142(4):1371-6.
218. Desbriere R, Vuaroqueaux V, Achard V, Boullu-Ciocca S, Labuhn M, Dutour A, et al. 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 mRNA is Increased in Both Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue of Obese Patients. Obesity (Silver Spring). 2006;14(5):794–8.
219. Stewart PM, Boulton A, Kumar S, Clark PMS, Shackleton CHL. Cortisol metabolism in human obesity: impaired cortisone-->cortisol conversion in subjects with central adiposity. J Clin Endocrinol Metab. 1999;84(3):1022–7.
220. Li X, Lindquist S, Chen R, Myrnäs T, Angsten G, Olsson T, et al. Depot-specific messenger RNA expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and leptin in adipose tissue of children and adults. Int J Obes (Lond). 2007;31(5):820–8.
221. Zhu L, Hou M, Sun B, Burén J, Zhang L, Yi J, et al. Testosterone Stimulates Adipose Tissue 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Expression in a Depot-Specific Manner in Children. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(7):3300–8.
222. Svendsen PF, Madsbad S, Nilas L, Paulsen SK, Pedersen SB. Expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 in subcutaneous adipose tissue of lean and obese women with and without polycystic ovary syndrome. Int J Obes (Lond) [Internet]. 2009 [cited 2024 Dec 20];33(11):1249–56. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19704410/
223. Li Y, Huang X, Yang G, Xu K, Yin Y, Brecchia G, et al. CD36 favours fat sensing and transport to govern lipid metabolism. Prog Lipid Res. 2022;88:101193.
224. Chen H, Li YY, Nio K, Tang H. Unveiling the Impact of BMP9 in Liver Diseases: Insights into Pathogenesis and Therapeutic Potential. Biomolecules 2024;14(8):1013.
225. Xu X, Li X, Yang G, Li L, Hu W, Zhang L, et al. Circulating bone morphogenetic protein-9 in relation to metabolic syndrome and insulin resistance. Sci Rep. 2017;7(1):17529.

226. Wang Y, Ma C, Sun T, Ren L. Potential roles of bone morphogenetic protein-9 in glucose and lipid homeostasis. J Physiol Biochem. 2020;76(4):503-512.
227. Yang Z, Li P, Shang Q, Wang Y, He J, Ge S, et al. CRISPR-mediated BMP9 ablation promotes liver steatosis via the down-regulation of PPARα expression. Sci Adv. 2020;6(48):eabc5022.
228. Poher AL, Altirriba J, Veyrat-Durebex C, Rohner-Jeanrenaud F. Brown adipose tissue activity as a target for the treatment of obesity/insulin resistance. Front Physiol. 2015;6:4.
229. Um JH, Park SY, Hur JH, Lee HY, Jeong KH, Cho Y, et al. Bone morphogenic protein 9 is a novel thermogenic hepatokine secreted in response to cold exposure. Metabolism. 2022;129:155139.
230. Villarroya F, Cereijo R, Villarroya J, Giralt M. Brown adipose tissue as a secretory organ. Nat Rev Endocrinol. 2017;13(1):26–35.
231. Quesada-López T, Cereijo R, Turatsinze JV, Planavila A, Cairó M, Gavaldà-Navarro A, et al. The lipid sensor GPR120 promotes brown fat activation and FGF21 release from adipocytes. Nat Commun. 2016;7(1):1–17.
232. He Y, Zhang C, Luo Y, Chen J, Yang M, Li L, et al. Hypothalamic BMP9 suppresses glucose production by central PI3K/Akt/mTOR pathway. J Endocrinol. 2021;248(2):221–35.
233. Drexler S, Cai C, Hartmann AL, Moch D, Gaitantzi H, Ney T, et al. Intestinal BMP-9 locally upregulates FGF19 and is down-regulated in obese patients with diabetes. Mol Cell Endocrinol. 2023;570:111934.
234. Blázquez-Medela AM, Jumabay M, Boström KI. Beyond the bone: Bone morphogenetic protein signaling in adipose tissue. Obes Rev. 2019;20(5):648–58.
235. Barraco GM, Luciano R, Semeraro M, Prieto-Hontoria PL, Manco M. Recently discovered adipokines and cardio-metabolic comorbidities in childhood obesity. Int J Mol Sci. 2014;15(11):19760-76.
236. Reinehr T, Roth CL. Inflammation Markers in Type 2 Diabetes and the Metabolic Syndrome in the Pediatric Population. Curr Diab Rep. 2018;18(12).

237. Socha-Banasiak A, Michalak A, Pacześ K, Gaj Z, Fendler W, Socha A, et al. Klotho and fibroblast growth factors 19 and 21 serum concentrations in children and adolescents with normal body weight and obesity and their associations with metabolic parameters. BMC Pediatr. 2020;20(1):294.
238. Arking A, Sarver DC, Magge SN, Wong GW, Wolf RM. Novel Adipokines CTRP1, CTRP9, and FGF21 in Pediatric Type 1 and Type 2 Diabetes: A Cross-Sectional Analysis. Horm Res Paediatr. 2022;95(1):43–50.
239. Ruiz-Padilla AJ, Morales-Hernández G, Ruiz-Noa Y, Alonso-Castro AJ, Lazo-De-la-Vega-Monroy ML, del Carmen Preciado-Puga M, et al. Association of the 3'UTR polymorphism (rs11665896) in the FGF21 gene with metabolic status and nutrient intake in children with obesity. J Pediatr Endocrinol Metab. 2019;32(9):921–8.
240. Reinehr T, Woelfle J, Wunsch R, Roth CL. Fibroblast Growth Factor 21 (FGF-21) and Its Relation to Obesity, Metabolic Syndrome, and Nonalcoholic Fatty Liver in Children: A Longitudinal Analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(6):2143–50.
241. Spann RA, Morrison CD, den Hartigh LJ. The Nuanced Metabolic Functions of Endogenous FGF21 Depend on the Nature of the Stimulus, Tissue Source, and Experimental Model. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;12:802541.
242. Giannini C, Feldstein AE, Santoro N, Kim G, Kursawe R, Pierpont B, et al. Circulating Levels of FGF-21 in Obese Youth: Associations With Liver Fat Content and Markers of Liver Damage. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(7):2993.
243. Reinehr T, Karges B, Meissner T, Wiegand S, Stoffel-Wagner B, Holl RW, et al. Inflammatory Markers in Obese Adolescents with Type 2 Diabetes and Their Relationship to Hepatokines and Adipokines. J Pediatr. 2016;173:131–5.
244. Maffeis C, Morandi A, Zusi C, Olivieri F, Fornari E, Cavarzere P, et al. Hepatic lipogenesis marked by GCKR-modulated triglycerides increases serum FGF21 in children/teens with obesity. Diabetes Obes Metab. 2025;27(2):825-834.
245. Crudele L, Garcia-Irigoyen O, Cariello M, Piglionica M, Scialpi N, Florio M, et al. Total serum FGF-21 levels positively relate to visceral adiposity

differently from its functional intact form. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1159127.

246. Pyrżak B, Demkow U, Kucharska AM. Brown Adipose Tissue and Browning Agents: Irisin and FGF21 in the Development of Obesity in Children and Adolescents. Adv Exp Med Biol. 2015;866:25–34.
247. De Sousa-Coelho AL, Rodriguez-Rodriguez R, Softic S, Jonker JW, Relat J. Editorial: FGF21 as a therapeutic target for obesity and insulin resistance: from rodent models to humans. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1253675.
248. Wang Q, Yuan J, Yu Z, Lin L, Jiang Y, Cao Z, et al. FGF21 Attenuates High-Fat Diet-Induced Cognitive Impairment via Metabolic Regulation and Anti-inflammation of Obese Mice. Mol Neurobiol. 2018;55(6):4702–17.
249. Stinson SE, Jonsson AE, Andersen MK, Lund MAV, Holm LA, Fonvig CE, et al. High Plasma Levels of Soluble Lectin-like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1 Are Associated With Inflammation and Cardiometabolic Risk Profiles in Pediatric Overweight and Obesity. J Am Heart Assoc. 2023;12(3):e8145.
250. Munno M, Mallia A, Greco A, Modafferi G, Banfi C, Eligini S. Radical Oxygen Species, Oxidized Low-Density Lipoproteins, and Lectin-like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor 1: A Vicious Circle in Atherosclerotic Process. Antioxidants. 2024;13(5):583.
251. Khaidakov M, Mitra S, Kang BY, Wang X, Kadlubar S, Novelli G, et al. Oxidized LDL Receptor 1 (OLR1) as a Possible Link between Obesity, Dyslipidemia and Cancer. PLoS One. 2011;6(5):e20277.
252. Wakabayashi I, Shimomura T, Nakanishi M, Uchida K. Elevation of circulating LOX-1 ligand levels in Zucker obese and diabetic rats. Obes Res Clin Pract. 2015;9(1):26–30.
253. Chui PC, Guan HP, Lehrke M, Lazar MA. PPARγ regulates adipocyte cholesterol metabolism via oxidized LDL receptor 1. J Clin Invest. 2005;115(8):2244.
254. Ruiz-Roso MB, Gil-Zamorano J, López de las Hazas MC, Tomé-Carneiro J, Crespo MC, Latasa MJ, et al. Intestinal Lipid Metabolism Genes Regulated by miRNAs. Front Genet. 2020;11:707.

255. Ullah A, Singla RK, Batool Z, Cao D, Shen B. Pro- and anti-inflammatory cytokines are the game-changers in childhood obesity-associated metabolic disorders (diabetes and non-alcoholic fatty liver diseases). Rev Endocr Metab Disord. 2024;25(4):783–803.
256. Castoldi A, De Souza CN, Saraiva Câmara NO, Moraes-Vieira PM. The macrophage switch in obesity development. Front Immunol. 2016 5;6:637.
257. Han X, Li W, He X, Lu X, Zhang Y, Li Y, et al. Blockade of TGF-β signalling alleviates human adipose stem cell senescence induced by native ECM in obesity visceral white adipose tissue. Stem Cell Res Ther. 2023;14(1):291.
258. Bahn YJ, Wang Y, Dagur P, Scott N, Cero C, Long KT, et al. TGF-β antagonism synergizes with PPARγ agonism to reduce fibrosis and enhance beige adipogenesis. Mol Metab. 2024;90:102054.
259. Wankhade UD, Lee JH, Dagur PK, Yadav H, Shen M, Chen W, et al. TGF-β receptor 1 regulates progenitors that promote browning of white fat. Mol Metab. 2018;16:160–71.
260. Nam D, Guo B, Chatterjee S, Chen MH, Nelson D, Yechoor VK, et al. The adipocyte clock controls brown adipogenesis through the TGF-β and BMP signaling pathways. J Cell Sci. 2015;128(9):1835–47.
261. Singh R, Braga M, Pervin S. Regulation of brown adipocyte metabolism by myostatin/follistatin signaling. Front Cell Dev Biol. 2014;2:60.
262. Pervin S, Singh V, Tucker A, Collazo J, Singh R. Modulation of transforming growth factor-β/follistatin signaling and white adipose browning: therapeutic implications for obesity related disorders. Horm Mol Biol Clin Investig. 2017;31(2).
263. Barretto JR, Boa-Sorte N, Vinhaes CL, Malta-Santos H, Rebouças-Silva J, Ramos CF, et al. Heightened Plasma Levels of Transforming Growth Factor Beta (TGF-β) and Increased Degree of Systemic Biochemical Perturbation Characterizes Hepatic Steatosis in Overweight Pediatric Patients: A Cross-Sectional Study. Nutrients. 2020;12(6).
264. Nair B, Nath LR. Inevitable role of TGF-β1 in progression of nonalcoholic fatty liver disease. J Recept Signal Transduct Res. 2020;40(3):195–200.
265. Yadav H, Quijano C, Kamaraju AK, Gavrilova O, Malek R, Chen W, et al. Protection from obesity and diabetes by blockade of TGF-β/Smad3 signaling. Cell Metab. 2011;14(1):67–79.

266. Roy D, Modi A, Ghosh R, Ghosh R, Benito-León J. Visceral Adipose Tissue Molecular Networks and Regulatory microRNA in Pediatric Obesity: An In Silico Approach. Int J Mol Sci. 2022;23(19):11036.
267. Gilardini L, McTernan PG, Girola A, da Silva NF, Alberti L, Kumar S, et al. Adiponectin is a candidate marker of metabolic syndrome in obese children and adolescents. Atherosclerosis. 2006;189(2):401–7.
268. Jung C, Gerdes N, Fritzenwanger M, Figulla HR. Circulating levels of interleukin-1 family cytokines in overweight adolescents. Mediators Inflamm. 2010; 2010:958403.
269. Flisiak-Jackiewicz M, Bobrus-Chociej A, Tarasów E, Wojtkowska M, Białokoz-Kalinowska I, Lebensztejn DM. Predictive Role of Interleukin-18 in Liver Steatosis in Obese Children. Can J Gastroenterol Hepatol. 2018;2018:3870454.
270. Oluwagbemigun K, Buyken AE, Alexy U, Schmid M, Herder C, Nöthlings U. Developmental trajectories of body mass index from childhood into late adolescence and subsequent late adolescence-young adulthood cardiometabolic risk markers. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):9.
271. Zorrilla EP, Sánchez-Alavez M, Sugama S, Brennan M, Fernandez R, Bartfai T, et al. Interleukin-18 controls energy homeostasis by suppressing appetite and feed efficiency. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(26):11097–102.
272. Skurk T, Kolb H, Müller-Scholze S, Röhrig K, Hauner H, Herder C. The proatherogenic cytokine interleukin-18 is secreted by human adipocytes. Eur J Endocrinol. 2005;152(6):863–8.
273. Saito T, Murata M, Otani T, Tamemoto H, Kawakami M, Ishikawa SE. Association of subcutaneous and visceral fat mass with serum concentrations of adipokines in subjects with type 2 diabetes mellitus. Endocr J. 2012;59(1):39–45.
274. Thorand B, Kolb H, Baumert J, Koenig W, Chambless L, Meisinger C, et al. Elevated levels of interleukin-18 predict the development of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Study, 1984-2002. Diabetes. 2005 Oct;54(10):2932–8.

275. Wang AR, Yan XQ, Zhang C, Du CQ, Long WJ, Zhan D, et al. Characterization of Wnt1-inducible Signaling Pathway Protein-1 in Obese Children and Adolescents. Curr Med Sci. 2018;38(5):868–74.
276. Suazo J, Smalley SV, Hodgson MI, Weisstaub G, González A, Santos JL. Association between genetic polymorphisms of interleukin 6 (IL6), IL6R and IL18 with metabolic syndrome in obese Chilean children. Rev Med Chil. 2014;142(3):290–8.
277. Jefferis BJMH, Papacosta O, Owen CG, Wannamethee SG, Humphries SE, Woodward M, et al. Interleukin 18 and coronary heart disease: Prospective study and systematic review. Atherosclerosis. 2011;217(1):227–33.
278. Blankenberg S, Luc G, Ducimetière P, Arveiler D, Ferrières J, Amouyel P, et al. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). Circulation. 2003;108(20):2453–9.
279. Chitu V, Stanley ER. Colony-stimulating factor-1 in immunity and inflammation. Curr Opin Immunol. 2006;18(1):39–48.
280. Vitseva OI, Tanriverdi K, Tchkonia TT, Kirkland JL, McDonnell ME, Apovian CM, et al. Inducible Toll-like receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. Obesity (Silver Spring). 2008;16(5):932–7.
281. Sanchez-Infantes D, Stephens JM. Adipocyte Oncostatin Receptor Regulates Adipose Tissue Homeostasis and Inflammation. Front Immunol. 2021;11:612013.
282. Horner K, Lee S. Appetite-related peptides in childhood and adolescence: Role of ghrelin, PYY, and GLP-1. Appl Physiol Nutr Metab. 2015;40(11):1089-99.
283. Önnerfält J, Erlanson-Albertsson C, Montelius C, Thorngren-Jerneck K. Obese children aged 4–6 displayed decreased fasting and postprandial ghrelin levels in response to a test meal. Acta Paediatr. 2018;107(3):523–8.
284. Scerif M, Goldstone AP, Korbonits M. Ghrelin in obesity and endocrine diseases. Mol Cell Endocrinol. 2011;340(1):15–25.

285. Nguo K, Walker KZ, Bonham MP, Huggins CE. Systematic review and meta-analysis of the effect of meal intake on postprandial appetite-related gastrointestinal hormones in obese children. Int J Obes (Lond) 2016;40(4):555–63.
286. Nguo K, Bonham MP, Truby H, Barber E, Brown J, Huggins CE. Effect of Macronutrient Composition on Appetite Hormone Responses in Adolescents with Obesity. Nutrients. 2019;11(2):340.
287. Zhu JF, Liang L, Zou CC, Fu JF. Plasma ghrelin levels and polymorphisms of ghrelin gene in Chinese obese children and adolescents. Ir J Med Sci. 2010;179(3):345–9.
288. Van Name M, Giannini C, Santoro N, Jastreboff AM, Kubat J, Li F, et al. Blunted Suppression of Acyl-Ghrelin in Response to Fructose Ingestion in Obese Adolescents: the Role of Insulin Resistance. Obesity (Silver Spring). 2015;23(3):653.
289. Tyszkiewicz-Nwafor M, Jowik K, Dutkiewicz A, Krasinska A, Pytlinska N, Dmitrzak-Weglarz M, et al. Neuropeptide Y and Peptide YY in Association with Depressive Symptoms and Eating Behaviours in Adolescents across the Weight Spectrum: From Anorexia Nervosa to Obesity. Nutrients. 2021;13(2):598.
290. Stütz AM, Morrison CD, Argyropoulos G. The Agouti-related protein and its role in energy homeostasis. Peptides. 2005;26(10):1771-81.
291. Vehapoğlu A, Türkmen S, Terzioğlu Ş. Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone and Agouti-Related Protein: Do They Play a Role in Appetite Regulation in Childhood Obesity? J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2016;8(1):40.
292. Mead E, Brown T, Rees K, Azevedo LB, Whittaker V, Jones D, et al. Diet, physical activity and behavioural interventions for the treatment of overweight or obese children from the age of 6 to 11 years. Cochrane Database Syst Rev. 2017;6(6):CD012651.
293. Tomlinson JW, Moore JS, Clark PMS, Holder G, Shakespeare L, Stewart PM. Weight loss increases 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in human adipose tissue. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(6):2711–6.

294. Stomby A, Simonyte K, Mellberg C, Ryberg M, Stimson RH, Larsson C, et al. Diet-induced weight loss has chronic tissue-specific effects on glucocorticoid metabolism in overweight postmenopausal women. Int J Obes (Lond). 2015;39(5):814–9.
295. Akalestou E, Genser L, Rutter GA. Glucocorticoid Metabolism in Obesity and Following Weight Loss. Front Endocrinol (Lausanne). 2020;11:59.
296. Stimson RH, Johnstone AM, Homer NZM, Wake DJ, Morton NM, Andrew R, et al. Dietary macronutrient content alters cortisol metabolism independently of body weight changes in obese men. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(11):4480–4.
297. Pardina E, Baena-Fustegueras JA, Fort JM, Ferrer R, Rossell J, Esteve M, et al. Hepatic and visceral adipose tissue 11βHSD1 expressions are markers of body weight loss after bariatric surgery. Obesity (Silver Spring). 2015;23(9):1856–63.
298. Rask E, Simonyte K, Lönn L, Axelson M. Cortisol metabolism after weight loss: associations with 11 β-HSD type 1 and markers of obesity in women. Clin Endocrinol (Oxf). 2013;78(5):700–5.
299. Woods CP, Corrigan M, Gathercole L, Taylor A, Hughes B, Gaoatswe G, et al. Tissue specific regulation of glucocorticoids in severe obesity and the response to significant weight loss following bariatric surgery (BARICORT). J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(4):1434–44.
300. Šimonyte K, Olsson T, Näslund I, Angelhed JE, Lönn L, Mattsson C, et al. Weight loss after gastric bypass surgery in women is followed by a metabolically favorable decrease in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 expression in subcutaneous adipose tissue. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(7):3527–31.
301. Kim S, Choe S, Lee DK. BMP-9 enhances fibroblast growth factor 21 expression and suppresses obesity. Biochim Biophys Acta. 2016;1862(7):1237–46.
302. Bolton J, Montastier E, Carayol J, Bonnel S, Mir L, Marques MA, et al. Molecular Biomarkers for Weight Control in Obese Individuals Subjected to a Multiphase Dietary Intervention. J Clin Endocrinol Metab. 2017;102(8):2751–61.

303. Mendes NF, Gaspar JM, Lima-Júnior JC, Donato J, Velloso LA, Araújo EP. TGF-β1 down-regulation in the mediobasal hypothalamus attenuates hypothalamic inflammation and protects against diet-induced obesity. Metabolism. 2018;85:171–82.
304. Silva VRR, Lenhare L, Katashima CK, Morari J, M-Assis A, Gaspar RS, et al. TGF-β1 downregulation in the hypothalamus of obese mice through acute exercise. J Cell Biochem. 2019;120(10):18186–92.
305. Silva VRR, Katashima CK, Lenhare L, Silva CGB, Morari J, Camargo RL, et al. Chronic exercise reduces hypothalamic transforming growth factor-β1 in middle-aged obese mice. Aging (Albany NY). 2017;9(8):1926–40.
306. He W, Wang H, Yang G, Zhu L, Liu X. The Role of Chemokines in Obesity and Exercise-Induced Weight Loss. Biomolecules. 2024;14(9):1121.
307. Maggio ABR, Farpour-Lambert NJ, Aggoun Y, Galan K, Montecucco F, Mach F, et al. Serum cardiovascular risk biomarkers in pre-pubertal obese children. Eur J Clin Invest. 2018;48(9):e12995.
308. Rainone V, Schneider L, Saulle I, Ricci C, Biasin M, Al-Daghri NM, et al. Upregulation of inflammasome activity and increased gut permeability are associated with obesity in children and adolescents. Int J Obes (Lond). 2016;40(6):1026–33.
309. Madowitz J, Knatz S, Maginot T, Crow SJ, Boutelle KN. Analysis of adipokine concentrations in paediatric non-alcoholic fatty liver disease. Pediatr Obes. 2012;7(6):446–52.
310. Cura–Esquivel I, Perales-Quintana MM, Torres-González L, Guzmán-Avilán K, Muñoz-Espinosa L, Cordero-Pérez P. Metabolic, inflammatory and adipokine differences on overweight/obese children with and without metabolic syndrome: A cross-sectional study. PLoS One. 2023;18(3):e0281381.
311. Rivera P, Martos-Moreno G, Barrios V, Suárez J, Pavón FJ, Chowen JA, et al. A novel approach to childhood obesity: circulating chemokines and growth factors as biomarkers of insulin resistance. Pediatr Obes. 2019;14(3):e12473.
312. Peña A, Olson ML, Ayers SL, Sears DD, Vega-López S, Colburn AT, et al. Inflammatory Mediators and Type 2 Diabetes Risk Factors before and in

Response to Lifestyle Intervention among Latino Adolescents with Obesity. Nutrients. 2023;15(11):2442.

313. Samaan MC, Obeid J, Nguyen T, Thabane L, Timmons BW. Chemokine (C-C motif) Ligand 2 is a potential biomarker of inflammation & physical fitness in obese children: a cross-sectional study. BMC Pediatr. 2013;13:47.
314. Ishii M, Araki S, Goto M, Yamamoto Y, Kusuhara K. CCL2 level is elevated with metabolic syndrome and CXCL10 level is correlated with visceral fat area in obese children. Endocr J. 2016;63(9):795–804.
315. Carlin JL, Grissom N, Ying Z, Gomez-Pinilla F, Reyes TM. Voluntary exercise blocks Western diet-induced gene expression of the chemokines CXCL10 and CCL2 in the prefrontal cortex. Brain Behav Immun. 2016;58:82–90.
316. Rajasekaran M, Sul OJ, Choi EK, Kim JE, Suh JH, Choi HS. MCP-1 deficiency enhances browning of adipose tissue via increased M2 polarization. J Endocrinol. 2019;242(2):91–101.
317. Flórez CAR, García-Perdomo HA, Escudero MM. MicroRNAs Associated with Overweight and Obesity in Childhood: A Systematic Review. MicroRNA. 2019 Dec 9;9(4):255–65.
318. Eskandari M, Moghadam BH, Bagheri R, Ashtary-Larky D, Eskandari E, Nordvall M, et al. Effects of Interval Jump Rope Exercise Combined with Dark Chocolate Supplementation on Inflammatory Adipokine, Cytokine Concentrations, and Body Composition in Obese Adolescent Boys. Nutrients. 2020;12(10):1–16.
319. De Santis S, Crupi P, Piacente L, Mestice A, Colabufo NA, Amodio L, et al. Extra virgin olive oil extract rich in secoiridoids induces an anti-inflammatory profile in peripheral blood mononuclear cells from obese children. Front Nutr. 2022;9:1017090.
320. Trøseid M, Lappegård KT, Claudi T, Damås JK, Mørkrid L, Brendberg R, et al. Exercise reduces plasma levels of the chemokines MCP-1 and IL-8 in subjects with the metabolic syndrome. Eur Heart J. 2004;25(4):349–55.
321. Li N, Shi H, Guo Q, Gan Y, Zhang Y, Jia J, et al. Aerobic Exercise Prevents Chronic Inflammation and Insulin Resistance in Skeletal Muscle of High-Fat Diet Mice. Nutrients. 2022;14(18):3730.

322. Zhu Q, An YA, Kim M, Zhang Z, Zhao S, Zhu Y, et al. Suppressing adipocyte inflammation promotes insulin resistance in mice. Mol Metab. 2020;39:101010.
323. Gueugnon C, Mougin F, Nguyen NU, Bouhaddi M, Nicolet-Guénat M, Dumoulin G. Ghrelin and PYY levels in adolescents with severe obesity: effects of weight loss induced by long-term exercise training and modified food habits. Eur J Appl Physiol. 2012;112(5):1797–805.
324. Kelishadi R, Hashemipour M, Mohammadifard N, Alikhassy H, Adeli K. Short- and long-term relationships of serum ghrelin with changes in body composition and the metabolic syndrome in prepubescent obese children following two different weight loss programmes. Clin Endocrinol (Oxf). 2008;69(5):721–9.
325. Zou CC, Liang L, Wang CL, Fu JF, Zhao ZY. The change in ghrelin and obestatin levels in obese children after weight reduction. Acta Paediatr. 2009;98(1):159–65.
326. Nitsche H, Nitsche M, Sudi K, Tschop M, Zotter H, Weinhandl G, et al. Ghrelin-an indicator for fat oxidation in obese children and adolescents during a weight reduction program. J Pediatr Endocrinol Metab. 2007;20(6):719–23.
327. Soriano-Guillén L, Barrios V, Campos-Barros Á, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. J Pediatr [Internet]. 2004 [cited 2024 Dec 19];144(1):36–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14722516/
328. Prado WL, Lofrano-Prado MC, Oyama LM, Cardel M, Gomes PP, Andrade MLSS, et al. Effect of a 12-Week Low vs. High Intensity Aerobic Exercise Training on Appetite-Regulating Hormones in Obese Adolescents: A Randomized Exercise Intervention Study. Pediatr Exerc Sci. 2015;27(4):510–7.
329. Hart CN, Carskadon MA, Considine R V, Fava JL, Lawton J, Raynor HA, et al. Changes in children's sleep duration on food intake, weight, and leptin. Pediatrics. 2013;132(6):e1473-80.
330. Prado WL, Oyama LM, Lofrano-Prado MC, De Piano A, Stella SG, Nascimento CMO, et al. Alterations in downstream mediators involved in

central control of eating behavior in obese adolescents submitted to a multidisciplinary therapy. J Adolesc Health. 2011;49(3):300–5.

331. Shevchnko Y, Mamontova T, Baranova A, Vesnina L, Kaidahev I. Changes in lifestyle factors affect the levels of neuropeptides, involved in the control of eating behavior, insulin resistance and level of chronic systemic inflammation in young overweight persons. Georgian Med News. 2015;(248):50-7
332. Carnier J, Mello MT de, Ackel-Ďelia C, Corgosinho FC, da Silveira Campos RM, de Lima Sanches P, et al. Aerobic training (AT) is more effective than aerobic plus resistance training (AT+RT) to improve anorexigenic/orexigenic factors in obese adolescents. Appetite. 2013;69:168–73.
333. Kravchychyn ACP, Campos RM da S, Oliveira e Silva L, Ferreira YAM, Corgosinho FC, Masquio DCL, et al. Adipocytokine and appetite-regulating hormone response to weight loss in adolescents with obesity: Impact of weight loss magnitude. Nutrition. 2021;87–88:111188.
334. Dâmaso AR, De Piano A, Sanches PL, Corgosinho F, Tock L, Oyama LM, et al. Hyperleptinemia in obese adolescents deregulates neuropeptides during weight loss. Peptides (NY). 2011;32(7):1384–91.
335. de Piano A, Tock L, Carnier J, Oyama LM, Oller do Nascimento CM, Martinz AC, et al. Negative correlation between neuropeptide Y/agouti-related protein concentration and adiponectinemia in nonalcoholic fatty liver disease obese adolescents submitted to a long-term interdisciplinary therapy. Metabolism. 2010;59(5):613–9.
336. Corgosinho FC, Almeida SS, Tock L, Pesquero JB, Araújo RC, Clemente APG, et al. LEPR polymorphism may affect energy balance during weight loss among Brazilians obese adolescents. Neuropeptides. 2017;66:18–24.
337. Muppalla SK, Vuppalapati S, Reddy Pulliahgaru A, Sreenivasulu H. Effects of Excessive Screen Time on Child Development: An Updated Review and Strategies for Management. Cureus. 2023;15(6):e40608.
338. Julian V, Ring-Dimitriou S, Wyszyńska J, Mazur A, Matlosz P, Frelut ML, et al. There Is a Clinical Need to Consider the Physical Activity: Sedentary Pattern in Children with Obesity - Position Paper of the European Childhood Obesity Group. Ann Nutr Metab. 2022;78(4):236–41.

339. Barnett TA, Kelly CAS, Young DR, Perry CK, Pratt CA, Edwards NM, et al. Sedentary Behaviors in Today's Youth: Approaches to the Prevention and Management of Childhood Obesity: A Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation. 2018;138(11):e142–59.
340. Fletcher E, Leech R, Mcnaughton SA, Dunstan DW, Lacy KE, Salmon J. Is the relationship between sedentary behaviour and cardiometabolic health in adolescents independent of dietary intake? A systematic review. Obes Rev. 2015;16(9):795–805.
341. Marsh S, Ni Mhurchu C, Maddison R. The non-advertising effects of screen-based sedentary activities on acute eating behaviours in children, adolescents, and young adults. A systematic review. Appetite. 2013;71:259–73.
342. Santaliestra-Pasias AM, Mouratidou T, Reisch L, Pigeot I, Ahrens W, Mårild S, et al. Clustering of lifestyle behaviours and relation to body composition in European children. The IDEFICS study. Eur J Clin Nutr. 2015 Jul 2;69(7):811–6.
343. Sayin FK, Buyukinan M. Sleep Duration and Media Time Have a Major Impact on Insulin Resistance and Metabolic Risk Factors in Obese Children and Adolescents. Child Obes. 2016;12(4):272–8.
344. Adamo KB, Prince SA, Tricco AC, Connor-Gorber S, Tremblay M. A comparison of indirect versus direct measures for assessing physical activity in the pediatric population: a systematic review. Int J Pediatr Obes. 2009;4(1):2–27.
345. Kanellopoulou A, Diamantis D V., Notara V, Panagiotakos DB. Extracurricular Sports Participation and Sedentary Behavior in Association with Dietary Habits and Obesity Risk in Children and Adolescents and the Role of Family Structure: a Literature Review. Curr Nutr Rep. 2021;10(1):1-11.
346. Ruan H, Xun P, Cai W, He K, Tang Q. Habitual Sleep Duration and Risk of Childhood Obesity: Systematic Review and Dose-response Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. Sci Rep. 2015;5:16160.
347. Kjeldsen JS, Hjorth MF, Andersen R, Michaelsen KF, Tetens I, Astrup A, et al. Short sleep duration and large variability in sleep duration are

independently associated with dietary risk factors for obesity in Danish school children. Int J Obes (Lond). 2014;38(1):32–9.

348. Kurube CMF, Widjaja NA, Ardianah E. Sleep duration and insulin resistance in obese adolescents with metabolic syndrome: is there a correlation? Acta Biomed. 2023;94(4):e2023079.
349. Navarro-Solera M, Carrasco-Luna J, Pin-Arboledas G, González-Carrascosa R, Soriano JM, Codoñer-Franch P. Short Sleep Duration Is Related to Emerging Cardiovascular Risk Factors in Obese Children. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2015;61(5):571–6.
350. Gebremariam MK, Altenburg TM, Lakerveld J, Andersen LF, Stronks K, Chinapaw MJ, et al. Associations between socioeconomic position and correlates of sedentary behaviour among youth: a systematic review. Obes Rev. 2015;16(11):988–1000.
351. Hemmingsson E. Early Childhood Obesity Risk Factors: Socioeconomic Adversity, Family Dysfunction, Offspring Distress, and Junk Food Self-Medication. Curr Obes Rep. 2018;7(2):204–9.
352. Majmudar D, East P, Martinez S, Blanco E, Lozoff B, Burrows R, et al. Associations between adverse home environments and appetite hormones, adipokines, and adiposity among Chilean adolescents. Clin Obes. 2022;12(1):e12488.
353. Calcaterra V, Verduci E, Milanta C, Agostinelli M, Bona F, Croce S, et al. The Benefits of the Mediterranean Diet on Inflamm-Aging in Childhood Obesity. Nutrients. 2024;16(9):1286.
354. D'innocenzo S, Biagi C, Lanari M. Obesity and the Mediterranean Diet: A Review of Evidence of the Role and Sustainability of the Mediterranean Diet. Nutrients. 2019;11(6):1306.
355. Calcaterra V, Cena H, Rossi V, Santero S, Bianchi A, Zuccotti G. Ultra-Processed Food, Reward System and Childhood Obesity. Children (Basel). 2023;10(5):804.
356. Mazarello Paes V, Hesketh K, O'Malley C, Moore H, Summerbell C, Griffin S, et al. Determinants of sugar-sweetened beverage consumption in young children: a systematic review. Obes Rev. 2015;16(11):903–13.

357. Zhang P, Tang X, Peng X, Hao G, Luo S, Liang X. Effect of screen time intervention on obesity among children and adolescent: A meta-analysis of randomized controlled studies. Prev Med. 2022;157:107014.
358. Lamboglia CMGF, Silva VTBL Da, Vasconcelos Filho JE De, Pinheiro MHNP, Munguba MCDS, Silva Júnior FVI, et al. Exergaming as a strategic tool in the fight against childhood obesity: a systematic review. J Obes. 2013;2013:438364.
359. LeBlanc AG, Chaput JP, McFarlane A, Colley RC, Thivel D, Biddle SJH, et al. Active video games and health indicators in children and youth: a systematic review. PLoS One. 2013;8(6):e65351.
360. Grammer AC, Balantekin KN, Barch DM, Markson L, Wilfley DE. Parent-Child influences on child eating self-regulation and weight in early childhood: A systematic review. Appetite. 2022;168:105733.
361. Xu H, Wen LM, Rissel C. Associations of parental influences with physical activity and screen time among young children: a systematic review. J Obes. 2015;2015 :546925.
362. Fruh S, Williams S, Hayes K, Hauff C, Hudson GM, Sittig S, et al. A practical approach to obesity prevention: Healthy home habits. J Am Assoc Nurse Pract. 2021;33(11):1055–65.
363. Bourke M, Whittaker PJ, Verma A. Are dietary interventions effective at increasing fruit and vegetable consumption among overweight children? A systematic review. J Epidemiol Community Health. 2014;68(5):485–90.
364. Pereira AR, Oliveira A. Dietary Interventions to Prevent Childhood Obesity: A Literature Review. Nutrients. 2021;13(10):3447.

ANEXOS

nutrients

MDPI

Article

Lipidome Profiling in Childhood Obesity Compared to Adults: A Pilot Study

Andrea Soria-Gondek [1,†], Pablo Fernández-García [2,†], Lorena González [3], Marjorie Reyes-Farias [3,4], Marta Murillo [5], Aina Valls [5], Natividad Real [6], Silvia Pellitero [7], Jordi Tarascó [8], Benjamin Jenkins [9], María Galán [2], Francesc Villarroya [10,11], Albert Koulman [9], Patricia Corrales [2], Antonio Vidal-Puig [12], Rubén Cereijo [10,11,13,*] and David Sánchez-Infantes [2,3,11,*]

1 Pediatric Surgery Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Spain; andreasoriagondek@gmail.com
2 Department of Health Sciences, Campus Alcorcón, University Rey Juan Carlos (URJC), 28922 Madrid, Spain; pablo.fernandezga@urjc.es (P.F.-G.); mgalana@urjc.es (M.G.); patricia.corrales@urjc.es (P.C.)
3 Fundació Institut Germans Trias i Pujol, 08916 Barcelona, Spain; lorenagl.lorena@gmail.com (L.G.); marjorie.reyesfarias@ub.edu (M.R.-F.)
4 Department of Biochemistry and Physiology, School of Pharmacy and Food Sciences, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB), Universitat de Barcelona, 08028 Barcelona, Spain
5 Pediatric Endocrinology Unit, Pediatric Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Spain; mmurillo.germanstrias@gencat.cat (M.M.); ainavalls@hotmail.com (A.V.)
6 Pediatric Nurse, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Spain; nereal.germanstrias@gencat.cat
7 Endocrinology Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Spain; spellitero.germanstrias@gencat.cat
8 General Surgery Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Spain; jtarasco@me.com
9 NIHR BRC Core Metabolomics and Lipidomics Laboratory, Metabolic Research Laboratories, Institute of Metabolic Science, University of Cambridge, Cambridge CB2 1GG, UK; bjj25@medschl.cam.ac.uk (B.J.); ak675@medschl.cam.ac.uk (A.K.)
10 Biochemistry and Molecular Biomedicine Department, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB), 08028 Barcelona, Spain; fvillarroya@ub.edu
11 Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERobn), 28029 Madrid, Spain
12 Institute of Metabolic Science, Addenbrooke's Hospital, University of Cambridge, Cambridge CB2 1GG, UK; ajv22@medschl.cam.ac.uk
13 Institut de Recerca Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 08041 Barcelona, Spain
* Correspondence: rcereijo@ub.edu (R.C.); david.sanchezi@urjc.es (D.S.-I.); Tel.: +34-914888882 (D.S.-I.)
† These authors contributed equally to this work.

Abstract: The objective is to assess the circulating lipidome of children with obesity before and after lifestyle intervention and to compare the data to the circulating lipidome of adults with obesity before and after bariatric surgery. Ten pediatric (PE) and thirty adult (AD) patients with obesity were prospectively recruited at a referral single center. The PE cohort received lifestyle recommendations. The AD cohort underwent bariatric surgery. Clinical parameters and lipidome were analyzed in serum before and after six months of metabolic intervention. The abundance of phosphatidylinositols in the PE cohort and phosphatidylcholines in the AD significantly increased, while O-phosphatidylserines in the PE cohort and diacyl/triacylglycerols in the AD decreased. Fifteen lipid species were coincident in both groups after lifestyle intervention and bariatric surgery. Five species of phosphatidylinositols, sphingomyelins, and cholesteryl esters were upregulated. Eight species of diacylglycerols, glycerophosphoglycerols, glycerophosphoethanolamines, and phosphatidylcholines were downregulated. Most matching species were regulated in the same direction except for two phosphatidylinositols: PI(O-36:2) and PI(O-34:0). A specific set of lipid species regulated after bariatric surgery in adult individuals was also modulated in children undergoing lifestyle intervention, suggesting they may constitute a core circulating lipid profile signature indicative of early development of obesity and improvement after clinical interventions regardless of individual age.

check for updates

Citation: Soria-Gondek, A.; Fernández-García, P.; González, L.; Reyes-Farias, M.; Murillo, M.; Valls, A.; Real, N.; Pellitero, S.; Tarascó, J.; Jenkins, B.; et al. Lipidome Profiling in Childhood Obesity Compared to Adults: A Pilot Study. *Nutrients* **2023**, *15*, 3341. https://doi.org/10.3390/nu15153341

Academic Editor: Ashley J. Snider

Received: 22 June 2023
Revised: 13 July 2023
Accepted: 25 July 2023
Published: 27 July 2023

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Keywords: lipidomics; childhood obesity; bariatric surgery

1. Introduction

Nowadays, 2.1 billion people worldwide are affected by obesity and/or overweight [1]. In the context of this pandemic, global prevalence of obesity/overweight in children has increased tenfold in the past 40 years [2]. The decreasing age for the onset of obesity and obesity-related metabolic abnormalities such as cardiovascular disease (CVD), type 2 diabetes mellitus (T2DM), and premature death [3,4] has alarming negative public health implications [5,6], thus compelling the need for scientific research on childhood obesity.

Lipidomics is a relatively recent research technology that involves identifying and quantifying the thousands of cellular lipid molecular species and their interaction with other metabolites. Lipids represent approximately 50% of the mass of most animal cell membranes [7] and play a vital role as substrates for energy production and efficient storage [8], regulation and signaling [9,10], and membrane biophysical properties [11]. The lipidomic profile of adipose tissue has been shown to be depot-specific. In homeostatic conditions, the cell membranes and lipid droplets of adipocytes maintain remarkable control of their composition through specific mechanisms despite being exposed to high-fat diet, cold, or exercise [12,13]. Conversely, obesity involves quantitative and qualitative changes in human lipidic composition. When overloaded, adipocytes lose the ability to properly conduct lipid-storing functions [14], leading to ectopic lipid accumulation in the skeletal muscle, liver, pancreatic beta cells, or vascular walls [15]. This lipotoxicity leads to alterations in signaling pathways and allostatic responses to maintain energy homeostasis responsible for insulin resistance and other obesity-related complications [16,17]. Furthermore, obesity induces characteristic changes in serum lipid composition related to the pathogenesis of metabolic alterations [18–21]. Most of the available literature focuses on the metabolic alterations of adult obesity, but pathogenic mechanisms of childhood obesity warrant further investigation.

Here, we aimed to assess the circulating lipidome of children with obesity before and after lifestyle intervention, generating for the first time a lipidomic signature profile on the changes caused by that. Lipidomics of adults with obesity after bariatric surgery, which has been extensively studied before, was added as a reference baseline to assess possible differences and similarities between both approaches. We posited that coincident changes in lipid species of children and adults with obesity before and after their respective interventions should be further studied as potential molecules involved in the early development of obesity and lipotoxicity.

2. Methods

2.1. Study Cohorts

2.1.1. Pediatric (PE) Cohort

Pediatric obesity was defined as BMI percentile ≥95th% for age- and sex-matching reference populations [22]. To enter the study, the pediatric patients and their families had to give their consent for the entire study protocol. Ten pediatric patients with obesity (age range 10–18) were recruited and received diet and lifestyle recommendations, the first-line treatment of pediatric obesity according to current national guidelines [23]. We must take into account that in order to participate in this study, the pediatric patients and their families had to accept two conditions exclusively linked to this study. Firstly, they had to agree to undergo two blood tests that had not been performed outside the study context. Secondly, they had to commit to coming to the clinic in person every month. This requirement primarily affected families with a low socioeconomic status, as they could not afford to come to the clinic on a monthly basis due to personal, family, and work-related reasons. These two requirements explain why out of the 25 potential patients, only 10 could

be recruited. Nine out of ten pediatric patients were over 11 years old, of which eight were over 13 years old. Of the sample, 90% of patients had reached pubertal status.

The PE cohort received a protocolled diet, exercise, and lifestyle recommendations (Supplementary File S1) and underwent monthly follow-up visits to monitor the changes in lifestyle habits and to work on positive reinforcement. During the follow-up visits, a pediatric endocrinologist and a pediatric nutritionist conducted a standardized interview about self-reported dietary intake and exercise (Supplementary File S2). Clinical data (demographics and anthropometrics) before (0 M) and after (6 M) the lifestyle intervention were retrieved from routinely conducted clinical measurement databases. Characteristics of the PE cohort are indicated in Table 1.

Table 1. Comparison of anthropometrics, demographics, and clinical data between pediatric and adult cohorts at 0 M and 6 M. Quantitative variables are expressed as means and standard deviation (normal distribution) or median and range (non-normal distribution) and the qualitative values as percentages. A *p*-value less than 0.05 was considered as significant (indicated in bold font). Chi-square test, Fisher's exact test, Student's t test, and Wilcoxon rank sum test were used to analyze the data when appropriate.

	Pediatric (Total *n* = 10)			**Adult (Total *n* = 30)**		
	***n* (%) [CI]**			***n* (%) [CI]**		
Male/female sex	7/3 (70/30)			9/21 (33.3/66.7)		
Sleeve gastrectomy	0 (0)			13 (43.3) [29.9; 70.1]		
Roux-en-Y gastric bypass	0 (0)			17 (56.7) [29.9; 70.1]		
	mean (sd)			**mean (sd)**		
Age (years)	14 (2.3)			51.2 (9.3)		
	Pediatric (Total *n* = 10)		***p*-value**	**Adult (Total *n* = 30)**		***p*-Value**
	mean (sd)	**mean (sd)**		**mean (sd)**	**mean (sd)**	
	T0	T6		T0	T6	
Height (cm)	160 (10)	160 (10)	0.72	170 (10)	170 (10)	
Weight (kg)	86 (21.3)	83.5 (22.1)	0.42	118.4 (23.3)	87.9 (14.8)	**<0.001**
Waist circumference (cm)	111.6 (11)	110 (14)	0.86	133.8 (13.6)	106.5 (12.4)	**<0.001**
BMI (kg/m^2) range	34 (5.5) (27.5–43.3)	33.1 (6.1) (25.8–42.8)	0.36	43.2 (5.5) (36.5–65)	32.1 (3.4) (25.3–42.1)	**<0.001**
Glucose (mg/dL)	88.1 (5.7)	87.6 (4.8)	1	101.1 (26.7)	88.4 (10.5)	**0.01**
Insulin (mUI/L)	17.6 (7)	16.5 (6)	0.85	8.9 (7.2)	6.7 (2.4)	0.27
HbA1c (mmol/mol)	33.3 (1.3)	33.3 (1.3)	0.75	37 (8.6)	33.5 (3)	**<0.001**
HOMA-IR	3.9 (1.7)	3.5 (1.3)	0.56	2.4 (2.6)	1.5 (0.6)	0.1
Urea (mg/dL)	27.1 (4)	27.6 (6.5)	0.65	29.8 (16.3)	30.9 (9.1)	**0.03**
Creatinine (mg/dL)	0.6 (0.1)	0.7 (0.1)	0.15	0.8 (0.2)	0.7 (0.1)	0.19
AST (IU/L)	24.8 (10.2)	24.5 (7.8)	1	44.5 (18.4)	21.2 (5.5)	**0.008**
ALT (IU/L)	33.1 (30.3)	23.6 (19.6)	0.19	29.4 (16.4)	21.1 (10.3)	**0.006**

Table 1. *Cont.*

	Pediatric (Total *n* = 10)		*p*-Value	Adult (Total *n* = 30)		*p*-Value
	mean (sd)	mean (sd)		mean (sd)	mean (sd)	
GGT (IU/L)	16.8 (4.0)	16.5 (3.1)	0.76	29.3 (28.7)	21.3 (20)	**<0.001**
TG (mg/dL)	119.4 (53.2)	103.3 (33.6)	0.23	129.8 (41)	86.6 (25.6)	**<0.001**
LDL-c (mg/dL)	114.9 (28.6)	105.4 (24.2)	**0.04**	85.9 (31.4)	107.5 (26.6)	**<0.001**
HDL-c (mg/dL)	43.9 (9.7)	45.4 (8.7)	0.39	37.9 (9.7)	49 (18.3)	**<0.001**
Cholesterol (mg/dL)	177.2 (38.6)	171.1 (32.1)	0.44	149 (38.1)	170.1 (33.1)	**0.005**
Total protein (g/L)	73.4 (4.1)	74.8 (4.5)	0.72	65.2 (12.7)	66.8 (3.9)	0.65
FLI	79.2 (16.0)	75.7 (18.7)	0.29	97.0 (2.6)	61.5 (21.1)	**<0.001**

2.1.2. The Adult (AD) Cohort

Thirty adult patients with obesity (age range 18–65) underwent bariatric metabolic surgery, either sleeve gastrectomy or Roux-en-Y gastric bypass. Clinical data (demographics and anthropometrics) before (0 M) and after six months (6 M) of the surgical intervention were retrieved from routinely conducted follow-up clinical measurements (Supplementary File S2). Characteristics of the AD cohort are indicated in Table 1 as well.

2.2. Ethical Statement

The Institutional Ethics Committee (Germans Trias i Pujol CEIC), in accordance with the Declaration of Helsinki, approved the study (code PI17/01455 and PI20/00807). All participants gave their written informed consent before collecting clinical data and samples.

2.3. Serum Measurements

Serum samples were drawn after a 12 h fasting period at 0 M and 6 M from PE and AD cohorts to run a blood chemistry panel and a circulating lipid profile. The 0 M–6 M PE and 6 M AD samples were taken at the clinic. The 0 M AD samples were taken on the date of surgery. Insulin, glucose, HOMA-IR (homeostatic model assessment insulin resistance), glycated hemoglobin (HbA1c), urea, creatinine, AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), GGT (gamma-glutamyl transpeptidase), TG (triglycerides), cholesterol, HDL-c (high-density lipoprotein-cholesterol), LDL-c (low-density lipoprotein-cholesterol), and total protein were measured in the core clinical laboratory at the hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain. The fatty liver index (FLI) was calculated with the following formula (*WC*: waist circumference):

$$FLI = \frac{e^{0.953 \cdot \ln(TG) + 0.139 \cdot BMI + 0.718 \cdot \ln(GGT) + 0.053(WC) - 15.754}}{1 + e^{0.953 \cdot \ln(TG) + 0.139 \cdot BMI + 0.718 \cdot \ln(GGT) + 0.053(WC) - 15.754}} \cdot 100$$

Analyses of the lipidomes in these samples were performed at the same time in all serum samples from PE and AD cohorts as follows.

2.4. Lipid Extraction

The phospholipid, triglyceride, and sterol fractions were isolated together using a recently reported method. Briefly, dried blood spot samples were placed along with blank and quality control samples (QCs) in the wells of a glass-coated 2.4 mL/well ninety-six-well plate (96 w plate; Plate+™, Esslab, Hadleigh, UK). Water (100 µL, MilliQ) was added to each of the wells, followed by methanol (250 µL, HPLC grade, spiked with

0.6 µM 1,2 di-O-octadecyl-sn-glycero-3-phosphocholine, 1.2 µM 1,2-di-O-phytanyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, 0.6 µM C8-ceramide, 0·6 µM *n*-heptadecanoyl-d-erythro-sphingosylphosporylcholine, 6.2 µM undecanoic acid, 0.6 µM trilaurin), followed by tert-butyl methyl ether (TMBE, 500 µL). The plates were then sealed (aluminium microplate sealing tape), agitated (10 min, 600 rpm), and centrifuged for 10 min at 3200 g. A 96-head micro-dispenser was used to transfer 200 µL of the organic solution to a glass-coated 240 µL 96 w plate (Plate+™, Esslab, Hadleigh, UK). The plate was transferred to a Genevac EZ-2 evaporator (Genevac Ltd., Ipswich, UK) and dried. The samples were reconstituted (TBME, 25 µL and MS-mix [7.5 mM ammonium acetate in IPA:CH3OH (2:1)], 90 µL) using a Hydra Matrix, after which the plate was sealed and stored at −20 °C.

2.5. Mass Spectrometry

All samples were infused into an Exactive Orbitrap (Thermo, Hemel Hampstead, UK), using a Triversa Nanomate (Advion, Ithaca, NY, USA) and a mass resolution of 100,000 [24]. Samples were ionized at 1.2 kV. The Exactive started acquiring data 20 s after sample aspiration began. The phospholipid and triglyceride signals obtained were relative abundance ('semi-quantitative'), with the signal intensity of each lipid expressed relative to the total lipid signal intensity, for each individual, per cent (%). Raw high-resolution mass-spectrometry data were processed using XCMS (www.bioconductor.org) and Peakpicker v 2.0 (an in-house R script). Quality control was based on a previously published approach [25]. Lipid signals that were not reliably detectable or did not show a linear response were removed. Lipid signals that were present in fewer than 80% of all QC samples or that had a poor correlation with concentration within the dilution range of QC samples (Pearson correlation $r < 0.95$) were removed. The coefficient of variation (CV) for each lipid signal was then determined and all lipids with CVs of more than 25% were omitted.

3. Statistical Methods

3.1. Descriptive Analyses

Clinical data from PE and AD cohorts at 0 M and 6 M were analyzed. Data normality for each subset was assessed with the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnoff tests. The presence of outliers was assessed for all variables, time points, age groups, and differences with the ROUT method. Paired Student's *t* (for parametrically distributed variables) or Wilcoxon signed rank (non-parametrically distributed) tests were used for the comparison of paired data. A p-value < 0.05 was set as the statistical significance threshold. For categorical variables, frequencies (total and percentage) and exact 95% confidence interval were calculated, and statistical significance was assessed with the Chi-square test. For continuous variables, mean and standard deviation (mean (sd)) were calculated. The correlation between age or sex and clinical variables was assessed using Pearson's (parametric) or Spearman's (nonparametric) linear regression.

3.2. Lipidomic Profile at 0 M and 6 M in the PE and AD Cohorts

Statistical analysis was performed using the statistical language "R" (R version 4.0.3 (10 October 2020), The R Foundation for Statistical Computing ©, Vienna, Austria) and the Bioconductor Project libraries for omics data analysis. All values were scaled by log transformation to normalize the great dispersion of lipid intensities. The selection of lipids with differential concentrations after different experimental conditions was based on a linear model adjusted by the empirical Bayes moderation of the variance [26]. To adjust for random effects associated with samples obtained from the same patient, an inter-subject correlation factor was calculated and included in the linear model [27]. In order to deal with the multiple testing issues derived from the fact that many tests (one per lipid) were performed simultaneously, p-values were adjusted to obtain strong control over the false discovery rate using the Benjamini and Hochberg method. The results of the production lipidomics were further adjusted by age and sex. Lipid names were converted to a more simplified nomenclature and grouped by superclass, main class and subclass

according to data from the LipidLynxX database. Species with *p*-adjusted values <0.05 were considered and ordered by log2FC, in which positive values were upregulated at 6 M and negative were downregulated. Top tables with the lipids ranked from the most to the least differentially expressed, volcano plots depicting the relation between fold change and level of significance, and heatmaps depicting expression profiles of lipids were constructed for each comparison evaluated. Species from each assigned superclass, main class, and subclass were counted for each group (PE and AD, up- and downregulated) and plotted as stacked column graphs. Coincident lipidic species between PE and AD cohorts were also explored.

3.3. Lipidomics Pathway Assessment

Raw data from lipidomics were conveniently formatted and analyzed with BioPan (www.lipidmaps.org/biopan (accessed on 8 August 2022)) [28]. Species were processed or not for further analyses according to BioPan limitations (~170 processed species/~650). For the PE and AD cohorts, connection graphs were generated for activated and suppressed pathways. Statistical analyses were performed for paired data, establishing $p < 0.05$ as the threshold (BioPan's Zscore > |1.645|). Data from the genes potentially involved were also retrieved.

3.4. Correlation between Clinical Variables and Differentially Regulated Lipids

To study the correlation between the main clinical variables and the differentially regulated lipids, the Spearman's rho correlation index was calculated. Lipids from the top tables created in the lipidomic analysis that matched the following criteria were chosen for further analyses: (1) adjusted *p*-value < 0.01 and (2) absolute logarithmic fold change > 3. Twenty-nine lipids were selected from the comparison PE(6 M) vs. PE(0 M) and AD(6 M) vs. AD(0 M) (Supplementary File S3). The clinical variables included in the correlation analysis were height, weight, waist circumference, body mass index (BMI), insulin, glucose, HOMA-IR, glycated hemoglobin (HbA1c), urea, creatinine, ALT, GGT, bilirubin, TG, cholesterol, HDL-c, LDL-c, and total protein. A plot with the calculated correlation indexes between the differences at 6 M relative to 0 M in clinical variables and those in differentially expressed lipids from both groups was performed. Age and sex-adjusted multiple testing *p*-values and false detection rates (FDR) were calculated for each correlation and $p < 0.05$ was established as the statistic for significance assessment. To assess possible associations of lipidomic changes with BMI reductions in the PE cohort, patients were separated into two categories according to the following clinical criteria: (1) body weight reduction of >0.5 kg, (2) BMI reduction of 5%, and/or (3) decrease of a BMI percentile. Four out of the ten individuals in the PE cohort met these criteria and were thus considered responders to the lifestyle intervention in terms of BMI reduction. Age- and sex-adjusted multinomial logistic regression was conducted between differential levels of significantly regulated lipid species 6 M-0 M and successful BMI reduction (dichotomic), establishing the threshold of statistical significance at $p < 0.05$.

4. Results

4.1. PE Cohort

The resulting behavioral changes after lifestyle intervention in the PE cohort are summarized in Supplementary File S4. At 0 M, 7 patients had a BMI above reference 99th percentile, 2 above the 98th percentile, and 1 above the 97th percentile. At 6 M, 6 patients had a BMI above the 99th percentile, 2 above the 98th percentile, 1 above the 97th percentile, and 1 above the 92nd percentile. All abnormally upregulated clinical variables of interest, including body weight, WC, FLI, BMI, and HOMA-IR, trended to decrease between 0 M and 6 M after this intervention, albeit not statistically significantly except for LDL-c (114.9 vs. 105.4, $p = 0.04$) (Table 1). No age- or sex-dependent associations were observed with clinical variables in this PE cohort. Even though adiponectin and leptin levels were not statistically different at 6 M, we observed a significant decrease of TNF-α, MCP1, and IL-6 levels (Supplementary File S5).

Furthermore, significant changes in serum lipid composition were observed after 6 M of intervention as shown in Figure 1A; 71 lipid species showed differential changes in serum concentrations (15 upregulated and 56 downregulated). Specifically, PI(37:4), SM(41:0), SM(39:1), SM(34:2), and CE(22:6) were the lipids of which the circulating levels increased the most, and PS(O-36:3), PS(38:4), PS(O-38:5), PG(44:0), and DG(44:9) were the lipids of which the circulating levels decreased the most (Figure 1B). Overall, the top-upregulated lipid superfamily/mainclass/subclass were, respectively, glycerophospholipids, glycerophosphoinositols, and phosphatidylinositols (PI), while the top-downregulated were glycerophospholipids, glycerophosphoserines, and O-phosphatidylserines (PS O) (Figure 1C). Of note, these changes in circulating lipids after 6 M were independent of the most noticeable BMI reductions also occurring in 40% of participants (Supplementary File S8).

No lipidomic pathways were significantly repressed after 6 M of intervention. However, phosphatidylinositol biosynthesis from phosphatidic acid was significantly activated according to the lipid class analysis (Figure 1D).

Correlation analyses revealed some associations between regulation of different lipid species and clinical parameters including weight, BMI, waist circumference, insulinemia, cholesterol, TG, LDL-c, renal function, and hepatic markers (Figure 1E, Table 2). At 0 M, waist circumference was negatively correlated with adiponectin levels, whereas insulin, HOMA-IR, and TG were positively correlated with TNF-α levels. At 6 M, TG positively correlated with TNF-α levels, whereas HDL was negatively correlated with IL-8 levels (Supplementary File S5). No significant correlations with FLI variation and the selected lipids were observed in the PE cohort, with only a negative association with PI(O-40:2) occurring in the AD cohort (Figure 1E, Supplementary File S6). However, abundant and mainly positive significant correlations were found between FLI and some detectable species of DAG in this cohort. Such correlations exhibit a differential pattern after 6 M of metabolic intervention compared to those in the 0 M baseline, favoring associations with longer-chain species in the former. Of note, fewer significant correlations between FLI and DAG were detected in the AD cohort, which in turn differed from those observed in the PE cohort (Supplementary File S7).

Table 2. Significant correlations between changes in clinical variables and differentially regulated lipids in the PE and AD cohorts 6 M after metabolic intervention.

Expression Pattern	Subclass	Lipid Species	Clinical Variable	Correlation Coefficient	*p*-Value	FDR
		PE (6 M-0 M)				
Upregulated	SM	SM (39:1) [M+H]1+	Chol	0.6848	0.0289	0.1430
		SM (41:0) [M+H]1+	Chol	0.8303	0.0029	0.0410
		SM (39:1) [M+H]1+	LDL	0.7356	0.0153	0.1046
		SM (41:0) [M+H]1+	LDL	0.8389	0.0024	0.0365
		SM (34:2) [M+H]1+	Waist Circ.	−0.8857	0.0188	0.1108
Downregulated	O-PS	PS-O (36:1) [M+Na]1+	BMI	0.6833	0.0424	0.1821
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	BMI	0.6778	0.0448	0.1864
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	BMI	0.6833	0.0424	0.1821
		PS-O (36:1) [M+Na]1+	Weight	0.7667	0.0159	0.1057
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	Weight	0.7448	0.0213	0.1206
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	Weight	0.7667	0.0159	0.1057
		PS-O (36:2) [M+Na]1+	Insulin	0.6442	0.0444	0.1854
		PS-O (36:1) [M+Na]1+	Insulin	0.6809	0.0302	0.1452
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	Insulin	0.6809	0.0302	0.1452
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	Insulin	0.7301	0.0165	0.1082
		PS-O (38:5) [M+H]1+/PG-P (38:6) [M+NH4]1+	Insulin	0.6442	0.0444	0.1854
		PS-O (34:0) [M+Na]1+	Urea	−0.7150	0.0201	0.1158
		PS-O (36:1) [M+Na]1+	Urea	−0.7256	0.0175	0.1108
		PS-O (36:2) [M+Na]1+	Urea	−0.8923	0.0005	0.0131
		PS-O (36:3) [M+H]1+/PG-O (36:5) [M+NH4]1+	Urea	−0.7323	0.0160	0.1057
		PS-O (36:3) [M+Na]1+	Urea	−0.7330	0.0159	0.1057
		PS-O (38:2) [M+Na]1+	Urea	−0.9354	0.0001	0.0030
		PS-O (38:4) [M+H]1+/PG-O (38:6) [M+NH4]1+	Urea	−0.7256	0.0175	0.1108
		PS-O (38:5) [M+H]1+/PG-P (38:6) [M+NH4]1+	Urea	−0.8923	0.0005	0.0131

Table 2. *Cont.*

Expression Pattern	Subclass	Lipid Species	Clinical Variable	Correlation Coefficient	*p*-Value	FDR
		PE (6 M-0 M)				
Downregulated	O-PS	PS-O (38:6) [M+H]1+	Urea	−0.7330	0.0159	0.1057
		PS-O (36:3) [M+Na]1+	Creatinine	−0.6507	0.0416	0.1806
		PS-O (38:6) [M+H]1+	Creatinine	−0.6507	0.0416	0.1806
		PS-O (38:5) [M+Na]1+	TG	−0.6868	0.0283	0.1413
		PS-O (38:5) [M+Na]1+	Total Protein	−0.7254	0.0176	0.1108
		PS-O (40:4) [M+Na]1+	Total Protein	−0.9179	0.0002	0.0060
		PS-O (40:6) [M+Na]1+	Total Protein	−0.7720	0.0089	0.0707
		PS-P (42:2) [M+H]1+	Total Protein	−0.9179	0.0002	0.0060
	PS	PS (38:2) [M+Na]1+	BMI	0.7000	0.0358	0.1639
		PS (38:2) [M+Na]1+	Urea	−0.7561	0.0114	0.0868
		PS (38:4) [M+Na]1+	ALT	−0.7241	0.0274	0.1383
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	ALT	−0.7241	0.0274	0.1383
		PS (38:4) [M+Na]1+	Chol	−0.6659	0.0356	0.1637
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	Chol	−0.6659	0.0356	0.1637
		PS (38:4) [M+Na]1+	Creatinine	−0.7393	0.0146	0.1008
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	Creatinine	−0.7393	0.0146	0.1008
		PS (38:4) [M+Na]1+	TG	−0.7847	0.0072	0.0622
		PS (40:7) [M+H]1+/PG (40:9) [M+NH_4]1+	TG	−0.7847	0.0072	0.0622
	DG	DG (36:6) [M+H-H_2O]1+	Insulin	0.7128	0.0207	0.1183
		DG (36:6) [M+H-H_2O]1+	Weight	0.7120	0.0314	0.1503
		DG (36:6) [M+H-H_2O]1+	Urea	−0.8655	0.0012	0.0250
	PG	PG (44:0) [M+H]1+	BMI	0.6832	0.0425	0.1821
		PG (44:0) [M+H]1+	ALT	−0.7250	0.0271	0.1383
		AD (6 M-0 M)				
Upregulated	PC	PC (35:3) [M+H]1+/PE (38:3) [M+H]1+/PA (40:4) [M+NH4]1+	Chol	0.4921	0.0057	0.1558
		PC (35:3) [M+H]1+/PE (38:3) [M+H]1+/PA (40:4) [M+NH4]1+	LDL	0.4179	0.0215	0.3750
		PC (35:3) [M+H]1+/PE (38:3) [M+H]1+/PA (40:4) [M+NH4]1+	HDL	0.5692	0.0010	0.0444
		PC (37:2) [M+H]1+/PE (40:2) [M+H]1+/PA (42:3) [M+NH4]1+	HDL	0.3649	0.0474	0.4911
		PC (37:3) [M+H]1+/PE (40:3) [M+H]1+/PA (42:4) [M+NH_4]1+	HDL	0.4472	0.0132	0.2858
		PC (40:5) [M+H]1+	AST	0.5091	0.0041	0.1205
		PC (40:5) [M+H]1+	ALT	0.5356	0.0023	0.0810
		PC (42:7) [M+H]1+	ALT	0.3622	0.0492	0.4937
		PC (42:8) [M+H]1+	ALT	0.4208	0.0206	0.3748
		PC (42:7) [M+H]1+	Total Protein	−0.4093	0.0247	0.3793
Downregulated	TG	TG (53:2) [M+Na]1+	Insulin	0.3706	0.0438	0.4694
		TG (53:2) [M+Na]1+	TG	0.8158	0.0000	0.0000
		TG (53:2) [M+Na]1+	Total Protein	0.3971	0.0298	0.3994
		TG (53:2) [M+Na]1+	Urea	0.3921	0.0321	0.4096
		TG (54:2) [M+Na]1+	HbA1c	−0.4011	0.0280	0.3857
	PG	PG (44:0) [M+Na]1+	HOMA.IR	0.3814	0.0376	0.4559

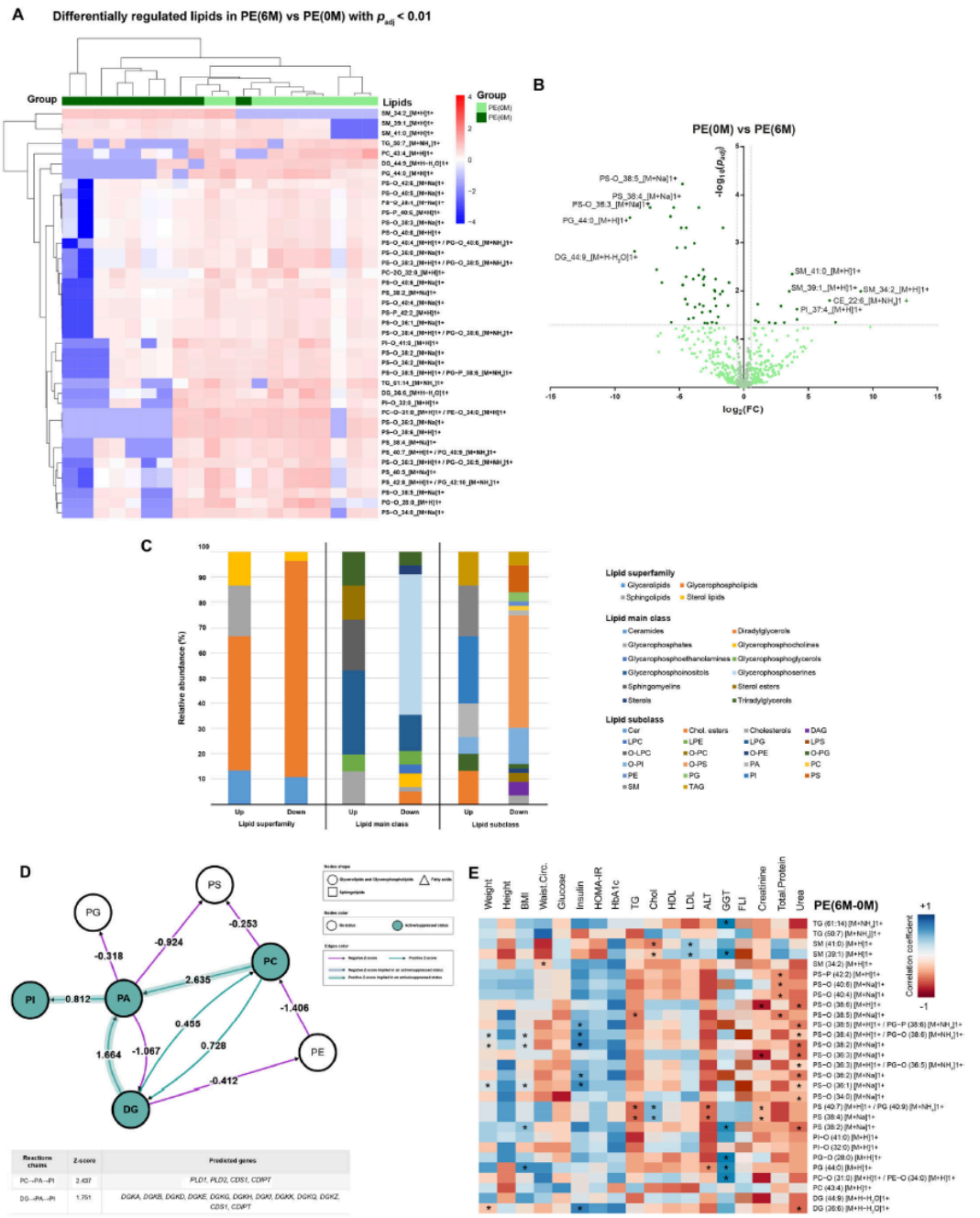


Figure 1. Overview of serum lipidomics in children with obesity after interventions aimed at weight loss. (**A**) A heatmap plot depicting significantly differentially regulated lipid species between 0 and

6 months of intervention and sample clustering in the pediatric (PE) cohort. (**B**) A volcano plot of statistically significant differentially regulated lipid species (6 M-0 M) in the PE cohort. Lipids are shown in a darker green tone for adjusted *p*-value < 0.01, and the absolute logarithmic fold change is >0.5 units. The most significant and regulated lipids are specifically labelled. (**C**) Relative abundance of upregulated and downregulated lipid species between 0 and 6 months in the PE cohort, classified according to top represented lipid superfamilies (left), main classes (center), and subclasses (right). (**D**) The pathway of phospatidylinositol biosynthesis activation 0 M-6 M from phosphatidic acid derived from diacylglycerols or phosphatidylcholine in the PE cohort. Interpretation information for each node and arrow shape and color is included. A measure of the effect is indicated for each arrow (*Z*-score values). Statistical analyses for paired data were performed, establishing $p < 0.05$ as the significance threshold. Significantly regulated pathways are indicated with a shaded arrow. For each pathway analysis, a table depicting the specific statistically significant reaction steps affected in the pathway, their associated *Z*-score, and predicted regulated genes involved in each step is included. (**E**) A heatmap depicting correlation coefficient (*r*) values for linear regressions between the differences of selected clinical variables and those of top significantly regulated lipids in the PE cohort after metabolic intervention (Δ6 M-0 M). Blue cells indicate positive ($r > 0$) and red cells indicate negative associations ($r < 0$). *: Significant correlations ($p < 0.05$).

4.2. AD Cohort

The AD cohort showed a more favorable body composition and metabolic profile at 6 M after bariatric surgery, with significant improvements in weight, waist circumference, BMI, fasting glucose, glycated hemoglobin (HbA1c), urea, AST, ALT, GGT, TG, LDL-c, cholesterol, FLI, and HDL-c (Table 1). No significant differences in the degree of improvement were observed depending on the type of surgical intervention. Adiponectin and leptin levels returned to normal levels along with a significant increase in MCP1 (Supplementary File S5). Of note, weight, bilirubin, cholesterol, HDL-c, LDL-c, creatinine, delta LDL, and GGT were associated with sex, whereas weight, urea, creatinine, and delta HDL correlated with age, so these variables were taken into consideration for further analyses (Table 2).

Significant changes in serum lipid composition of the AD cohort were also observed after 6 M of intervention (Figure 2A); 193 lipid species showed differential serum concentrations (118 upregulated and 75 downregulated). Specifically, PC(O-34:2)/PE(O-37:2), PC(O-36:5), PC(O-36:4), PC(O-36:2)/PE(P-39:1), and TG(53:2) were the lipids the circulating levels of which increased the most, while DG(36:5), TG(54:6), TG(54:6), DG(42:7), and PG(44:0) were the ones of which the circulating levels decreased the most (Figure 2B). The top-upregulated lipid superfamily/main class/subclass were glycerophospholipids, glycerophosphocholines, and phosphatidylcholines (PC) (Figure 2C), while the most downregulated were glycerolipids, di/triradylglycerols, and triacylglycerol/diacylglycerols.

Lipidomic pathway regulation analyses showed that phosphatidylserine biosynthesis became activated after the intervention, while phosphatidylinositol and DAG biosynthesis were repressed (Figure 2D). These results are in concordance with the lipid class analyses, in which DAG species abundance is reduced in favor of an increase of phosphatidylethanolamines and phosphatidylcholines. Due to the limitations of BioPan, no analyses could be conducted for mono/di/triglyceride pathways [28]. The predicted involved genes are also listed in Figure 2D.

Circulating levels of PC positively correlated with cholesterol, LDL-c, HDL-c, ALT, and AST, and negatively with total protein levels. On the other hand, 6 M-0 M changes in circulating levels of TG were positively associated with insulin, total protein, and urea, and negatively correlated with HbA1c (Figure 2E, Table 2). At 0 M, positive correlations were found between weight and MCP1 levels, BMI and leptin levels, waist circumference and TNF- α and MCP1 levels, and CRP and leptin and MCP1 levels. At 6 M, positive correlations were found between weight and leptin, CRP and leptin and MCP1, TG and MCP1, and HDL and adiponectin. On the other hand, BMI and waist circumference were negatively correlated with adiponectin levels (Supplementary File S5).

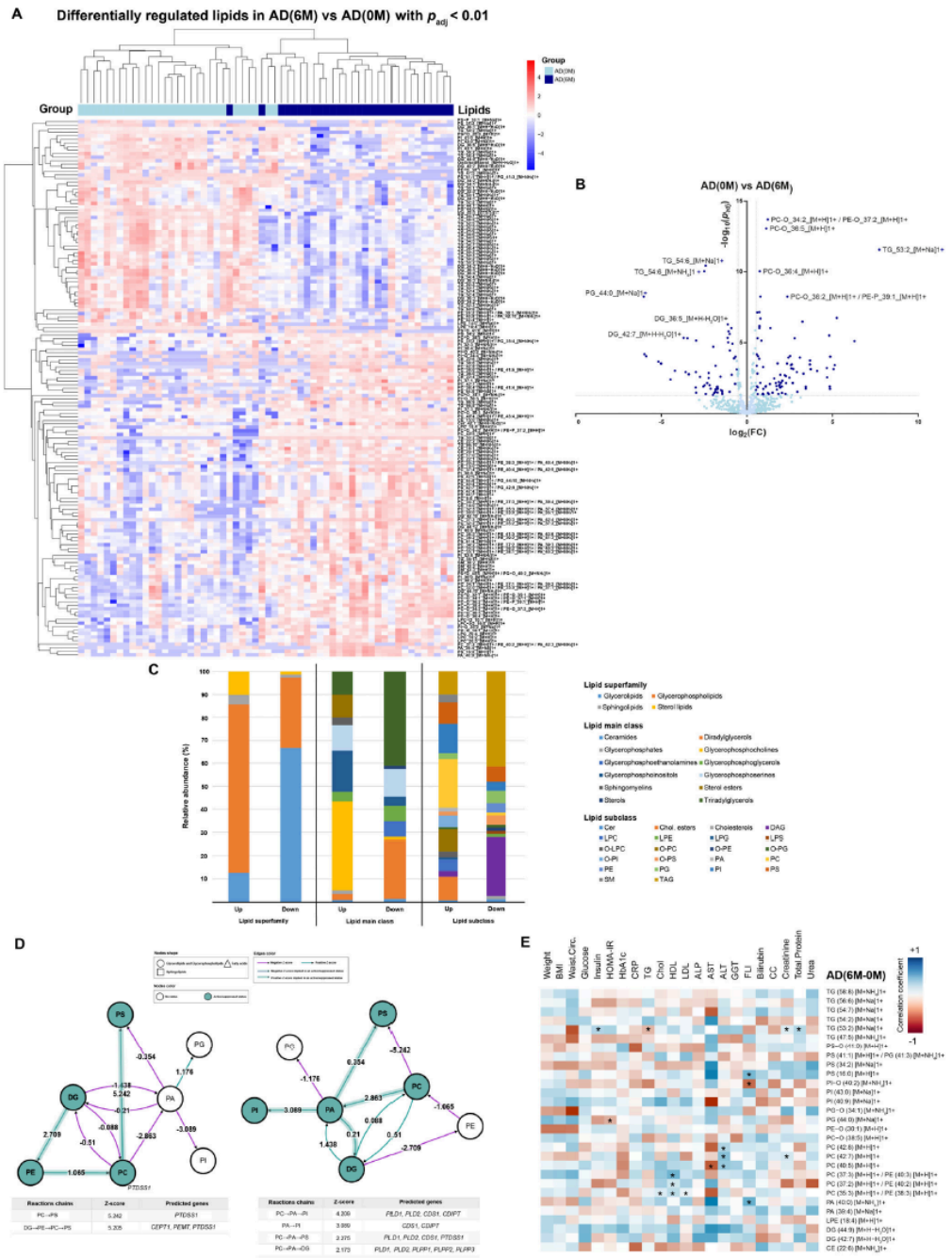


Figure 2. Overview of serum lipidomics in adult individuals with obesity after bariatric surgery. **(A)** A heatmap plot depicting significantly differentially regulated lipid species between 0 and 6 months

of bariatric surgery and sample clustering in the adult (AD) cohort. (**B**) A volcano plot of statistically significant differentially regulated lipid species (6 M-0 M) in the AD cohort. Lipids are shown in a darker green tone for adjusted *p*-value < 0.01 and the absolute logarithmic fold change is >0.5 units. The most significant and regulated lipids are specifically labelled. (**C**) Relative abundance of upregulated and downregulated lipid species between 0 and 6 months of bariatric surgery in the AD cohort, classified according to top represented lipid superfamilies (left), main classes (center), and subclasses (right). (**D**) Pathway of phosphatidylserine biosynthesis activation (left) and of phosphatidylinositol and diacylglycerol biosynthesis repression 0 M-6 M (right) in the AD cohort. Interpretation information for each node and arrow shape and color is included. A measure of the effect is indicated for each arrow (*Z*-score values). Statistical analyses for paired data were performed, establishing $p < 0.05$ as the significance threshold. Significantly regulated pathways are indicated with a shaded arrow. For each pathway analysis, a table depicting the specific statistically significant reaction steps affected in the pathway, their associated *Z*-score, and predicted regulated genes involved in each step is included. (**E**) A heatmap depicting correlation coefficient (*r*) values for linear regressions between differences of selected clinical variables and those of top significantly regulated lipids in the AD cohort after bariatric surgery (Δ6 M-0 M). Blue cells indicate positive ($r > 0$) and red cells indicate negative associations ($r < 0$). *: Significant correlations ($p < 0.05$).

4.3. Lipidomic Profile at 0 M and 6 M in PE and AD Cohorts

Abundance of only 15 species was concurrently altered significatively in the PE and AD cohorts after their respective interventions (Figures 3A and 3B, respectively). The five upregulated lipids in both PE and AD cohorts were phosphatidylinositols, sphingomyelins, and cholesteryl esters, while the eight downregulated lipids in both PE and AD cohorts were diacylglycerols, glycerophosphoglycerols, glycerophosphoethanolamines, and phosphatidylcholines. Most matching species were regulated in the same direction except for two phosphatidylinositols: PI(O-36:2) and PI(O-34:0).

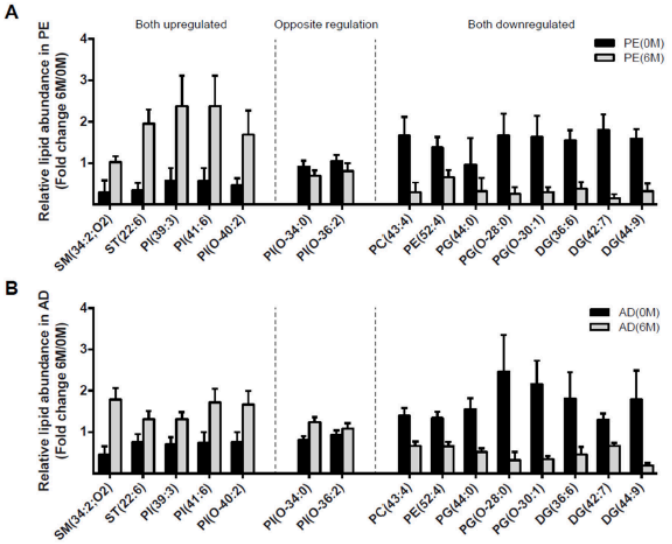


Figure 3. Coincident regulated lipid species in the PE and AD cohorts. Relative abundance (fold change 6 M-0 M) at 0 M (grey bars) and 6 M (black bars) of the 15 upregulated, oppositely regulated, or downregulated lipid species in both cohorts in the PE (**A**) or AD (**B**) cohort data. All results shown are statistically significant 6 M vs. 0 M (paired $p_{adj} < 0.05$).

5. Discussion

Alterations in the metabolism of lipid species have been associated with obesity and other pathologies [29–32]. For instance, the dysregulation of the crosstalk between sphingolipids and glycerophospholipids contributes to lipotoxicity-induced metabolic stress [20]. Since the lipidome mainly represents the intermediate and end products of lipid metabolism, lipidomics can be a useful tool to detect physiological dysfunction and earlier stages of changes in metabolism than most clinically used markers [21]. Despite the extensive research concerning adults, lipidomic profiling of children with obesity has been overlooked and often extracted from transversal studies [18,21,33,34].

In the PE cohort, lifestyle intervention led to significant changes in LDL-c, TNF-α, MCP1, IL6, and 71 lipid species circulating levels. The differentially regulated lipids were mainly downregulated (56 vs. 15). Our data showed that the abundance of PI increased due to biosynthesis activation whereas the abundance of PS decreased. Since a decreased abundance of PI and an increased abundance of PS in children with obesity compared to healthy individuals have been demonstrated [18], the observed alteration in the lipidomic profile of PE (6 M) cohort may be interpreted as a positive metabolic response to lifestyle intervention. Specifically, the decrease of circulating levels of PS O-, PS, DG, and PG in PE (6 M) was associated with a trend of metabolic improvement: decreased BMI, weight, insulinemia, and increased total protein. In contrast to other studies, PC was not the lipid species with more significant clinical associations [21,33,34]. Even though the changes in the lipidomic profile of PE (6 M) cohort were not accompanied by a significant weight loss, we could demonstrate a decrease in the inflammatory status. Indeed, numerous studies in children have shown profound changes in biomarkers related to inflammation, oxidative stress, and insulin resistance, as well as some aspects of lipid metabolism after lifestyle intervention, regardless of absolute weight loss [35–38]. That is precisely the reason why the identification of subclinical changes of metabolic improvement in children with obesity following lifestyle intervention is critical.

In the AD cohort, the abundance of 193 lipids (118 upregulated vs. 75 downregulated) changed 6 M after surgical intervention. In addition, adiponectin and leptin changed toward normalization of their levels (decrease in leptin, increase in adiponectin). Overall, lipid changes after bariatric surgery were in concordance with previous studies [39], including abundance of PC species, specifically ether-linked PCs, that have been reported to be inversely associated to obesity, oxidative stress, and insulin resistance [39]. On the other hand, abundance of TG/DG decreased, which is coherent with metabolic and adipose triglyceride-storing function improvements after bariatric surgery in adult patients [40]. Moreover, correlation analyses revealed a number of previously unexplored associations. A positive correlation was found between PC and HDL. Since PC is an integral component of the lipoproteins, especially HDL [41], this increase in circulating PCs after bariatric surgery could be a consequence of an increase in HDL particles and, therefore, a more favorable lipidic profile. Finally, a positive correlation was also found between TG and insulin, total protein, and urea, suggesting that the decrease of circulating TGs after bariatric surgery may play a role in overall metabolic status improvement in adult obese patients.

Considering the aforementioned lipidomic changes in the AD cohort after bariatric surgery as a lipidomic signature of lipotoxicity reversal, we focused on elucidating whether any of such changes were coincident in the PE cohort after lifestyle intervention, that is, to better distinguish unique changes elicited by routinely advised weight intervention approaches in pediatric patients. We identified fifteen regulated circulating lipid species coincident between AD and PE cohorts at 6 M. Among these, PI(39:3) and PI(41:6) levels were upregulated. Since low PI levels are associated with obesity-induced inflammation, insulin resistance [18] and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [42] in childhood obesity, the increase of PI levels triggered by early lifestyle intervention could be interpreted as a sign of metabolic improvement. Additionally, SM(34:2) levels were upregulated. Even though higher concentrations of SM are related to insulin resistance [43], some specific polyunsaturated sphingomyelins have already been described to increase after bariatric

surgery [39,44]. In our study, changes in waist circumference negatively correlated with SM(34:2). ST(22:6) levels were also upregulated. Since lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) activity has been reported to be inversely associated with obesity [45], it is tempting to speculate that increasing CE's abundance in both cohorts was related to the restoration of normal LCAT functionalities. On the other hand, PC(43:4), DG (36:6)(42:7)(44:9), PG(O 28:0)(O 30:1)(44:0), and PE(52:4) levels were downregulated. Circulating levels of PC, PE, DG, and TG have been positively correlated to insulin resistance in adults [46], so we posited that the downregulation of DG, PE, and PC in the PE cohort after early lifestyle intervention may have a positive impact on insulin resistance in adulthood. Given that circulating PCs are an essential source of triglycerides in steatosis [44], downregulation of PC triggered by early lifestyle intervention in the PE cohort may also have a positive impact on hepatic steatosis. Finally, PI(O-36:2) and PI(O-34:0) were inversely regulated between AD and PE, demonstrating a heterogeneity in the clinical relevance of individual phospholipid species between different age clinical groups, and deserving further characterization to fully interpret its clinical usefulness.

In this pilot study, we acknowledge some limitations. We studied two different cohorts (PE and AD) following two different interventions (lifestyle and bariatric surgery, respectively). We highlight that these two procedures are the currently recommended optimal choices to treat severe obesity in each cohort, since bariatric surgery is not applicable to children with severe obesity, and lifestyle intervention alone in adults with severe obesity has very modest results. These procedures present, nonetheless, some inherent limitations, namely adherence to the intervention in the PE cohort and concomitant dietary changes in the AD cohort. Despite these potential confounders being controlled by the clinicians in charge in regular follow-up visits, additional monitoring methods such as written self-assessment of nutritional intake and physical activity tracking would contribute to reduce the variability introduced by these potential external factors. Moreover, the lack of a necessary control group of children to eliminate nonspecific changes of lipid species with lifestyle intervention would be necessary in future studies. Additional limitations specifically related to the AD cohort, such as ageing, may explain the mismatch between adult and pediatric lipidomic response to weight-loss intervention. Moreover, two different bariatric surgical techniques were included, but, since the anthropometric and metabolic outcomes were not statistically significant, lipidomic changes of both surgical groups could be considered as a whole. For the PE cohort, we acknowledge the limitation of the sample size being small, given that to recruit pediatric patients and obtain consecutive serum samples is restrictive in clinical practice. Finally, in this study we only considered height, weight, waist circumference, and BMI as body composition markers. Inclusion of triceps and subscapular skinfolds, hip circumference, or dual-energy X-ray absorptiometry in further studies would help to better understand the relationship between the changes in pediatric body composition after lifestyle intervention and its association to consequential lipidomic changes. In this pilot study, the levels of some inflammation and oxidative stress biomarkers were measured, while some important free fatty acids including *n*-3 and *n*-6 are lacking. We want to remark that these lipids and their potential correlations with clinical parameters before and after interventions could bring a most interesting perspective in future studies. Moreover, the determination of circulating free fatty acids (FFA) is another limitation of this study, since excess of serum FFA levels is a sign of peripheral insulin resistance [9,10], and therefore could be favorably reduced upon weight loss interventions.

In conclusion, our results indicate that children undergoing lifestyle intervention showed changes in a specific set of lipid species, some of which were coincidental and others differential in adults undergoing bariatric surgery, suggesting that the obtained data constitute a potential pediatric lipidomic signature after interventions aimed at weight loss. Moreover, the baseline results indicate per se a subset of potential biomarkers of obesity at early stages of life. Since no direct clinical value is derived from this data, further studies will be necessary to decipher the potential role of each of the specific lipid species identified in developing obesity-related lipotoxicity and metabolic disorders and potential

clinical applications as subclinical biomarkers of such disorders or their improvement after therapeutic interventions, even as molecular targets to counter pediatric and adult obesity.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu15153341/s1. File S1: General recommendations list for the treatment of obesity in the PE cohort; File S2: Study flowchart; File S3: Selected lipids for the correlation analyses in the PE(6M) vs. PE(0M) and AD(6M) vs. AD(0M); File S4: Summary of the lifestyle behavioral changes in PE cohort after 6M of lifestyle recommendations; File S5: Adipokines and inflammatory biomarkers response to 6-month intervention, and correlations between adipokines, inflammatory and clinical biomarkers; File S6: Heatmap representation of linear regressions between the differences in FLI and those of selected significantly-regulated lipids coincident in the pediatric (PE) and adult (AD) cohorts; File S7: Statistically significant correlations between the FLI and detectable DG before (0M) and after (6M) 6 months of intervention in PE and AD cohorts; File S8: Age- and sex-adjusted multivariant logistic regression analysis between circulating levels of significantly up and downregulated lipid species 6M-0M after lifestyle intervention and successful body mass index reduction in the PE cohort.

Author Contributions: Conception and design of the study were performed by D.S.-I., A.S.-G. and R.C. Acquisition, analysis, and interpretation of data were carried out by A.S.-G., P.F.-G., R.C., B.J., D.S.-I., M.R.-F., L.G., M.M., M.G., P.C., A.V., N.R., S.P., J.T., A.K., A.V.-P. and F.V. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content were performed by all the authors. Final approval of the version to be submitted was done by all the authors. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by "Instituto de Salud Carlos III" (ISCIII), grant number (PI20/00807), and co-financed by Fondos FEDER. RC is a Juan de la Cierva-Incorporación researcher (grant IJC2018-037142-I, funded by the MCIN/AEI /10.13039/501100011033). BJ and AK are supported by the NIHR Cambridge Biomedical Research Centre (146281).

Institutional Review Board Statement: The Institutional Ethics Committee (Germans Trias i Pujol CEIC), in accordance with the Declaration of Helsinki, approved the study (code PI17/01455 and PI20/00807).

Informed Consent Statement: All participants gave their written informed consent before collecting clinical data and samples.

Data Availability Statement: The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgments: Bioinformatics analysis was conducted by the Statistics and Bioinformatics Unit (UEB) at Vall d'Hebron Research Institute (VHIR) and RC. We acknowledge the work of Lorena Haro, Elena Fernández, and Ester Ramos y Amparo Santos from the core clinical laboratory at the Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain, and Merche Morales at the University of Barcelona, Spain.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Ng, M.; Fleming, T.; Robinson, M.; Thomson, B.; Graetz, N.; Margono, C.; Mullany, E.C.; Biryukov, S.; Alfonso, R.; Ali, M.K.; et al. Global, Regional, and National Prevalence of Overweight and Obesity in Children and Adults during 1980–2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* **2014**, *384*, 766–781. [CrossRef] [PubMed]
2. World Health Organization. *Mapping the Health System Response to Childhood Obesity in the WHO European Region an Overview and Country Perspectives*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2019.
3. Morrison, J.A.; Friedman, L.A.; Gray-mcguire, C.; Morrison, J.A.; Friedman, L.A.; Gray-mcguire, C. Metabolic Syndrome in Childhood Predicts Adult Cardiovascular Disease 25 Years Later: The Princeton Lipid Research Clinics Follow-up Study. *Pediatrics* **2007**, *120*, 340–345. [CrossRef] [PubMed]
4. Juonala, M.; Magnussen, C.G.; Berenson, G.S.; Venn, A.; Burns, T.L.; Sabin, M.A.; Srinivasan, S.R.; Daniels, S.R.; Davis, P.H.; Chen, W.; et al. Childhood Adiposity, Adult Adiposity, and Cardiovascular Risk Factors. *N. Engl. J. Med.* **2011**, *365*, 1876–1885. [CrossRef] [PubMed]
5. Cunningham, S.A.; Kramer, M.R.; Narayan, K.M.V. Incidence of Childhood Obesity in the United States. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *370*, 403–411. [CrossRef]

6. Shashaj, B.; Bedogni, G.; Graziani, M.P.; Tozzi, A.E.; DiCorpo, M.L.; Morano, D.; Tacconi, L.; Veronelli, P.; Contoli, B.; Manco, M. Origin of Cardiovascular Risk in Overweight Preschool Children at the Onset of Obesity. *JAMA Pediatr.* **2015**, *168*, 917–924. [CrossRef]
7. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Morgan, D.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Molecular Biology of the Cell*, 6th ed.; Garland Science: New York, NY, USA, 2007.
8. Jenkins, B.J.; Seyssel, K.; Chiu, S.; Pan, P.; Lin, S.; Stanley, E.; Ament, Z.; West, J.A.; Summerhill, K.; Griffin, J.L.; et al. Odd Chain Fatty Acids; New Insights of the Relationship Between the Gut Microbiota, Dietary Intake, Biosynthesis and Glucose Intolerance. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 44845. [CrossRef]
9. Nakamura, M.T.; Yudell, B.E.; Loor, J.J. Regulation of Energy Metabolism by Long-Chain Fatty Acids. *Prog. Lipid Res.* **2014**, *53*, 124–144. [CrossRef]
10. Wymann, M.P.; Schneiter, R. Lipid Signalling in Disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 162–176. [CrossRef]
11. Harayama, T.; Riezman, H. Understanding the diversity of membrane lipid composition. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2018**, *19*, 281–296. [CrossRef]
12. May, F.J.; Baer, L.A.; Lehnig, A.C.; So, K.; Chen, E.Y.; Gao, F.; Narain, N.R.; Gushchina, L.; Rose, A.; Doseff, A.I.; et al. Lipidomic Adaptations in White and Brown Adipose Tissue in Response to Exercise Demonstrates Molecular Species-Specific Remodeling. *Cell Rep.* **2017**, *18*, 1558–1572. [CrossRef]
13. Marcher, A.; Loft, A.; Nielsen, R.; Sysi-Aho, M.; Ekroos, K.; Mandrup, S.; Marcher, A.; Loft, A.; Nielsen, R.; Vihervaara, T.; et al. Reveal Extensive Changes of Glycerolipid Pathways in Brown Adipose Tissue in Response to Cold RNA-Seq and Mass-Spectrometry-Based Lipidomics Reveal Extensive Changes of Glycerolipid Pathways in Brown Adipose Tissue in Response to Cold. *Cell Rep.* **2015**, *13*, 2000–2013. [CrossRef]
14. Pietiläinen, K.H.; Rog, T.; Seppänen-Laakso, T.; Virtue, S.; Peddinti, G.; Jing, T.; Rodriguez-Cuenca, S.; Arkadiusz, M.; Jussi, N.; Ruskeepaa, A.-L.; et al. Association of Lipidome Remodeling in the Adipocyte Membrane with Acquired Obesity in Humans. *PLoS Biol.* **2011**, *9*, e1000623. [CrossRef]
15. Unger, R.H.; Orci, L. Diseases of Liporegulation: New Perspective on Obesity. *FASEB J.* **2001**, *15*, 312–321. [CrossRef] [PubMed]
16. Sokolowska, E.; Blachnio-zabielska, A. The Role of Ceramides in Insulin Resistance. *Front. Endocrinol* **2019**, *10*, 577. [CrossRef] [PubMed]
17. Kolak, M.; Westerbacka, J.; Velagapudi, V.R.; Wågsa, D.; Yetukuri, L.; Makkonen, J.; Rissanen, A.; Ha, A.; Lindell, M.; Bergholm, R.; et al. Adipose Tissue Inflammation and Increased Ceramide Content Characterize Subjects With High Liver Fat Content Independent of Obesity. *Diabetes* **2007**, *56*, 1960–1968. [CrossRef]
18. Anjos, S.; Feiteira, E.; Cerveira, F.; Melo, T.; Reboredo, A.; Colombo, S.; Dantas, R.; Costa, E.; Moreira, A.; Santos, S.; et al. Lipidomics Reveals Similar Changes in Serum Phospholipid Signatures of Overweight and Obese Pediatric Subjects. *J. Proteome Res.* **2019**, *18*, 3174–3183. [CrossRef] [PubMed]
19. Wang, Y.; Jiang, C.T.; Song, J.Y.; Song, Q.Y.; Ma, J.; Wang, H.J. Lipidomic Profile Revealed the Association of Plasma Lysophosphatidylcholines with Adolescent Obesity. *BioMed Res. Int.* **2019**, *2019*, 1382418. [CrossRef] [PubMed]
20. Rodriguez-Cuenca, S.; Pellegrinelli, V.; Campbell, M.; Oresic, M.; Vidal-Puig, A. Sphingolipids and Glycerophospholipids—The "Ying and Yang" of Lipotoxicity in Metabolic Diseases. *Prog. Lipid Res.* **2017**, *66*, 14–29. [CrossRef]
21. Rauschert, S.; Uhl, O.; Koletzko, B.; Kirchberg, F.; Mori, T.A.; Huang, R.C.; Beilin, L.J.; Hellmuth, C.; Oddy, W.H. Lipidomics Reveals Associations of Phospholipids With Obesity and Insulin Resistance in Young Adults. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2016**, *101*, 871–879. [CrossRef]
22. Styne, D.M.; Arslanian, S.A.; Connor, E.L.; Farooqi, I.S.; Murad, M.H.; Silverstein, J.H.; Yanovski, J.A. Pediatric Obesity-Assessment, Treatment, and Prevention: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2017**, *102*, 709–757. [CrossRef]
23. Vallés, M.M.; Comós, J.B. Obesidad y Síndrome Metabólico. *Protoc. Diagn. Ter Pediatr.* **2019**, *1*, 285–294.
24. Sanders, F.W.B.; Acharjee, A.; Walker, C.; Marney, L.; Roberts, L.D.; Imamura, F.; Jenkins, B.; Case, J.; Ray, S.; Virtue, S.; et al. Hepatic Steatosis Risk Is Partly Driven by Increased de Novo Lipogenesis Following Carbohydrate Consumption. *Genome Biol.* **2018**, *19*, 79. [CrossRef]
25. Harshfield, E.L.; Koulman, A.; Ziemek, D.; Marney, L.; Fauman, E.B.; Paul, D.S.; Stacey, D.; Rasheed, A.; Lee, J.J.; Shah, N.; et al. An Unbiased Lipid Phenotyping Approach To Study the Genetic Determinants of Lipids and Their Association with Coronary Heart Disease Risk Factors. *J. Proteome Res.* **2019**, *18*, 2397–2410. [CrossRef]
26. Smyth, G.K. Linear Models and Empirical Bayes Methods for Assessing Differential Expression in Microarray Experiments. *Stat. Appl. Genet. Mol. Biol.* **2004**, *3*, 1–25. [CrossRef]
27. Hasson, U.; Furman, O.; Clark, D.; Dudai, Y.; Davachi, L. Enhanced Intersubject Correlations during Movie Viewing Correlate with Successful Episodic Encoding. *Neuron* **2008**, *57*, 452–462. [CrossRef]
28. Lopez-Clavijo, A.F.; Gaud, C.; Sousa, B.; Nguyen, A.; Fedorova, M.; Ni, Z.; O'Donnell, V.B.; Wakelam, M.J.O.; Andrews, S. BioPAN: A Web-Based Tool to Explore Mammalian Lipidome Metabolic Pathways on LIPID MAPS. *F1000Research* **2021**, *10*, 4. [CrossRef]
29. Horrobin, D.F. The Membrane Phospholipid Hypothesis as a Biochemical Basis for the Neurodevelopmental Concept of Schizophrenia. *Schizophr. Res.* **1998**, *30*, 193–208. [CrossRef]
30. Hartmann, T.; Kuchenbecker, J.; Grimm, M.O.W. Alzheimer's Disease: The Lipid Connection. *J. Neurochem.* **2007**, *103*, 159–170. [CrossRef]

31. Lusis, A.J. Atherosclerosis. *Nature* **2010**, *407*, 233–241. [CrossRef]
32. Menendez, J.A.; Lupu, R. Fatty Acid Synthase and the Lipogenic Phenotype in Cancer Pathogenesis. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 763–777. [CrossRef]
33. Syme, C.; Czajkowski, S.; Shin, J.; Abrahamowicz, M.; Leonard, G.; Perron, M.; Richer, L.; Veillette, S.; Gaudet, D.; Strug, L.; et al. Glycerophosphocholine Metabolites and Cardiovascular Disease Risk Factors in Adolescents: A Cohort Study. *Circulation* **2016**, *134*, 1629–1636. [CrossRef]
34. Reinehr, T.; Wolters, B.; Knop, C.; Lass, N.; Hellmuth, C.; Harder, U.; Peissner, W.; Wahl, S.; Grallert, H.; Adamski, J.; et al. Changes in the Serum Metabolite Profile in Obese Children with Weight Loss. *Eur. J. Nutr.* **2015**, *54*, 173–181. [CrossRef]
35. Balagopal, P.; de Ferranti, S.D.; Cook, S.; Daniels, S.R.; Gidding, S.S.; Hayman, L.L.; McCrindle, B.W.; Mietus-Snyder, M.L.; Steinberger, J. AHA Scientific Statement Nontraditional Risk Factors and Biomarkers for Cardiovascular Disease: Mechanistic, Research, and Clinical Considerations for Youth A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* **2011**, *23*, 2749–2769. [CrossRef]
36. Farpour-Lambert, N.J.; Martin, X.E.; Bucher Della Torre, S.; Von Haller, L.; Ells, L.J.; Herrmann, F.R.; Aggoun, Y. Effectiveness of Individual and Group Programmes to Treat Obesity and Reduce Cardiovascular Disease Risk Factors in Pre-Pubertal Children. *Clin. Obes.* **2019**, *9*, e12335. [CrossRef] [PubMed]
37. Sirico, F.; Bianco, A.; D'Alicandro, G.; Castaldo, C.; Montagnani, S.; Spera, R.; Di Meglio, F.; Nurzynska, D. Effects of Physical Exercise on Adiponectin, Leptin, and Inflammatory Markers in Childhood Obesity: Systematic Review and Meta-Analysis. *Child. Obes.* **2018**, *14*, 207–217. [CrossRef] [PubMed]
38. Blüher, S.; Panagiotou, G.; Petroff, D.; Markert, J.; Wagner, A.; Klemm, T.; Filippaios, A.; Keller, A.; Mantzoros, C.S. Effects of a 1-Year Exercise and Lifestyle Intervention on Irisin, Adipokines, and Inflammatory Markers in Obese Children. *Obesity* **2014**, *22*, 1701–1708. [CrossRef] [PubMed]
39. Ramos-Molina, B.; Castellano-Castillo, D.; Alcaide-Torres, J.; Pastor, Ó.; de Luna Díaz, R.; Salas-Salvadó, J.; López-Moreno, J.; Fernández-García, J.C.; Macías-González, M.; Cardona, F.; et al. Differential Effects of Restrictive and Malabsorptive Bariatric Surgery Procedures on the Serum Lipidome in Obese Subjects. *J. Clin. Lipidol.* **2018**, *12*, 1502–1512. [CrossRef]
40. Gu, L.; Huang, X.; Li, S.; Mao, D.; Shen, Z.; Khadaroo, P.A.; Ng, D.M.; Chen, P. A Meta-Analysis of the Medium- and Long-Term Effects of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy and Laparoscopic Roux-En-Y Gastric Bypass. *BMC Surg.* **2020**, *20*, 30. [CrossRef]
41. Kontush, A.; Lhomme, M.; Chapman, M.J. Unraveling the Complexities of the HDL Lipidome. *J. Lipid Res.* **2013**, *54*, 2950–2963. [CrossRef]
42. Tanaka, Y.; Shimanaka, Y.; Caddeo, A.; Kubo, T.; Mao, Y.; Kubota, T.; Kubota, N.; Yamauchi, T.; Mancina, R.M.; Baselli, G.; et al. LPIAT1/MBOAT7 Depletion Increases Triglyceride Synthesis Fueled by High Phosphatidylinositol Turnover. *Gut* **2021**, *70*, 180–193. [CrossRef]
43. Hannun, Y.A.; Obeid, L.M. Sphingolipids and Their Metabolism in Physiology and Disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2018**, *19*, 175–191. [CrossRef]
44. Kayser, B.D.; Lhomme, M.; Dao, M.C.; Ichou, F.; Bouillot, J.L.; Prifti, E.; Kontush, A.; Chevallier, J.M.; Aron-Wisnewsky, J.; Dugail, I.; et al. Serum Lipidomics Reveals Early Differential Effects of Gastric Bypass Compared with Banding on Phospholipids and Sphingolipids Independent of Differences in Weight Loss. *Int. J. Obes.* **2017**, *41*, 917–925. [CrossRef] [PubMed]
45. Bajnok, L.; Seres, I.; Varga, Z.; Jeges, S.; Peti, A.; Karanyi, Z.; Juhasz, A.; Csongradi, E.; Mezosi, E.; Nagy, E.V.; et al. Relationship of Endogenous Hyperleptinemia to Serum Paraoxonase 1, Cholesteryl Ester Transfer Protein, and Lecithin Cholesterol Acyltransferase in Obese Individuals. *Metabolism* **2007**, *56*, 1542–1549. [CrossRef] [PubMed]
46. Mayneris-Perxachs, J.; Mousa, A.; Naderpoor, N.; Fernández-Real, J.M.; de Courten, B. Plasma Phospholipids with Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Dihydroceramides at the Crossroads of Iron Stores and Insulin Resistance. *Mol. Nutr. Food Res.* **2020**, *64*, 1901055. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Memoria de tesis doctoral

Estudio clínico para identificar especies lipídicas y proteínas moduladas en **OBESIDAD INFANTIL:** nuevas claves en la influencia del estilo de vida

UNIVERSITAT DE BARCELONA

Facultat de Farmàcia
i Ciències de l'Alimentació