



Obesidad en embarazo y adolescencia: Estudio de ácidos grasos y vitaminas antioxidantes

Marcela Esther Guerendiain Margni

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.



FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

OBESIDAD EN EMBARAZO Y ADOLESCENCIA:

ESTUDIO DE ÁCIDOS GRASOS Y VITAMINAS ANTIOXIDANTES

MARCELA ESTHER GUERENDIAIN MARGNI, 2013



FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

DOCTORADO EN ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN

OBESIDAD EN EMBARAZO Y ADOLESCENCIA:

ESTUDIO DE ÁCIDOS GRASOS Y VITAMINAS ANTIOXIDANTES

Memoria presentada por **Marcela Esther Guerendiain Margni** para optar al título de
doctor por la Universidad de Barcelona

Directores

Dra. M. Carmen López Sabater

Dra. Ana Isabel Castellote Bargalló

Doctorando

Marcela Esther Guerendiain Margni

MARCELA ESTHER GUERENDIAIN MARGNI, 2013

Este trabajo ha sido financiado por:



Comisión Europea, mediante la concesión de una beca de movilidad, para obtener el grado de PhD, a Marcela Guerendiain de la Universidad de la República, Uruguay, en el marco del Programa Erasmus Mundus – External Cooperation Window, proyecto MUNDUS 17, a partir de septiembre de 2010, con una duración de 34 meses.



Junta de Andalucía, mediante la concesión del proyecto de excelencia “Papel de la nutrición y la genética materna sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo fetal, búsqueda de marcadores de riesgo de obesidad en etapas precoces de la vida” (PREOBE: Programación precoz de la obesidad), ref: P06-CTS-02341.



Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias, mediante la concesión del proyecto de investigación “Desarrollo, aplicación y evaluación de la eficacia de un programa terapéutico para adolescentes con sobrepeso y obesidad: educación integral nutricional y de actividad física” (EVASYON), ref: PI051574.

A Daniel, mi esposo, compañero y amigo de toda la vida. Por su paciencia y apoyo incondicional, por ayudarme siempre. Porque las cosas de a dos son más fáciles a pesar de las tempestades.

A mi familia que, aunque nos separa la distancia, siempre estuvo presente. Porque no dejemos de soñar. La lucha, aunque sea dura, nos conduce a sueños que ya creíamos inalcanzables.

ÍNDICE GENERAL

1.	ÍNDICE DE FIGURAS	V
2.	ÍNDICE DE TABLAS	VII
3.	LISTADO DE ABREVIATURAS	IX
I.	INTRODUCCIÓN	1
1.	SOBREPESO Y OBESIDAD	1
1.1.	<i>Concepto</i>	1
1.1.1.	Metabolismo del tejido adiposo	2
1.2.	<i>Prevalencia</i>	5
1.3.	<i>Etiología</i>	6
1.4.	<i>Programación del desarrollo</i>	9
1.5.	<i>Obesidad en la etapa gestacional</i>	14
1.6.	<i>Patologías asociadas</i>	16
1.7.	<i>Tratamiento</i>	20
1.7.1.	Control del incremento de peso en la etapa gestacional	22
1.7.2.	Tratamiento de la obesidad infantojuvenil	24
2.	ÁCIDOS GRASOS	27
2.1.	<i>Estructura química, clasificación y nomenclatura</i>	27
2.2.	<i>Absorción y metabolismo</i>	30
2.2.1.	Intercambio materno-fetal	35
2.3.	<i>Ácidos grasos como biomarcadores lipídicos</i>	40
2.4.	<i>Fuentes alimentarias</i>	41
2.5.	<i>Etapa gestacional</i>	42
2.5.1.	Resultados a corto y largo plazo	46
2.6.	<i>Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas</i>	50
2.6.1.	Ácidos grasos saturados	51
2.6.2.	Ácidos grasos monoinsaturados	54
2.6.3.	Ácidos grasos poliinsaturados	57
2.6.4.	Actividad enzimática	60
3.	VITAMINAS LIPOSOLUBLES ANTIOXIDANTES Y CAROTENOIDES	63
3.1.	<i>Vitamina E</i>	63
3.1.1.	Estructura química, clasificación y nomenclatura	63
3.1.2.	Absorción y metabolismo	64
3.1.3.	Fuentes alimentarias	65
3.1.4.	Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas	66
3.2.	<i>Vitamina A</i>	69

3.2.1.	Estructura química, clasificación y nomenclatura	69
3.2.2.	Absorción y metabolismo	70
3.2.3.	Fuentes alimentarias	72
3.2.4.	Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas	72
3.3.	<i>Carotenoides: β-caroteno y licopeno</i>	75
3.3.1.	Estructura química, clasificación y nomenclatura	75
3.3.2.	Absorción y metabolismo	77
3.3.3.	Fuentes alimentarias	77
3.3.4.	Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas	78
3.4.	<i>Determinación analítica</i>	81
3.4.1.	Preparación de la muestra	82
3.4.2.	Análisis cromatográfico	83
II. OBJETIVOS		89
III. MATERIAL Y MÉTODOS		93
1.	PROYECTO PROBE	93
1.1.	<i>Participantes y diseño del estudio</i>	93
1.2.	<i>Metodología</i>	95
1.3.	<i>Aspectos éticos</i>	96
2.	PROGRAMA EVASYON	97
2.1.	<i>Participantes y diseño del estudio</i>	97
2.2.	<i>Metodología</i>	99
2.3.	<i>Aspectos éticos</i>	102
3.	MUESTRAS	103
4.	DETERMINACIONES ANALÍTICAS	104
4.1.	<i>Determinación de ácidos grasos de fosfolípidos plasmáticos por cromatografía de gases</i>	104
4.1.1.	Reactivos y patrones	104
4.1.2.	Procedimiento experimental	105
4.1.3.	Instrumentación y condiciones cromatográficas	106
4.1.4.	Identificación y cuantificación	107
4.2.	<i>Determinación de ácidos grasos totales en plasma por cromatografía de gases</i>	107
4.2.1.	Reactivos y patrones	107
4.2.2.	Procedimiento experimental	108
4.2.3.	Instrumentación y condiciones cromatográficas	109
4.2.4.	Identificación y cuantificación	109
4.3.	<i>Determinación de vitaminas A y E, β-caroteno y licopeno en plasma por UHPLC</i>	110
4.3.1.	Reactivos y patrones	110
4.3.2.	Procedimiento experimental	111
4.3.3.	Instrumentación y condiciones cromatográficas	111

4.3.4. Identificación y cuantificación-----	112
5. ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA -----	113
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO-----	114
IV. RESULTADOS -----	119
1. MÉTODO UHPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES Y CAROTENOIDES-----	119
2. ETAPA GESTACIONAL-----	125
2.1. <i>Características de las gestantes y de los recién nacidos</i> -----	125
2.2. <i>Ácidos grasos en la etapa gestacional</i> -----	129
3. ADOLESCENCIA -----	150
3.1. <i>Composición corporal y perfil cardiometabólico de los adolescentes</i> -----	150
3.2. <i>Ácidos grasos en la adolescencia</i> -----	154
3.3. <i>Vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides en la adolescencia</i> -----	162
V. DISCUSIÓN -----	171
1. MÉTODO UHPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES Y CAROTENOIDES-----	171
2. ETAPA GESTACIONAL-----	175
2.1. <i>Ácidos grasos en la etapa gestacional</i> -----	175
2.2. <i>Limitaciones del estudio</i> -----	187
3. ADOLESCENCIA -----	188
3.1. <i>Ácidos grasos en la adolescencia</i> -----	188
3.2. <i>Vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides en la adolescencia</i> -----	196
3.3. <i>Limitaciones del estudio</i> -----	202
VI. CONCLUSIONES -----	207
VII. BIBLIOGRAFÍA -----	213
VIII. ANEXOS -----	235
1. PUBLICACIONES -----	235
1.1. <i>Changes in plasma fatty acid composition of adolescents involved in a multidisciplinary weight loss programme: relation with adiposity and cardio-metabolic profile</i> -----	235
1.2. <i>Relation between plasma antioxidant vitamin levels, adiposity and cardio-metabolic profile in adolescents: effects of a multidisciplinary obesity programme</i> -----	256
2. PARTICIPACIÓN EN OTRAS PUBLICACIONES-----	279
2.1. <i>Gene expression of desaturase (FADS1 and FADS2) and elongase (ELOVL5) enzymes in peripheral blood: association with polyunsaturated fatty acid levels and atopic eczema in 4-year-old children</i> -----	279
3. COMUNICACIONES PRESENTADAS EN CONGRESOS -----	280

1. ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Modulación fenotípica del tejido adiposo.</i>	4
<i>Figura 2. Contribución del entorno materno-fetal en la programación del desarrollo del metabolismo energético celular a favor del almacenamiento de lípidos.</i>	13
<i>Figura 3. Estructura química de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.</i>	28
<i>Figura 4. Biosíntesis de ácidos grasos insaturados de las series n-7 y n-9.</i>	33
<i>Figura 5. Biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de las series n-3 y n-6.</i>	34
<i>Figura 6. Factores que pueden regular la función de la placenta.</i>	37
<i>Figura 7. Estructura placentaria y transferencia de macronutrientes.</i>	39
<i>Figura 8. Efectos adversos del aporte deficiente, excesivo o del desequilibrio de ácidos grasos sobre la programación del desarrollo.</i>	43
<i>Figura 9. Mecanismos de acción de los ácidos grasos alimentarios sobre el metabolismo de los adipocitos.</i>	50
<i>Figura 10. Estructura química y nomenclatura de la vitamina E.</i>	64
<i>Figura 11. Estructura química general de los retinoides con ejemplos de las formas ácido, alcohol y aldehído.</i>	70
<i>Figura 12. Estructura química y nomenclatura de β-caroteno y licopeno.</i>	76
<i>Figura 13. Diseño del proyecto PREOBE.</i>	94
<i>Figura 14. Diseño del estudio EVASYON.</i>	98
<i>Figura 15. Cromatogramas de patrones (A) y de muestra de plasma (B) de vitaminas A, E y carotenoides</i>	120
<i>Figura 16. Composición plasmática de ácidos grasos de las madres a las 24 semanas de gestación según el estado nutricional pregestacional.</i>	132
<i>Figura 17. Composición plasmática de ácidos grasos de las madres a las 34 semanas de gestación según el estado nutricional pregestacional.</i>	133
<i>Figura 18. Composición plasmática de ácidos grasos saturados y monoinsaturados de las madres al final de gestación y de los hijos al nacer según el estado nutricional pregestacional.</i>	135
<i>Figura 19. Composición plasmática de ácidos grasos poliinsaturados de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer según el estado nutricional pregestacional.</i>	136
<i>Figura 20. Cambios en los parámetros clínicos (A) y bioquímicos (B) según el grado de pérdida de peso</i>	153
<i>Figura 21. Cambios de la composición plasmática de ácidos grasos (A, B) y de la actividad enzimática estimada (C) según grado de pérdida de peso.</i>	161
<i>Figura 22. Cambios en vitaminas liposolubles antioxidantes (A, B) y carotenoides (C, D) plasmáticos durante el tratamiento.</i>	164
<i>Figura 23. Cambios en la concentración corregida por lípidos de vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides según el grado de pérdida de peso.</i>	167

2. ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Objetivos de tratamiento y control de peso basados en percentiles de IMC y estado de salud</i>	25
<i>Tabla 2. Nomenclatura de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) comúnmente analizados en muestras biológicas.</i>	29
<i>Tabla 3. Parámetros de la validación del método de cromatografía líquida rápida de alta eficacia (UHPLC) para la determinación de vitaminas antioxidantes liposolubles y carotenoides.</i>	123
<i>Tabla 4. Características de las embarazadas según el estado nutricional pregestacional.</i>	126
<i>Tabla 5. Características de los recién nacidos según el estado nutricional pregestacional de las madres.</i>	128
<i>Tabla 6. Evolución en la composición plasmática de ácidos grasos de las madres durante el embarazo.</i>	130
<i>Tabla 7. Correlación entre la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer.</i>	137
<i>Tabla 8. Asociación entre el IMC pregestacional de las madres y la composición plasmática de ácidos grasos de éstas y de los hijos al nacer.</i>	139
<i>Tabla 9. Asociación entre el IMC de las madres al final de la gestación y la composición plasmática de ácidos grasos de éstas y de los hijos al nacer.</i>	140
<i>Tabla 10. Composición plasmática de ácidos grasos de las madres y de los hijos al nacer según el tipo de incremento de peso de las embarazadas.</i>	142
<i>Tabla 11. Relación entre el incremento de peso total de las embarazadas y la composición plasmática de ácidos grasos de madres e hijos.</i>	145
<i>Tabla 12. Relación entre la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y los parámetros antropométricos de los hijos al nacer y el peso de la placenta.</i>	146
<i>Tabla 13. Relación entre la composición plasmática de ácidos grasos de los niños y los parámetros antropométricos al nacer y el peso de la placenta.</i>	147
<i>Tabla 14. Asociación entre el peso de los recién nacidos y la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer según el estado nutricional pregestacional</i>	148
<i>Tabla 15. Composición plasmática de ácidos grasos de los recién nacidos macrosómicos y de las madres al final del embarazo.</i>	149
<i>Tabla 16. Características clínicas y bioquímicas de la población estudiada previas y durante el tratamiento de pérdida de peso.</i>	151
<i>Tabla 17. Composición plasmática de ácidos grasos de los adolescentes durante el tratamiento</i>	155
<i>Tabla 18. Asociación entre cambios de la composición plasmática de ácidos grasos y cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 2 meses de tratamiento.</i>	158
<i>Tabla 19. Asociación entre cambios de la composición plasmática de ácidos grasos y cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 6 meses de tratamiento.</i>	160

Tabla 20. Asociación entre los cambios plasmáticos de la concentración corregida por lípidos de vitaminas antioxidantes y carotenoides y los cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 2 meses de tratamiento. ----- 165

Tabla 21. Asociación entre los cambios plasmáticos de la concentración corregida por lípidos de vitaminas antioxidantes y carotenoides y los cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 6 meses de tratamiento. ----- 166

3. LISTADO DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidónico
AGE	Ácidos grasos esenciales
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGPI-CL	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
AGS	Ácidos grasos saturados
ALA	Ácido α -linolénico (<i>α-linolenic acid</i>)
Apo A1	Apolipoproteína A1
Apo B	Apolipoproteína B
CL	Corregido por lípidos
CoA	Coenzima A
D5D	Delta-5-desaturasa
D6D	Delta-6-desaturasa
DCM:MeOH	Diclorometano:metanol
DE	Desviación estándar
DHA	Ácido docosahexaenoico (<i>Docosahexaenoic acid</i>)
ECV	Enfermedades cardiovasculares
Elovl6	Elongasa-6 de ácidos grasos
EPA	Ácido eicosapentaenoico (<i>Eicosapentaenoic acid</i>)
FABP	Proteína de unión a ácidos grasos (<i>fatty acid binding protein</i>)
FAME	Ésteres metílicos de ácidos grasos (<i>Fatty acids methyl esters</i>)
FATP	Proteína transportadora de ácidos grasos (<i>fatty acid transport protein</i>)

GC	Cromatografía de gases (<i>Gas chromatography</i>)
GEG	Grande para la edad gestacional
HDL	Lipoproteínas de alta densidad (<i>High-density lipoproteins</i>)
HMG-CoA	Hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A
HOMA	del inglés <i>Homeostasis Model Assessment</i>
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia (<i>High performance liquid chromatography</i>)
IGF	Factor de crecimiento similar a la insulina (<i>insulin-like growth factor</i>)
LDL	Lipoproteínas de densidad intermedia (<i>Intermediate low density lipoprotein</i>)
IMC	Índice de masa corporal
IMG	Índice de masa grasa
IOM	Instituto de Medicina (<i>Institute of Medicine</i>)
LA	Ácido linoleico (<i>Linoleic acid</i>)
LDL	Lipoproteínas de baja densidad (<i>Low-density lipoproteins</i>)
LOD	Límites de detección (<i>Limits of detection</i>)
LOQ	Límites de cuantificación (<i>Limits of quantification</i>)
LPL	Lipoproteinlipasa
MLG	Masa libre de grasa
NAOS	Nutrición, actividad física, prevención de la obesidad y salud
PCR	Proteína C reactiva
PDA	Detector de fotodiodos (<i>photodiode array detector</i>)
PDE-IMC	Puntuación de desviación estándar del índice de masa corporal

PEG	Pequeño para la edad gestacional
PPAR	Receptor Activado por Proliferadores Peroxisomales (<i>peroxisome proliferator-activated receptors</i>)
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados (<i>Polyunsaturated fatty acid</i>)
RA	Ácido retinoico (<i>Retinoic acid</i>)
RAR	Receptor de ácido retinoico
RBP	Proteína transportadora de retinol (<i>Retinol-binding protein</i>)
RXR	Receptor X retinoide
SCD	Estearoil-CoA desaturasa (<i>Stearoyl-CoA desaturase</i>)
SEM	Error estándar de la media (<i>standard error of the mean</i>)
TAD	Tensión arterial diastólica
TAG	Triacilgliceroles
UHPLC	Cromatografía líquida rápida de alta eficacia (<i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography</i>)
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad (<i>Very low-density lipoprotein</i>)
α -TTP	Proteína transportadora de α -tocoferol (<i>α-tocopherol transfer protein</i>)

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Dada la elevada incidencia de obesidad existente en España y que el exceso de peso puede comenzar en la vida intrauterina, en la presente tesis doctoral, la problemática en cuestión se abordará centrándose en dos etapas críticas del crecimiento y desarrollo del ser humano: embarazo y adolescencia. Se enfatizará el estudio de los lípidos, orientado específicamente al análisis de ácidos grasos y vitaminas, ya que, de acuerdo a la evidencia científica existente, esta información podría ser relevante en la prevención y tratamiento de la obesidad.

1. SOBREPESO Y OBESIDAD

1.1. Concepto

La obesidad es un problema de salud pública con un costo sociosanitario de gran magnitud [1]. Es una enfermedad multifactorial, pluripatológica [1], que resulta de un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético [2]. Cuando la oscilación es importante, el exceso de energía se acumula en forma de grasa [3]. Así, desde el punto de vista fisiopatológico, la obesidad se considera un estado físico de excesiva grasa corporal [1].

Sin embargo, en la práctica clínica, ésta se define de acuerdo al valor del índice de masa corporal (IMC) [1], consistente en el cociente $\text{Peso (kg)}/[\text{Talla (m)}]^2$, y el perímetro de la cintura [4]. Durante el embarazo la identificación de malnutrición por exceso se realiza por medio del IMC pregestacional, que permite el establecimiento de las metas nutricionales [5].

I. INTRODUCCIÓN

El uso del IMC para valorar obesidad debe realizarse con cautela, ya que refleja un exceso de masa de todo el tejido corporal, es decir de masa grasa y masa libre de grasa (tejido muscular, huesos y agua). Por esta razón, es conveniente evaluar la composición corporal y así identificar los respectivos componentes [1]. Las técnicas modernas para su determinación comprenden desde la medición de los pliegues cutáneos hasta la utilización de técnicas sofisticadas y complejas, como la absorciometría de rayos X de energía dual, resonancia magnética, tomografía axial computarizada, entre otras [1].

De acuerdo a la distribución de la grasa corporal la obesidad puede ser de tipo androide, central o abdomino-troncular y de tipo ginoide o periférica. En el primer caso, el exceso de grasa es almacenado principalmente en la parte superior del cuerpo, mientras que en la obesidad de tipo ginoide la acumulación adiposa tiende a localizarse en caderas y muslos. Esta última tiene una relación determinante con el síndrome metabólico, el riesgo cardiometabólico y las enfermedades cardiovasculares (ECV). Por ello, la medición del perímetro de la cintura se considera fundamental como indicador de riesgo cardiovascular y criterio de síndrome metabólico [1].

1.1.1. Metabolismo del tejido adiposo

Una de las funciones del tejido adiposo es el almacenamiento de energía en forma de triacilgliceroles (TAG), lo cual ocurre en situaciones de exceso. Éstos son depositados principalmente en el citoplasma de los adipocitos, donde pueden ocupar casi todo el volumen celular. Las células adiposas están especializadas en la síntesis y almacenamiento de TAG, así como en su hidrólisis (lipólisis) y movilización para ser transportados por la sangre a otros tejidos cuando éstos requieren energía [3].

I. INTRODUCCIÓN

Tanto los ácidos grasos liberados en la lipólisis como los sintetizados *de novo* y los incorporados a los adipocitos pueden ser reutilizados en el tejido adiposo mediante su conversión a acil-Coenzima A (CoA), por acción de la acil-CoA sintetasa, y esterificados con el glicerol-3-fosfato para formar TAG, estableciéndose así un continuo ciclo de lipólisis y reesterificación. Por medio de la adipogénesis (proliferación de preadipocitos y diferenciación en adipocitos), lipogénesis (síntesis de ácidos grasos), captación de ácidos grasos a partir de lipoproteínas circulantes y la lipólisis (hidrólisis de TAG almacenados), que opera en los propios depósitos grasos, se controla el almacenamiento de los lípidos. A su vez, la regulación de estos procesos depende de la interacción entre genes y factores ambientales y, en particular, entre genes y nutrientes [3].

El tejido adiposo además de actuar como depósito de energía también funciona como un importante órgano endócrino, involucrado en procesos metabólicos como, adipogénesis, lipogénesis, producción de factores de crecimiento, hormonas y enzimas, metabolismo de la glucosa y de los lípidos, regulación del peso corporal, homeostasis y función inmune, entre otros [6,7,8]. Cuando éste se expande, en situaciones de obesidad, la hiperplasia e hipertrofia ocurridas producen la disfunción de los adipocitos [9], secretando citoquinas proinflamatorias y leptina, que provocan un estado crónico de bajo grado de inflamación a nivel local y sistémico e inducen insulinoresistencia [8,10]. El tejido adiposo regularmente libera ácidos grasos, activando macrófagos residentes o reclutando nuevos. De una manera recíproca, los macrófagos activados influyen sobre la función de los adipocitos, aumentando la inflamación y la insulinoresistencia [6] (Figura 1).

I. INTRODUCCIÓN

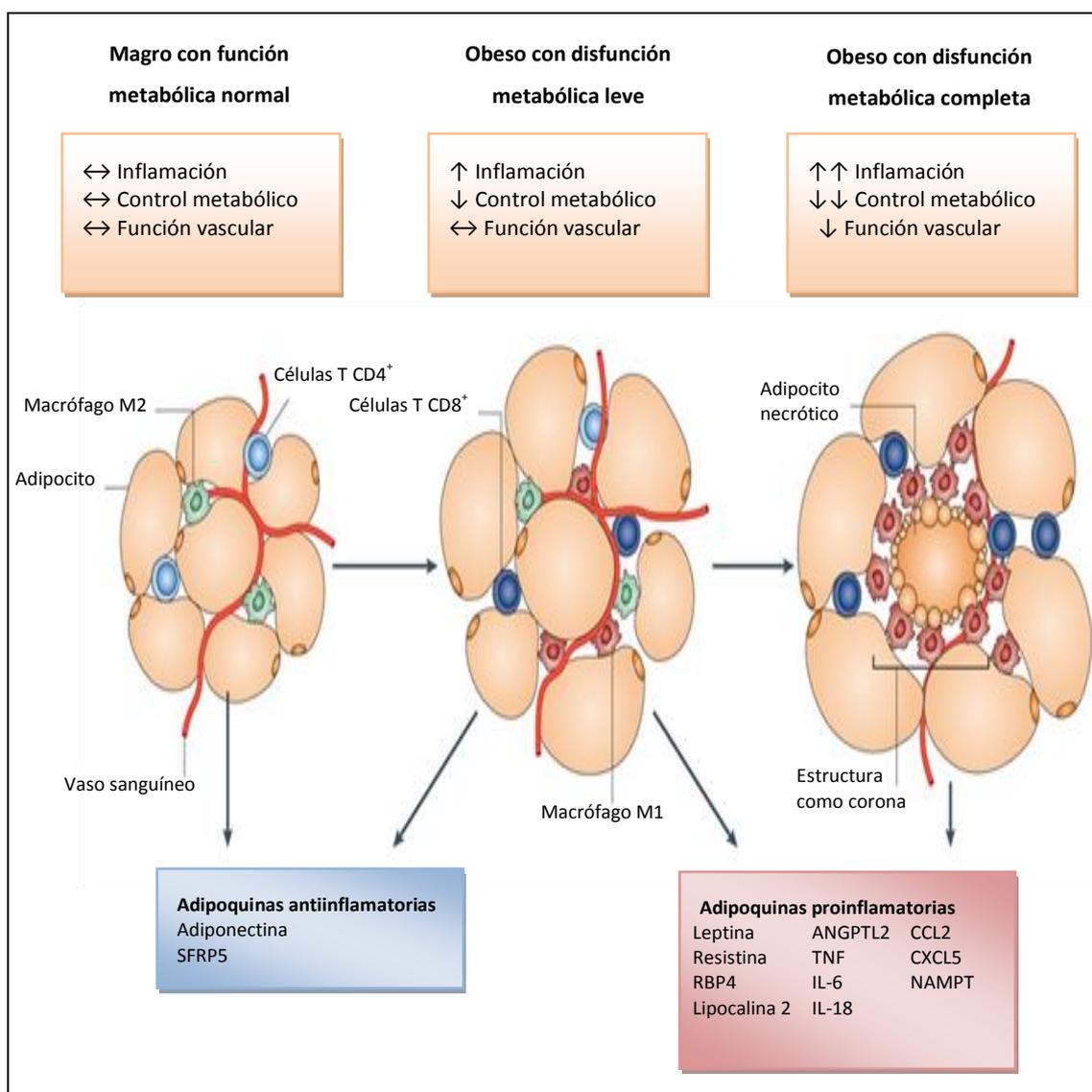


Figura 1. Modulación fenotípica del tejido adiposo.

El tejido adiposo puede ser descrito por 3 clasificaciones estructurales y funcionales: magro con función metabólica normal, obeso con disfunción metabólica leve y obeso con disfunción metabólica completa. Cuando la obesidad se desarrolla, los adipocitos sufren hipertrofia debido al aumento del almacenamiento de triacilglicérol. Con una obesidad limitada es probable que el tejido mantenga una función metabólica relativamente normal y tenga una activación de células inmunes baja y función vascular suficiente. Sin embargo, los cambios cualitativos en el tejido adiposo expandido pueden promover la transición a un fenotipo metabólicamente disfuncional. En el tejido adiposo magro los macrófagos expresan marcadores de M2, mientras que la obesidad conduce al reclutamiento y acumulación de M1, así como células T. Las adipocinas antiinflamatorias, incluyendo adiponectina y proteína secretada similar a frizzle número 5 (SFRP5, del inglés *secreted frizzled-related protein 5*) son producidas preferentemente por el tejido adiposo magro. En estados de obesidad, dicho tejido genera grandes cantidades de factores proinflamatorios, incluyendo leptina, resistina, proteína transportadora de retinol tipo 4 (RBP4, del inglés *retinol-binding protein 4*), lipocalina 2, proteína 2 similar a la angiopoietina (ANGPTL2, del inglés *angiopoietin-like protein 2*), factor de necrosis tumoral (TNF, del inglés *tumour necrosis factor*), interleuquina-6 (IL-6), IL-18, ligando de quimioquinas CC-2 (CCL2, del inglés *CC-chemokine ligand 2*), ligando de quimioquinas CXC-5 (CXCL5, del inglés *CXC-chemokine ligand 5*) y nicotinamida fosforribosiltransferasa (NAMPT, del inglés *nicotinamide phosphoribosyltransferase*). Los individuos obesos, que presentan un estado metabólicamente intermedio en el tejido adiposo, tienen parámetros metabólicos mejores, la expresión de marcadores inflamatorios disminuida y mejor función vascular en comparación con aquellos que poseen un tejido metabólicamente disfuncional. Cuando dicho tejido es metabólicamente disfuncional puede ser asociado con mayor necrosis de los adipocitos, y los macrófagos M1 se disponen alrededor de las células muertas conformando una estructura tipo corona. Adaptado de Ouchi et al. [11].

I. INTRODUCCIÓN

La liberación de ácidos grasos y de citocinas inflamatorias junto con la inflamación local, causan una amplia variedad de estrés celular y disfunción en las células parenquimales de múltiples tejidos, incluyendo miocitos esqueléticos y cardíacos, hepatocitos y células beta pancreáticas, cada uno de los cuales contribuye a la lipotoxicidad. El incremento de la concentración de triglicéridos plasmáticos conduce al depósito de grasa ectópica, especialmente en dichas células, intensificando la lipotoxicidad y la apoptosis celular [12].

1.2. Prevalencia

La obesidad es considerada por la Organización Mundial de la Salud como la epidemia del siglo XXI debido a las dimensiones que ha adquirido a lo largo de las últimas décadas, tanto en países industrializados como en vías de desarrollo, y por su impacto en la morbilidad, la calidad de vida y el gasto sanitario. Se estima que en el año 2015 habrá aproximadamente 2.300 millones de personas adultas con sobrepeso y más de 700 millones con obesidad [13]. En las sociedades industrializadas es el problema nutricional más común entre niños y adolescentes, pero también ha alcanzado cifras alarmantes en los países en desarrollo [14]. En las últimas décadas, países como España, Finlandia, Grecia, Holanda, Canadá y Estados Unidos han sufrido un incremento notorio en la prevalencia de obesidad, con el subsecuente incremento de la morbilidad asociada [1].

En España, el Estudio Delphi sobre Obesidad (1999) mostró que casi el 14% de la población de 2 a 24 años de edad padecía obesidad y el 26.7% sobrepeso [1]. Por su parte, el estudio enKid (1998-2000) reveló que el exceso de peso afectaba a un 26.3% de la población infantil y juvenil, siendo superior entre los 6 y 13 años de edad, y que

I. INTRODUCCIÓN

en los últimos tiempos la obesidad se incrementó en un 14,6% [15]. En el estudio Cuatro Provincias (Cádiz, Murcia, Madrid y Orense), efectuado entre los años 1998 y 2000, se constató una prevalencia del orden del 9.4 al 10.5%, siendo mayor en las provincias con mayor tasa de mortalidad coronaria en adultos (Cádiz y Murcia) [16]. En preadolescentes, las cifras de exceso de peso fueron del 30.8% [17]. Los datos más recientes, procedentes del estudio ALADINO (Alimentación, Actividad física, Desarrollo Infantil y Obesidad) de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2010-2011), donde se reclutaron 7923 niños de 6 a 9 años de edad, constataron un 45.2% de malnutrición por exceso, correspondiendo un 26.1% a sobrepeso y 19.1% a obesidad [18].

A raíz del mencionado incremento de la prevalencia de exceso de peso, el entonces denominado Ministerio de Sanidad y Consumo, lanzó en 2006 la Estrategia *Nutrición, Actividad Física, Prevención de la Obesidad y Salud* (NAOS), que pretende cambiar el estilo de vida de los españoles, fundamentalmente en lo que a ejercicio se refiere, y controlar la alimentación en edades tempranas [1].

1.3. Etiología

La obesidad es una patología multifactorial en la que intervienen factores genéticos y ambientales, en una compleja interacción, y donde también participan influencias psicológicas y culturales, así como mecanismos fisiológicos de regulación. La herencia y el ambiente influyen tanto en el aporte como en el gasto de energía [4].

Muchos de los factores hormonales y neurales que intervienen en la regulación del peso corporal son de tipo genético, como las señales a largo y corto plazo que participan en la saciedad y actividad alimentaria. Pequeños defectos en su expresión y

I. INTRODUCCIÓN

en sus interacciones pueden contribuir de manera importante a la ganancia de peso. El número y el tamaño de los adipocitos, la distribución regional de la grasa corporal y el metabolismo basal también dependen de los genes [4]. Se ha propuesto que la obesidad típica es tan heterogénea y poligénica que no hay genes principales, sino que son 20 o más las variantes de genes comunes las que pueden contribuir, cada una con una carga genética pequeña [19].

En todos los depósitos orgánicos, la formación del tejido adiposo, durante el desarrollo, depende del receptor nuclear denominado Receptor Activado por Proliferadores Peroxisomales (PPAR) γ , el cual es el regulador principal de la transcripción en la adipogénesis. Las diferencias en la expresión de éste pueden contribuir a la formación de los depósitos de grasa visceral o subcutánea [10].

Aunque se plantea que los genes aumentan la susceptibilidad a la obesidad, para que ésta ocurra también deben participar otros factores. Los patrones dietéticos y la actividad física son otras causas importantes de exceso de peso cuando se produce un desajuste entre el estilo de vida y la estructura genética [4].

En las sociedades modernas existe una infinita variedad de alimentos, que están disponibles en todo momento y a un precio accesible, lo cual fomenta un mayor consumo y, por ende, un incremento de la ingesta energética. Además, la sobreingesta calórica suele ser acompañada por un gasto energético bajo [4].

La ingesta de alimentos es controlada por un complejo y heterogéneo sistema endógeno, que incluye el aparato gastrointestinal, los nutrientes circulantes, los depósitos de grasa y de glucógeno, el metabolismo celular, el sistema nervioso

I. INTRODUCCIÓN

periférico, que se encarga de transmitir las señales, y el sistema nervioso central. Así, ésta puede ser regulada, a corto y largo plazo, por sustancias que estimulan el apetito como, corticosterona, neuropéptido Y, endocannabinoides y grelina, y por las que lo inhiben como, péptido YY, insulina, leptina, citocinas, entre otras [3].

El tipo de alimentación, y más concretamente la composición en ácidos grasos de la dieta, puede influir en la respuesta lipolítica del tejido adiposo, la cual se justifica por cambios en la conformación de las proteínas de membrana, en la eficacia de los sistemas de transducción y en la composición de triglicéridos [3]. Aparentemente, el seguimiento de dietas hiperlipídicas produce sobrepeso y obesidad debido a que favorecen una ingesta excesiva de energía. No obstante, se cree que el efecto que ejerce este tipo de dietas, sobre la acumulación de grasa, no se explica únicamente por este motivo, sino que también está relacionado con la diferente utilización metabólica de la grasa y los hidratos de carbono en el organismo [3].

En adolescentes, el desarrollo de obesidad se ha relacionado con una ingesta calórica elevada [20]. Además, algunos autores han observado que el consumo de carbohidratos en adolescentes obesos es mayor que en normopeso [20] o que el consumo de proteínas y el porcentaje de energía aportado por éstas también es mayor [21]. En España, actualmente, se consume una dieta mediterránea modificada por cambios alimentarios vinculados al desarrollo económico de las últimas décadas [22]. En niños y adolescentes, se ha observado que la dieta es hipercalórica e hiperlipídica (47% del valor calórico total) con un excesivo aporte de ácidos grasos saturados (17% del valor calórico total) y de proteínas (17%), así como baja en carbohidratos (38%) [16].

I. INTRODUCCIÓN

La energía neta obtenida a partir de los alimentos se destina a cubrir gastos correspondientes al metabolismo basal, la actividad física y la acción térmica de los alimentos. Además, en ciertas situaciones fisiológicas, como el crecimiento, el gasto energético se ve incrementado por la formación de estructuras corporales [3].

Así, la naturaleza sedentaria de las personas puede constituir un problema que agrave la obesidad [4]. La práctica de ejercicio físico favorece al equilibrio entre la ingesta y el gasto energético y, por consiguiente, puede evitar la acumulación de grasa corporal [3]. En niños y adolescentes, se ha observado que, el sedentarismo contribuye al desarrollo y mantenimiento de la obesidad [23]. En España, según datos recabados en el año 2003, el 58,5% de la población de 16 años o más no realiza actividad física o deporte alguno durante el tiempo libre, el 34% pasa sentada la mayor parte de la jornada laboral, y el 46% está de pie sin realizar grandes esfuerzos o desplazamientos [24].

Esta información pone de manifiesto que la población española se ve afectada por cambios alimentarios que favorecen una ingesta energética excesiva, así como por el incremento del sedentarismo, tanto en la infancia y la adolescencia como en la vida adulta.

1.4. Programación del desarrollo

Como se sabe, la obesidad puede tener sus raíces antes del nacimiento y perpetuarse en la etapa adulta. La nutrición durante los primeros estadios de la vida no solo repercute sobre el normal crecimiento y desarrollo corporal del niño sino también en futuras enfermedades del adulto, *programando* la salud a largo plazo [25].

I. INTRODUCCIÓN

Existen algunos estudios que sugieren que las etapas tempranas de la vida pueden ser tomadas como períodos críticos para el desarrollo de los adipocitos y el crecimiento del tejido adiposo en los seres humanos [26]. El concepto de períodos críticos del desarrollo fetal puede determinar la susceptibilidad a las enfermedades en la etapa adulta. Éstos ocurren cuando los tejidos son plásticos, es decir, cuando el feto está experimentando una rápida proliferación celular que lo hace sensible a los cambios ambientales [27]. En células aisladas, se ha observado que los primeros depósitos de grasa tienen una elevada capacidad de diferenciación y proliferación, lo cual puede contribuir a definir la posterior expansión del tejido adiposo. La adquisición de células grasas en los primeros años de vida parece ser un proceso irreversible [26]. Recientemente, en un estudio que utilizó técnicas isotópicas, se confirmó que el número de adipocitos se establece durante la infancia y la adolescencia, y éste es el principal determinante de la masa grasa en adultos [28].

Hasta la fecha, el desarrollo del tejido adiposo en la vida intrauterina humana ha sido escasamente estudiado [26]. Un estudio anatómico sugiere que los primeros vestigios de dicho tejido son detectables entre las 14 y 16 semanas de gestación y que después los lóbulos de grasa se desarrollan lentamente con predominio de células adiposas multiloculares. Al comienzo del 3er trimestre, los adipocitos se encuentran en las áreas de depósito de grasa características pero son todavía bastante pequeños [29]. Después del nacimiento, el número de lóbulos grasos permanece constante, mientras que el tamaño está en continuo crecimiento. Se ha establecido que los períodos sensibles del desarrollo del tejido adiposo, comprenden el posterior al nacimiento y entre los 9 y 13 años de edad [26]. Esto justifica que se enfatice el estudio de la obesidad en etapas tempranas de la vida como se ha realizado en la presente tesis doctoral.

I. INTRODUCCIÓN

Estudios epidemiológicos y experimentales han mostrado que el aporte de nutrientes en el útero y durante la infancia tiene implicaciones a largo plazo en el desarrollo de enfermedades metabólicas, como obesidad, diabetes tipo 2, ECV e hipertensión [25]. Los cambios en el desarrollo adiposo y del metabolismo son adaptaciones importantes que determinan un incremento en el riesgo de síndrome metabólico [27].

El crecimiento y desarrollo funcional del feto depende de su genotipo, del medio hormonal y fetal, y de las interacciones con el aporte de nutrientes y oxígeno [30]. Un medio intrauterino subóptimo, que resulta del estado nutricional alterado o del desequilibrio hormonal materno, tiene el potencial de reajustar el desarrollo placentario y fetal para asegurar la supervivencia del feto a corto plazo. Sin embargo, a menudo, esto también condiciona la salud a largo plazo (Figura 2) [27]. Las adaptaciones ocurridas en la programación de la obesidad y otras enfermedades crónicas, que son gobernadas por los cambios en la expresión génica, pueden permanecer silenciosas hasta que se produzca un estímulo ambiental, como una dieta elevada en grasa o un medio obesogénico [31,32].

Barker y colaboradores afianzaron el concepto del origen del desarrollo de la salud y enfermedad, a través de estudios epidemiológicos que vincularon el bajo peso al nacer con el incremento del riesgo de enfermedad coronaria, hipertensión y diabetes tipo 2 [33]. La hipótesis de Barker [34] y la de la insulina fetal [35] han propuesto que el deterioro de la salud cardiovascular de los adultos es programada en el útero por una nutrición materna inadecuada o por una reducción, genéticamente determinada, del crecimiento fetal mediada por la insulina, que da como resultado el nacimiento de niños pequeños. Se ha establecido que el bajo y el elevado peso al nacer, la obesidad

I. INTRODUCCIÓN

materna, la diabetes gestacional y la rápida ganancia de peso postnatal, particularmente en niños pretérmino, están asociados con un incremento del riesgo de obesidad, intolerancia a la glucosa, insulinoresistencia, dislipidemia e hipertensión en la vida adulta [25].

Labayen et al. [36] han observado una relación inversa entre el peso al nacer y la adiposidad abdominal en adolescentes, independientemente de la masa grasa total, edad gestacional, sexo, duración de la lactancia materna, estadio puberal, actividad física y estatus socioeconómico. Esto hace pensar que la nutrición fetal, indicada con el peso al nacer, puede tener un efecto de programación sobre la adiposidad abdominal ulteriormente en la vida.

Existen evidencias biológicas fuertes que indican que tanto las deficiencias como los excesos nutricionales en la dieta materna pueden “reprogramar” la forma en que las células se dividen, diferencian y responden a su entorno metabólico en el hijo [25]. Estudios en animales han mostrado que la elevada ingesta de grasa, AGS y carbohidratos, y la deficiencia de proteínas y diversas vitaminas durante el embarazo y la lactancia aumentan el riesgo de síndrome metabólico en los hijos [27,30,37,38,39]. Estas adversidades nutricionales y endócrinas convergen en alteraciones del apetito y en respuestas metabólico-endocrinas inapropiadas a la ingesta de nutrientes, involucrando el cerebro, tejido adiposo, músculo, hígado, páncreas y otros órganos (Figura 2) [25,38,40].

I. INTRODUCCIÓN

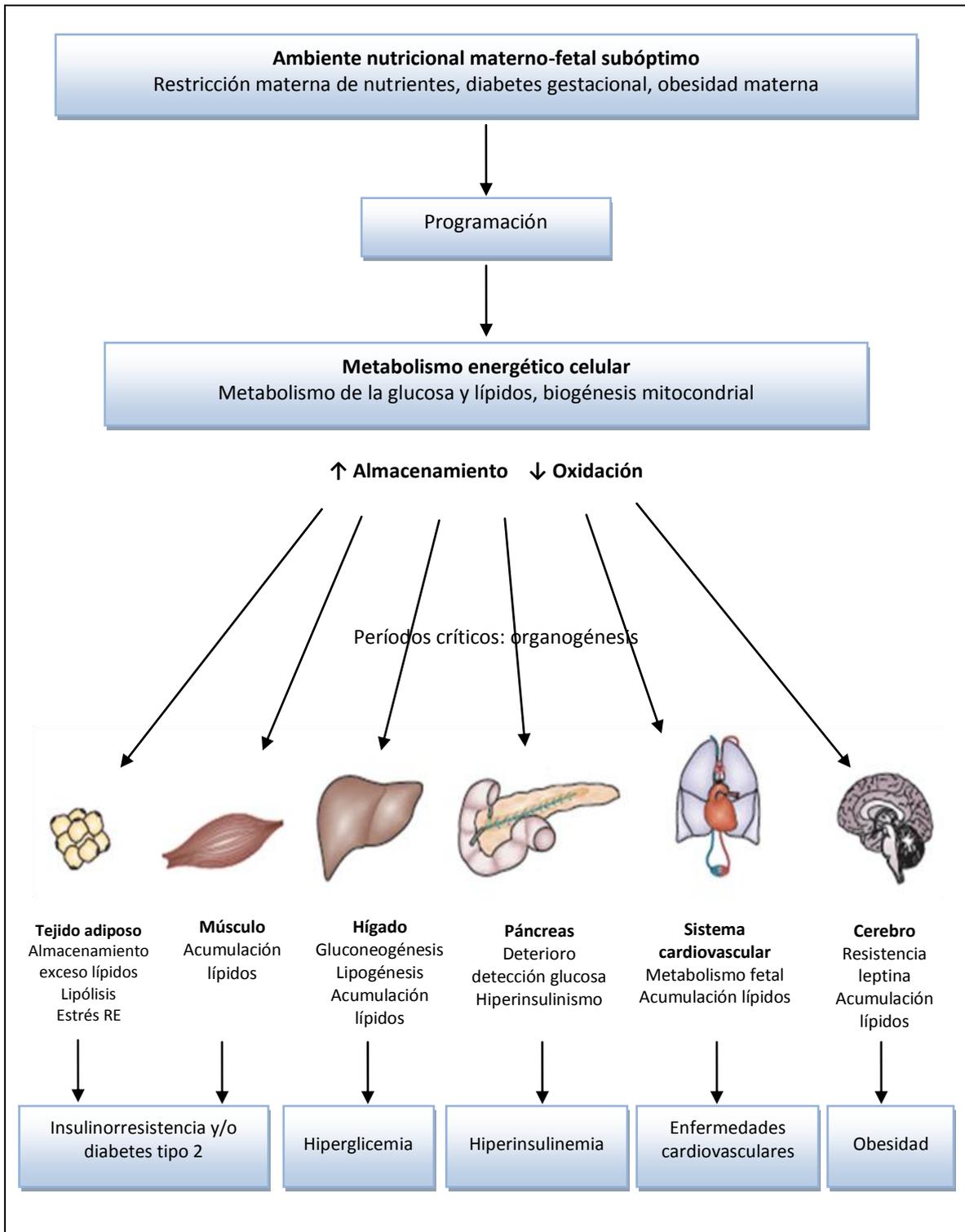


Figura 2. Contribución del entorno materno-fetal en la programación del desarrollo del metabolismo energético celular a favor del almacenamiento de lípidos.

Este almacenamiento predispone a los individuos al desarrollo de síndrome metabólico. RE, retículo endoplasmático. Adaptado de Symonds et al. [27].

Estudios en animales alimentados con dietas ricas en grasa o carbohidratos durante embarazo y lactancia han mostrado un incremento del depósito de lípidos en músculo,

I. INTRODUCCIÓN

tejido adiposo e hígado, así como, modulación de la expresión de genes hepáticos, desarrollo de células β pancreáticas, secreción de insulina y leptina alterados en los hijos jóvenes [30,37,41]. Posteriormente, esos hijos mostraron programación metabólica, involucrando múltiples órganos, incluyendo tejido adiposo, músculo, hígado y páncreas, y reprogramación de las vías del apetito hipotalámico. Esto pone en evidencia que un ambiente endócrino-sustrato-nutriente inadecuado temprano tiene consecuencias a largo plazo [25].

1.5. Obesidad en la etapa gestacional

El impacto de la obesidad sobre los resultados del embarazo y el parto es considerado un problema obstétrico de gran importancia, ya que el exceso de peso está implicado en la salud materna, fetal, neonatal, así como en el riesgo de desarrollar enfermedades durante la vida postnatal temprana y adulta [42].

Un índice de masa corporal elevado durante el embarazo se ha relacionado con un mayor riesgo de enfermedades en la madre (preeclampsia, hipertensión inducida por el embarazo y diabetes gestacional) y con resultados adversos en el feto y el neonato (elevado peso al nacer, insulinoresistencia, hipoglicemia, nacimiento pretérmino, entre otros) [42,43,44]. Cabe destacar que cuanto mayor es el grado de obesidad el riesgo de desarrollar complicaciones perinatales como preeclampsia, macrosomía y parto por cesárea se ve aumentado [45].

Como se sabe, las mujeres obesas tienen una mayor predisposición a la lipotoxicidad, disregulación metabólica, estrés oxidativo e inflamación que las normopeso, lo cual puede ser exacerbado por la acumulación de grasa durante el embarazo [46,47]. El

I. INTRODUCCIÓN

estrés oxidativo materno se ha relacionado en forma inversa con el peso al nacer [48], y el IMC pregestacional positivamente con la cantidad de masa grasa del neonato [49].

La obesidad materna [50,51] y el aumento de peso excesivo durante la gestación [51] constituyen factores fetales-neonatales de riesgo de obesidad posterior. La macrosomía [43,52] y los recién nacidos pequeños (PEG) o grandes para la edad gestacional (GEG) [49,53] son complicaciones frecuentes de las embarazadas obesas y/o con aumento de peso excesivo. Los neonatos que presentan dichas características son propensos al desarrollo de síndrome metabólico durante la infancia y la edad adulta [51].

Aunque el descenso de los recién nacidos GEG implica beneficios para los resultados obstétricos, un elevado peso al nacer no siempre es observado en madres obesas o con sobrenutrición. Así, Rooney y Ozanne [50] consideran que se debería tener cautela al utilizar el peso al nacer como un indicador de la mejora de la salud de los hijos. Éstos establecen que dicho parámetro antropométrico es un índice bruto de la exposición *in útero* y no es en absoluto un predictor definitivo de resultados adversos del desarrollo.

Recientemente, se ha indicado que el peso al nacer también tiene un efecto significativo sobre los niveles de grelina [54], que es la principal hormona orexigénica del organismo. En ratas y ratones, se ha constatado que los hijos de gestantes obesas desarrollan hiperfagia. También se ha documentado hipoactividad y/o una reducción de la masa y función muscular [50].

En un estudio en que se investigó la relación del peso al nacer con las hormonas vinculadas al apetito y otros parámetros bioquímicos de niños con sobrepeso de 9 a 10 años de edad [54], se han encontrado resultados interesantes. El peso al nacer se

I. INTRODUCCIÓN

correlacionó negativamente con la insulinoresistencia y la concentración de grelina en la infancia, mientras que el tercil más alto de éste se asoció con un incremento del estrés oxidativo. Esto sugiere que la grelina puede estar implicada en el mayor aumento de peso ocurrido en niños con sobrepeso que tuvieron menor peso al nacer.

Otro aspecto relevante a considerar, en el estudio del efecto de la obesidad materna sobre los hijos, es el hábito tabáquico. La exposición intrauterina directa al tabaco hasta el final del embarazo conduce a diferentes adaptaciones en el crecimiento, reflejadas en el peso y la talla, y a un incremento del riesgo de sobrepeso y obesidad en la etapa preescolar [55].

Poston et al. [56] han concluido que las evidencias actuales disponibles sobre el impacto de la obesidad gestacional en la salud de la madre y el hijo, a corto y largo plazo, plantean la necesidad de acciones dirigidas a controlar el peso durante el embarazo y prevenir la obesidad en mujeres en edad reproductiva. También establecieron que, aunque ha sido sustentado por estudios en animales, el hecho que la madre pueda transferir el riesgo de obesidad al hijo a través de mecanismos no genómicos requiere una investigación más detallada en humanos, con seguimiento de los niños a largo plazo [56].

1.6. Patologías asociadas

La obesidad causa y exacerba un número importante de problemas de salud, tanto independientemente como en asociación con otras afecciones. Es un factor de riesgo de ECV y está fuertemente relacionada con otros factores de riesgo de dichas patologías, tales como hipertensión, diabetes, dislipidemia e inflamación [57,58]. Además, se vincula al incremento de la incidencia de ciertas formas de cáncer,

I. INTRODUCCIÓN

colecistopatías, complicaciones respiratorias (apnea obstructiva del sueño) y osteoartritis de pequeñas y grandes articulaciones, así como al aumento de la mortalidad [1,4].

Si bien, la información disponible sobre la infancia es menor que la referente a adultos, es evidente que el efecto del sobrepeso en dicha etapa es similar al de la vida adulta [2]. Durante infancia y adolescencia las comorbilidades vinculadas a la obesidad pueden ser de índole metabólico (diabetes tipo 2, síndrome metabólico), ortopédico, cardiovascular (dislipidemia, hipertensión, hipertrofia ventricular izquierda, aterosclerosis), psicológico (depresión, mala calidad de vida), neurológico (seudotumor cerebral), hepático (hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica), pulmonar (apnea obstructiva del sueño, exacerbación del asma) y renal (proteinuria). Por otra parte, resultados del *Nurses' Health Study II* han mostrado que, en mujeres, un IMC elevado durante la adolescencia se relaciona con un aumento de muerte prematura en la etapa adulta [59].

En la mayoría de las personas obesas se observa resistencia insulínica [60], lo que favorece la lipogénesis y la acumulación de grasa [3]. Las evidencias disponibles sugieren que niños y adolescentes obesos tienen mayor concentración de insulina plasmática [21,61,62], leptina [20,21,62] e insulinoresistencia [61], mientras que la adiponectina es menor [20]. Consecuentemente, la relación leptina/adiponectina, insulina/glucosa y el índice de insulinoresistencia, HOMA (del inglés *Homeostasis Model Assessment*), también resultaron mayores en este grupo [20]. La leptina es una proteína que es liberada por el tejido adiposo junto con otras, como la resistina o la adiponectina, cuando el acúmulo de grasas es significativo [3]. Tanto leptina como

I. INTRODUCCIÓN

adiponectina juegan un papel importante en la resistencia a la insulina [3]. Además, la insulinoresistencia ha sido relacionada con la composición corporal, así la relación leptina/adiponectina, HOMA y la relación insulina/glucosa tienen correlación con la masa grasa, y, los dos primeros, también con el IMC [20]. Se ha mostrado una relación positiva entre la concentración de leptina y el IMC [63] y el perímetro de la cintura [64].

Otro parámetro importante a considerar, en situaciones de exceso de peso, es la inflamación. Se ha observado que, los adultos con obesidad mórbida presentan mayor concentración de proteína C reactiva (PCR) que los normopeso [60]. En niños y adolescentes con sobrepeso, la PCR también ha resultado mayor en comparación con aquellos de peso adecuado [20,21]. El IMC, el porcentaje de masa grasa y la relación cintura cadera han sido postulados como predictores de la PCR circulante, la interleucina-6 y de la leptina, las cuales son consideradas marcadores de inflamación [21].

Con respecto al perfil lipídico, se ha constatado que los adultos con obesidad mórbida tienen una concentración elevada de triglicéridos, así como reducida de lipoproteínas de alta densidad (HDL, del inglés *High-density lipoproteins*) [60]. En niños y adolescentes, se ha observado que la obesidad determina una mayor concentración de colesterol [61], lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés *Low-density lipoproteins*) [65] y TAG [21,61,62] plasmáticos, y menor de HDL [20,21,62]. Asimismo, se ha mostrado una relación positiva entre el porcentaje ideal de peso corporal y la concentración de colesterol total y triacilglicéridos [64], mientras que la circunferencia de

I. INTRODUCCIÓN

la cintura ha sido relacionada, también positivamente, con la concentración de colesterol total [64].

Con respecto a la tensión arterial, se ha puesto de manifiesto que, tanto las personas adultas [60], como niños y adolescentes [21,61], con exceso de peso, presentan mayores cifras de la misma en comparación con los normopeso.

Un hallazgo importante en el estudio del exceso de peso infantojuvenil es la presencia de estrés oxidativo [66]. En niños obesos prepuberales, se ha constatado una mayor peroxidación lipídica que en normopeso [65]. Diversos marcadores de estrés oxidativo han sido relacionados en forma directa con el IMC, la adiposidad abdominal [65], la masa grasa, así como con el colesterol total, LDL, apolipoproteína B (apo B) circulantes y adiponectina [20]. Además, la capacidad antioxidante total es menor en adolescentes obesos que en los normopeso [61], encontrándose correlación entre ésta y la adiposidad general, la masa magra, la concentración de insulina plasmática en ayunas y la insulinoresistencia [61]. Se ha observado que el aumento de la resistencia a la insulina tiene relación con el descenso de la actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa [20,64] y catalasa, mostrando menor actividad de esta última en los tertiles más altos de HOMA [64]. Asimismo, la actividad de la glutatión peroxidasa, otra enzima antioxidante, se relacionó negativamente con el IMC en mujeres adolescentes, mientras que el glutatión oxidado se ha correlacionado positivamente con el perímetro de la cintura [20].

Tanto estrés oxidativo como inflamación están presentes en niños sin comorbilidades al comienzo de la obesidad [66]. La disminución de los niveles de inflamación crónica y de estrés oxidativo en la infancia puede prevenir la posterior alteración metabólica y el

I. INTRODUCCIÓN

aumento de la morbilidad y la mortalidad cardiovascular en la edad adulta [66]. Por lo tanto, las modificaciones del estilo de vida, que consisten en la reducción de la ingesta de calorías, una dieta enfocada sobre la ingesta de macro y micronutrientes particulares y el fomento de ejercicio regular programado, con un formato, tipo y duración personalizados, pueden reducir las consecuencias de la obesidad infantil [66].

1.7. Tratamiento

El objetivo del tratamiento de la obesidad consiste en el control del peso corporal y no el simple adelgazamiento, definido como el logro del mejor peso posible en el marco de una salud global. Lograr un peso corporal o una masa grasa ideales no siempre es realista o deseable, incluso en algunos casos puede ser inadecuado. Una pérdida de peso correspondiente al 5-10% puede mejorar la salud a corto plazo, reduciendo la gravedad de las comorbilidades [4].

El adelgazamiento implica la pérdida de grasa pero también de proteínas, en cantidades que dependen en cierto grado de la velocidad de la reducción del peso. Una disminución drástica de las calorías que produzca una pérdida de peso rápida puede dar lugar a una respuesta similar a la inanición, con la consecuente adaptación metabólica a un período previsible de privación. En cambio, una pérdida de peso sostenida durante períodos más prolongados favorece la reducción de los depósitos de grasa, limita la pérdida proteica de tejidos vitales y evita la caída rápida del metabolismo basal que acompaña a un adelgazamiento rápido [4].

Los programas de adelgazamiento deben incluir una dieta nutricionalmente equilibrada con ejercicio y modificación del estilo de vida [4]. La combinación de dieta y ejercicio es más efectiva en evitar recaídas a largo plazo, en la prevención del

I. INTRODUCCIÓN

comienzo de la sarcopenia vinculada a la obesidad y en alcanzar una mayor pérdida de grasa, que la aplicación de dieta o ejercicio en forma independiente [67].

La clave de la intervención sobre la obesidad es la modificación de la conducta. Además de la nutrición y la actividad física, se debe reestructurar el entorno del paciente para reducir las conductas o hábitos que conducen a la obesidad [4]. El contacto continuado del paciente con el clínico facilita el control del peso a largo plazo [4]. Los programas de adelgazamiento que tienen éxito combinan los cambios en la elección de los alimentos con el ejercicio y, a menudo, con modificaciones de la conducta, educación nutricional y apoyo psicológico [4]. Cuando esas estrategias no logran una reducción de la grasa corporal deseada, puede añadirse medicación y, en caso de obesidad patológica o extrema ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$), puede ser necesaria una intervención quirúrgica [4].

Como se ha mencionado, el tratamiento de la obesidad no sólo implica la pérdida de masa grasa sino que también conduce a la mejora del perfil cardiometabólico de los pacientes. Así, se ha observado reducción del peso corporal [68,69], IMC, perímetro de la cintura, tensión arterial sistólica y diastólica, colesterolemia, LDL, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1, insulinemia, leptinemia [68] e inflamación [70,71] y cambios favorables en la composición corporal, como aumento de la masa magra y reducción de la masa grasa [68]. Además, en pacientes con síndrome metabólico, la aplicación de una dieta hipocalórica con cambios en la ingesta de ácidos grasos, reduce la incidencia de dicha afección [68].

1.7.1. Control del incremento de peso en la etapa gestacional

Las evidencias existentes ponen de manifiesto la importancia del incremento de peso durante la gestación, no solo en beneficio del hijo sino también para la salud materna [72]. El tratamiento de la obesidad durante la gestación debe centrarse en el control de la ganancia de peso, asegurándose cubrir las necesidades nutricionales de la madre y el hijo [4].

El aumento de peso durante el embarazo está constituido por los productos de la concepción, la expansión del volumen sanguíneo y del fluido extracelular, y el depósito de grasa materna, y constituye una estimación imprecisa de la adiposidad materna (o fetal) [56]. A partir del comienzo del embarazo, independientemente de la existencia de obesidad previa o del IMC, el depósito de grasa aumenta. La ganancia de tejido adiposo en la gravidez normal (aproximadamente 4 kg) es un mecanismo de precondicionamiento fisiológico en anticipación a las demandas maternas y fetoplacentarias asociadas con la gestación tardía y la lactancia [42]. Al comienzo de la gestación, en mujeres con un IMC adecuado, el incremento de tejido adiposo se dispone en los compartimentos subcutáneos de las mamas, tronco y muslo superior, mientras que, hacia el final del embarazo una pequeña cantidad de grasa es almacenada en el compartimento visceral [73,74]. Cuando las madres presentan obesidad, el exceso de lípidos es almacenado predominantemente en el dicho compartimento [74,75]. El aumento de la adiposidad en esta región probablemente refleja más los resultados maternos y fetales adversos que el incremento absoluto del IMC *per se* [42].

I. INTRODUCCIÓN

De todos los datos clínicos que se pueden evaluar durante el embarazo, la ganancia de peso es el que guarda una relación más fuerte con el resultado del mismo, tanto en la madre como en el neonato. Los incrementos por encima o por debajo de las recomendaciones se asocian a procesos patológicos en ambos. En cada mujer, la valoración del peso se individualiza mediante el índice de masa corporal [76]. En el pasado, se consideraba normal un aumento de peso de aproximadamente 12 kg en embarazadas sanas [77]. No obstante, actualmente la forma más correcta de determinar el mismo es a través del IMC pregestacional. En el año 2009 el Instituto de Medicina (IOM, del inglés *Institute of Medicine*) de Estados Unidos publicó las nuevas recomendaciones de incremento de peso para embarazadas, teniendo en cuenta tanto la salud fetal como materna [5]. Éstas se basan en el IMC pregestacional, considerándose adecuado un incremento de peso de 12.5-18 kg para las embarazadas desnutridas ($IMC < 18.5 \text{ kg/m}^2$), de 11.5-16 kg para las gestantes normopeso ($18.5 \leq IMC < 25 \text{ kg/m}^2$), de 7-11.5 kg para las madres con sobrepeso ($25 \leq IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) y de 5-9 kg para aquellas que presentan obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). El planteamiento de las nuevas pautas se debe principalmente a las actuales evidencias referentes a los efectos del aumento de peso durante la gestación sobre la salud del hijo y la madre, al incremento de la obesidad y de la ganancia ponderal, a la mayor diversidad étnica y al aumento de la edad de las embarazadas en Estados Unidos.

Rooney et al. [78] evaluaron una cohorte de 540 mujeres que habían documentado su peso en un período de 5 años postparto. Dichos autores concluyeron que, un incremento de peso excesivo y el fallo en la pérdida de éste después del embarazo son predictores importantes e identificables de la obesidad a largo plazo. Por otra parte, se ha observado que en las embarazadas con ganancia de peso por encima de las nuevas

I. INTRODUCCIÓN

recomendaciones IOM no disminuye el riesgo de tener hijos PEG pero aumenta el riesgo del parto de niños GEG o macrosómicos, y que las madres obesas con un aumento ponderal por debajo de lo esperado presentan mayor riesgo de tener recién nacidos PEG [79].

A medida que la obesidad se hace más severa disminuye la ganancia y aumenta la pérdida de peso [80]. En embarazadas con obesidad grado III ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$), la reducción del peso se asocia con un elevado riesgo de tener recién nacidos PEG y descenso de los partos de niños GEG, mientras que un incremento ponderal superior al recomendado aumenta el riesgo de este último sin disminuir los recién nacidos PEG [81].

1.7.2. Tratamiento de la obesidad infantojuvenil

La adolescencia constituye un período crítico de crecimiento y desarrollo, durante el cual las alteraciones orgánicas pueden afectar la posterior vida adulta. El inicio de la obesidad es una cuestión de especial preocupación en niños y adolescentes, ya que es un factor de riesgo temprano de obesidad en la adultez [82]. Las asociaciones observadas entre el exceso de peso en la etapa adulta, las comorbilidades concomitantes y el sobrepeso en la adolescencia sugieren que éste puede ser un período crucial para focalizar los esfuerzos de prevención [2].

La adolescencia es un período de enormes cambios físicos y cognitivos. Los adolescentes son nutricionalmente vulnerables debido a las mayores necesidades de nutrientes, en un momento en que los cambios de estilo de vida y de hábitos alimentarios influyen en gran medida en la ingesta de alimentos [4].

I. INTRODUCCIÓN

Los objetivos del tratamiento dependerán de la edad, severidad del exceso de peso y de la existencia de comorbilidades (Tabla 1) [2]. Se establece que, en niños con sobrepeso, la meta a plantearse debe ser mantener el peso corporal o disminuir la velocidad de su ganancia y, en aquellos que lo requieran, se incluirá la pérdida de peso [4]. Para el tratamiento, se deben tener en cuenta los aspectos considerados para los adultos, con modificación de los hábitos alimentarios de la familia. El programa debe mantenerse a largo plazo, durante todo el período de crecimiento o incluso más allá, con apoyo a la familia. [2,4].

Tabla 1. Objetivos de tratamiento y control de peso basados en percentiles de IMC y estado de salud.

IMC	Clasificación	Objetivos del tratamiento
< percentil 85	Normopeso	Mantener el percentil del IMC para prevenir obesidad
Percentil 85 – 97	Sobrepeso	Mantener IMC con la edad para reducirlo a < p85; para IMC >25 kg/m ² , mantenimiento peso
≥ percentil 97	Obesidad	Mantenimiento peso (niños) o pérdida peso gradual (adolescentes) para reducir percentil de IMC
≥ 30 kg/m²	Punto corte obesidad en la vida adulta	Pérdida peso gradual (1-2 kg/mes) para lograr IMC saludable
≥ percentil 97 y existencia de comorbilidad	Obesidad con comorbilidad	Pérdida peso gradual (1-2 kg/mes) para lograr IMC saludable; evaluar necesidad tratamiento adicional de patologías asociadas

Adaptado de Daniels et al. [2] y actualizado con los nuevos patrones de crecimiento infantil de la Organización Mundial de la Salud de 2006 [83].

Para niños y adolescentes con IMC >percentil 85 hay 3 posibles objetivos para el control de peso, dependiendo de la edad y grado de exceso de peso: 1) desacelerar la ganancia de peso para lograr el mantenimiento del IMC, 2) mantenimiento del peso para mejorar el IMC con el aumento de la talla, y/o 3) pérdida de peso gradual a una velocidad de 1 a 2 kg/mes para mejorar el IMC [2]. Aquellos que presentan obesidad

I. INTRODUCCIÓN

(IMC \geq percentil 97) [83] con comorbilidades requieren un enfoque individualizado en función de la severidad de éstas y considerar la inclusión de otras modalidades de tratamiento. Cuando la pérdida de peso es necesaria, se recomienda que sea lenta, pero si se trata de adolescentes mayores que ya han completado el crecimiento lineal y tienen un IMC ≥ 30 kg/m² se requerirá un tratamiento más agresivo similar a los adultos para reducir el riesgo a largo plazo [2].

La Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición [84], el Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría [85] y la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad [86] han establecido que el tratamiento de sobrepeso y obesidad en la adolescencia debe consistir en reducción de la ingesta calórica, aumento del gasto de energía, a través del incremento de la actividad física, y modificación de las conductas que conducen a la sobrealimentación y sedentarismo. Los programas de pérdida de peso dirigidos a este grupo etario deben reducir la ingesta calórica, sobre todo, a partir de grasas totales y de grasas saturadas, y deben basarse en una dieta equilibrada, que prevenga la deficiencia de vitaminas y minerales [84,86].

De forma similar a los adultos, la aplicación de programas de estilo de vida saludable, en niños y adolescentes con sobrepeso, produce reducción del IMC, de la adiposidad abdominal, del porcentaje de masa grasa [65], de las LDL [65,87], de los TAG [87], del estrés oxidativo [65], de la insulina en ayunas, de la insulinoresistencia y de la tensión arterial [87], menor prevalencia de hipercolesterolemia, descenso de la concentración de homocisteína y aumento de vitaminas liposolubles antioxidantes [88]. Asimismo, se ha logrado alcanzar valores de estado antioxidante similares a los de los niños normopeso del grupo control [65].

2. ÁCIDOS GRASOS

2.1. Estructura química, clasificación y nomenclatura

Los ácidos grasos son moléculas orgánicas ricas en energía metabólica, compuestas por un esqueleto carbonado, generalmente de cadena lineal, con un grupo metílico y otro carboxílico en sus extremos (Figura 3). En el ser humano, constituyen la estructura básica de TAG, fosfolípidos y ésteres de colesterol, encontrándose en menor proporción en forma de ácidos grasos libres [3].

En función del número de átomos de carbono, pueden clasificarse en ácidos grasos de cadena corta (4-6 átomos de carbono), media (8-14 átomos de carbono) o larga (≥ 16 átomos de carbono). De acuerdo al grado de insaturación, se pueden dividir en ácidos grasos saturados (AGS), cuando no contienen dobles enlaces en su cadena carbonada, y en insaturados, cuando poseen dobles enlaces, siendo monoinsaturados (AGMI) si sólo presentan un doble enlace en su estructura o poliinsaturados (AGPI) cuando tienen dos o más [4]. A su vez, los ácidos grasos insaturados se pueden subdividir en familias o series en función de la posición del primer doble enlace, contando a partir del carbono metilo terminal, pudiendo ser ω -9 o n-9, ω -7 o n-7, ω -6 o n-6 y ω -3 o n-3 (Figura 3) [3,4,89].

I. INTRODUCCIÓN

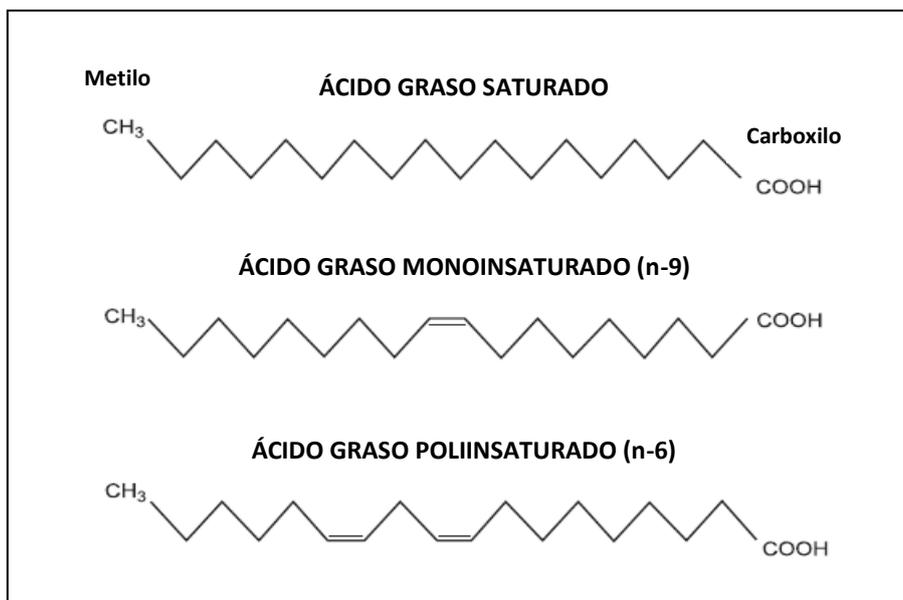


Figura 3. Estructura química de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.

Como se muestra en la Tabla 2, la nomenclatura de los ácidos grasos puede basarse en las normas de la IUPAC (*IUPAC Rules for the Nomenclature of Organic Chemistry*), dando lugar a los nombres sistemáticos, o pueden utilizarse otras formas más sencillas que son las más utilizadas, como el nombre común. Así, por ejemplo, el ácido linoleico se puede denominar *ácido 9 cis, 12 cis octadecadienoico*, donde el 9 y el 12 indican la posición de los dobles enlaces contando a partir del grupo carboxilo, o se puede denominar C18:2 n-6 (nomenclatura fisiológica), lo cual indica que el ácido graso posee 18 átomos de carbono y dos insaturaciones, ubicándose la primera en el carbono 6 contando desde el grupo metilo terminal [3].

I. INTRODUCCIÓN

Tabla 2. Nomenclatura de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) comúnmente analizados en muestras biológicas.

Grupo	Serie	Acido graso	Nombre común	Nombre sistemático
AGS		C4:0	Butírico	Butanoico
		C6:0	Caproico	Hexanoico
		C8:0	Caprílico	Octanoico
		C10:0	Cáprico	Decanoico
		C12:0	Láurico	Dodecanoico
		C14:0	Mirístico	Tetradecanoico
		C16:0	Palmitico	Hexadecanoico
		C18:0	Esteárico	Octadecanoico
		C20:0	Aráquico	Eicosanoico
		C22:0	Behénico	Docosanoico
	C24:0	Lignocérico	Tetracosanoico	
AGMI	n-7	C16:1	Palmitoleico	<i>cis</i> -9-hexadecaenoico
	n-9	C18:1	Oleico	<i>cis</i> -9-octadecaenoico
	n-9	C18:1	Elaídico	<i>trans</i> -9-octadecaenoico
	n-7	C18:1	Vaccénico	<i>trans</i> -11-octadecaenoico
	n-11	C20:1	Gadoleico	<i>cis</i> -9-eicosaenoico
	n-9	C20:1	Gondoico	<i>cis</i> -11-eicosaenoico
	n-9	C22:1	Erúcico	<i>cis</i> -13-docosaenoico
	n-9	C24:1	Nervónico	<i>cis</i> -15-tetracosenoico
AGPI	n-9	C20:3	"Mead"	<i>cis</i> -5,8,11-eicosatrienoico
	n-6	C18:2	Linoleico	<i>cis</i> -9,12-octadecadienoico
	n-6	C18:3	γ -Linolénico	<i>cis</i> -6,9,12-octadecatrienoico
	n-6	C20:3	Dihomo- γ -linolénico	<i>cis</i> -8,11,14-eicosatrienoico
	n-6	C20:4	Araquidónico	<i>cis</i> -5,8,11,14-eicosatetraenoico
	n-6	C22:4	Adrénico	<i>cis</i> -7,10,13,16-docosatetraenoico
	n-6	C22:5	"Osbond"	<i>cis</i> -4,7,10,13,16-docosapentaenoico
	n-3	C18:3	α -Linolénico	<i>cis</i> -9,12,15-octadecatrienoico
	n-3	C18:4	Estearidónico	<i>cis</i> -6,9,12,15-octadecatetraenoico
	n-3	C20:5	Timnodónico / EPA	<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenoico
	n-3	C22:5	Clupanodónico /DPA	<i>cis</i> -7,10,13,16,19-docosapentaenoico
	n-3	C22:6	Clupadónico / cervónico / DHA	<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico

Adaptado de Mataix Verdú [90].

2.2. Absorción y metabolismo

Los ácidos grasos de la dieta son aportados en forma de TAG, los cuales deben ser hidrolizados en el lumen intestinal para ser absorbidos. En los enterocitos, se produce la resíntesis de TAG a partir de los ácidos grasos procedentes de la hidrólisis mencionada. Éstos son transportados en lipoproteínas e hidrolizados en los endotelios vecinos a los tejidos, siendo rápidamente eliminados de la circulación por la acción de la lipoproteinlipasa (LPL) de los endotelios vasculares. Algunos de los ácidos grasos quedan en la circulación, donde se transportarán unidos a albúmina, pero la mayoría son incorporados a los tejidos. La velocidad de eliminación de los triglicéridos plasmáticos es de menos de una hora [3].

El intestino y el hígado sintetizan TAG para la exportación a otros tejidos, mientras que el tejido adiposo sintetiza triglicéridos como almacén. Por tanto, los TAG que se encuentran en el plasma proceden tanto del hígado como del intestino. Los ácidos grasos no consumidos son esterificados en el tejido adiposo, donde se almacenan como TAG. Se distribuyen en un 80% en el tejido adiposo, corazón y músculo, y el 20% restante en el hígado [3]. Debido a que los ácidos grasos insaturados son susceptibles a la oxidación, se almacenan, principalmente, en las formas saturadas, es decir, como ácidos palmítico y esteárico [4].

En el hígado, tiene lugar la producción de TAG a partir de los ácidos grasos sintetizados *de novo*. Muchos ácidos grasos son obtenidos de la dieta, pero también pueden ser sintetizados *de novo* o a partir de otros. La síntesis *de novo*, se efectúa a partir de acetil CoA, procedente principalmente de la degradación de glucosa y algunos aminoácidos, finalizando con la formación de ácido palmítico (C16:0). Por medio de la acción de

I. INTRODUCCIÓN

diversas elongasas y desaturasas, dicho ácido graso puede dar lugar a la formación de AGS de mayor longitud de cadena e insaturados de las series n-7 y n-9 (Figura 4) [3].

Como se sabe, únicamente las plantas, incluyendo al fitoplancton marino, pueden sintetizar ácidos grasos de las series n-6 y n-3. Teniendo en cuenta si existe o no síntesis endógena por el ser humano, se puede distinguir entre ácidos grasos esenciales (AGE) y no esenciales. Así, los ácidos linoleico (C18:2 n-6; LA, del inglés *linoleic acid*) y α -linolénico (C18:3 n-3; ALA, del inglés *α -linolenic acid*) son considerados esenciales, debiendo ser aportados por la dieta, ya que el organismo carece de las enzimas desaturasas que insertan dobles enlaces en las posiciones n-6 y n-3 de la cadena hidrocarbonada. No obstante, el ser humano puede desaturar y elongar AGE para producir derivados de la misma serie, como ác. araquidónico (AA, C20:4 n-6), ác. eicosapentaenoico (C20:5 n-3; EPA, del inglés *eicosapentaenoic acid*) y ác. docosahexaenoico (C22:6 n-3; DHA, del inglés *docosahexaenoic acid*) (Figura 5) [3,4].

Dado que cada elongasa o desaturasa puede actuar indistintamente sobre ácidos grasos de las cuatro series, se establece una competencia entre series. La enzima delta-6-desaturasa (D6D) tiene mayor afinidad por ALA, seguida por LA y finalmente por los ácidos oleico (C18:1 n-9) y palmitoleico (C16:1 n-7). Por esta razón, la conversión de LA y ALA a sus derivados de cadena larga depende de la cantidad absoluta, pero también del ratio entre ellos [91].

El metabolismo de AGPI de 20 átomos de carbono [dihomo- γ -linolénico (20:3 n-6), araquidónico y EPA] puede dar lugar a la formación de eicosanoides, los cuales son mediadores químicos con una gran actividad biológica, que actúan como hormonas a

I. INTRODUCCIÓN

nivel local [3,4]. Éstos incluyen prostanoides (prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos), producidos a partir de ácidos grasos de 20 carbonos, leucotrienos, sintetizados a partir de AA o EPA, ácidos hidroxieicosatetraenoicos, epóxidos, isoprostanos, lipoxinas y epi-lipoxinas, obtenidos del AA, resolvinas, derivadas de EPA y DHA, y las protectinas, producidas a partir de DHA [92].

A grandes rasgos, se puede decir que, prostaglandinas y prostaciclina participan en la regulación de la presión arterial, la función renal y la función inmunitaria. Los tromboxanos regulan la agregación plaquetaria y, por lo tanto, son clave para la coagulación de la sangre, mientras que los leucotrienos son importantes en el proceso inflamatorio y en la respuesta alérgica [3]. En general, los eicosanoides derivados del AA tienen carácter proinflamatorio y proagregante [93], mientras que los derivados del EPA son antiinflamatorios e inhiben la agregación plaquetaria [94]. Tanto las lipoxinas como las epi-lipoxinas fueron descubiertas como compuestos que intervienen en la fase de resolución de la inflamación, así como las protectinas parecen tener una actividad altamente antiinflamatoria [92].

Las diversas enzimas que participan en su síntesis carecen de especificidad, por lo que puede existir competencia entre los diferentes sustratos para formar eicosanoides [76]. El aumento de la ingesta de ácidos grasos de la serie n-6 lleva a una gran producción de eicosanoides derivados del AA, disminuyendo los provenientes del EPA, pudiendo generarse desórdenes inflamatorios, proliferación celular, entre otros [89].

I. INTRODUCCIÓN

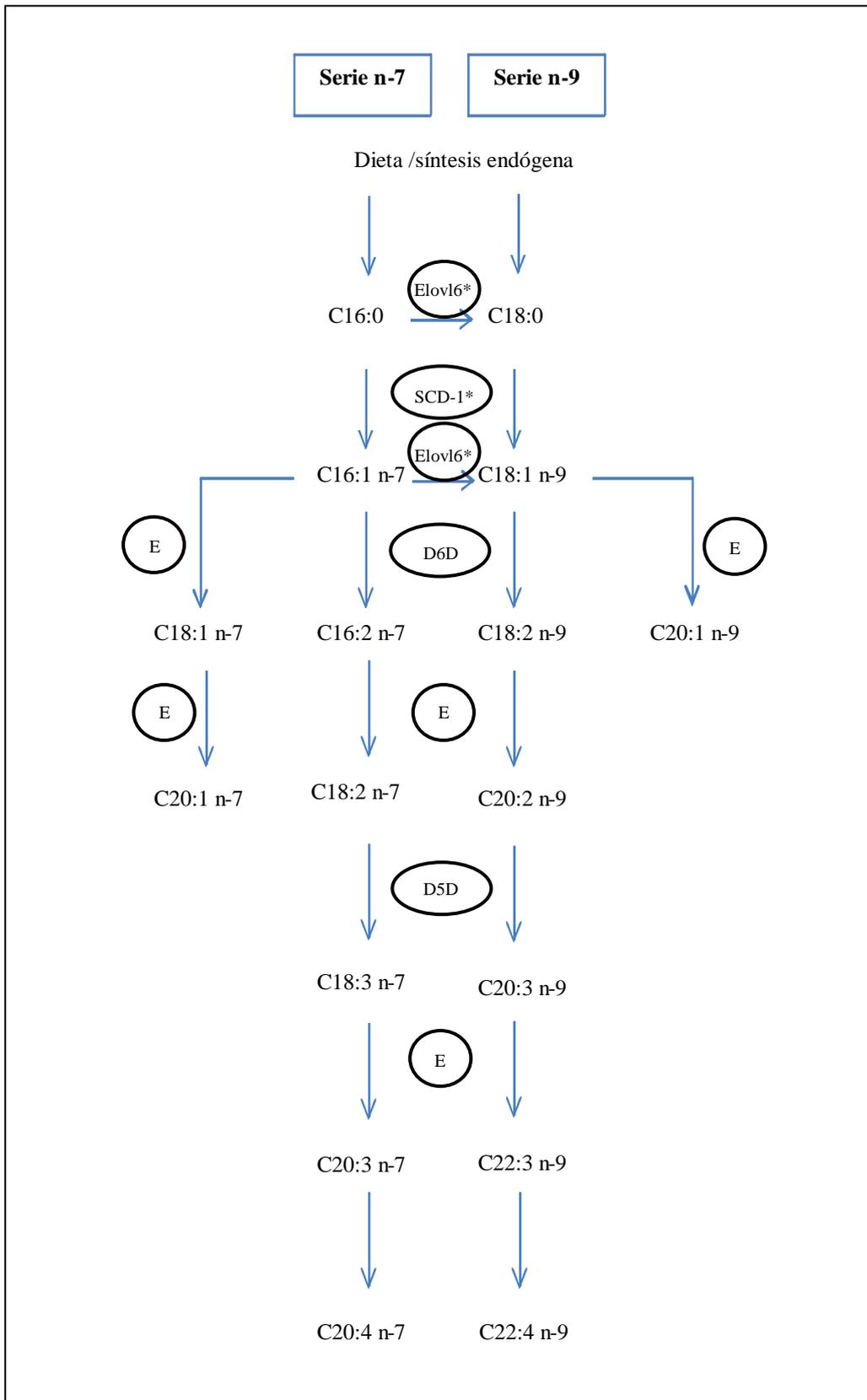


Figura 4. Biosíntesis de ácidos grasos insaturados de las series n-7 y n-9.

Las vías ilustradas muestran la conversión de los ácidos grasos palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) a sus correspondientes derivados metabólicos. Elov6, elongasa-6 de ácidos grasos, del inglés *fatty acid elongase-6*; SCD-1, esteroil CoA desaturasa-1, del inglés *stearoyl CoA desaturase-1*; E, elongasa; D6D, delta-6-desaturasa; D5D, delta-5-desaturasa; *Shimano [95].

I. INTRODUCCIÓN

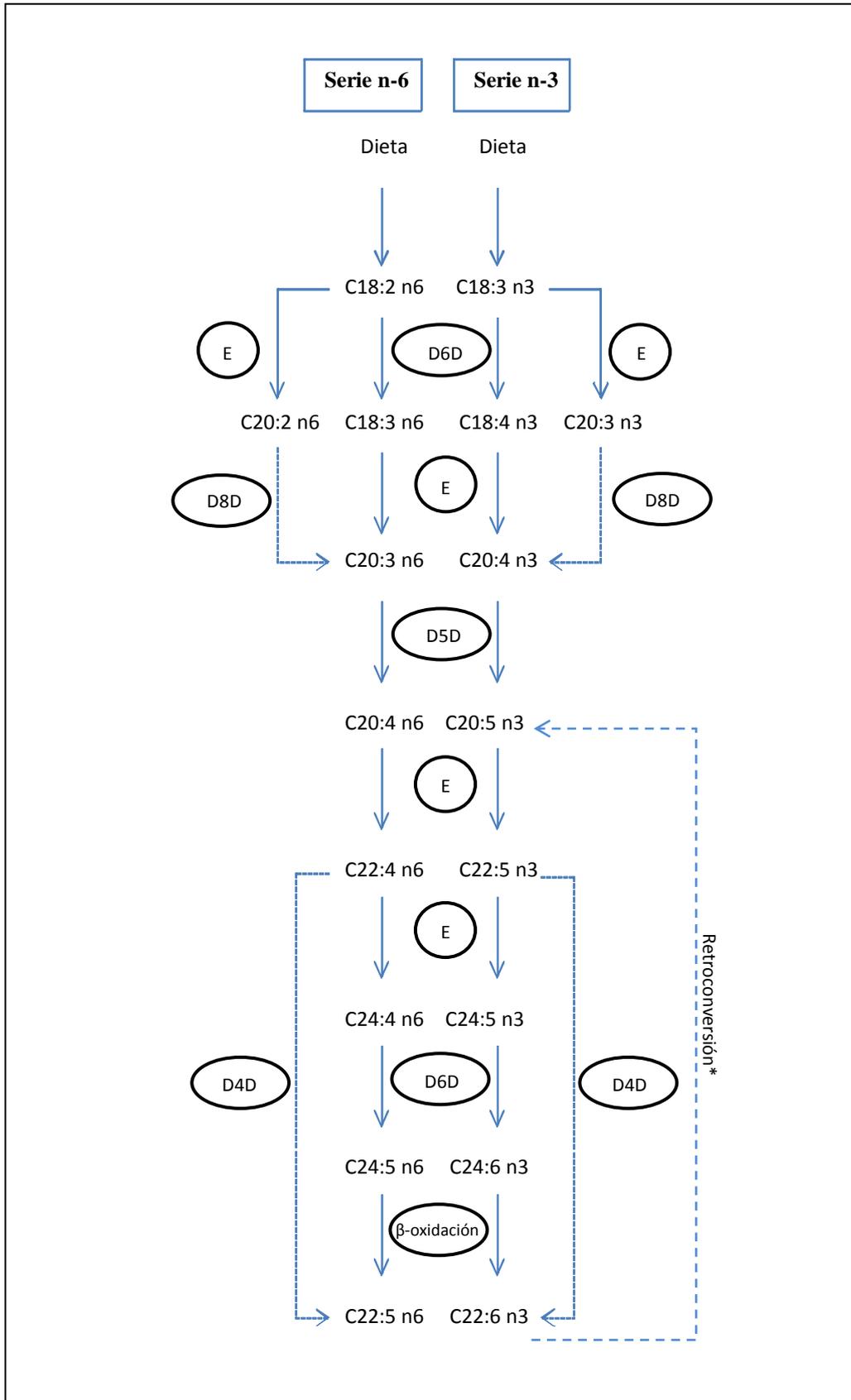


Figura 5. Biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de las series n-3 y n-6.

Las vías metabólicas ilustradas muestran la conversión de los ácidos grasos esenciales LA (C18:2 n-6) y ALA (C18:3 n-3) a sus productos finales, así como la retroconversión de DHA (C22:6 n-3) a EPA (C20:5 n-3). E, elongasa; D6D, delta-6-desaturasa; D8D, delta-8-desaturasa; D5D, delta-5-desaturasa; D4D, delta-4-desaturasa; *Jump et al. [96].

2.2.1. Intercambio materno-fetal

El embarazo es un estado anabólico en el cual la producción hormonal de la placenta afecta el metabolismo de todos los nutrientes. Esto y los cambios anatómicos y fisiológicos de la madre tienen por objetivo apoyar el crecimiento fetal y su desarrollo, así como mantener la homeostasis materna y prepararla para la lactancia [76].

Las placentas maduras están constituidas por tres capas que separan la sangre materna de la fetal: las células del sincitiotrofoblasto, que tienen una membrana plasmática microvellosa (orientación materna) y una basal (orientación fetal), una capa delgada de tejido conectivo, donde fibroblastos y macrófagos están presentes, y el endotelio vascular fetal [97].

La placenta facilita el intercambio gaseoso, realiza funciones resortivas, catabólicas, metabólicas, secretoras, de excreción, balance acuoso y regulación del pH, permitiendo el paso de nutrientes desde la circulación materna al feto [76]. Las células del sincitiotrofoblasto son reguladores clave del transporte de nutrientes, eliminación de desechos fetales, y otros procesos relacionados con el mantenimiento del embarazo [98].

Las evidencias existentes sugieren que los cambios en el transporte placentario de nutrientes contribuyen directamente en la alteración del crecimiento fetal. La membrana plasmática del sincitiotrofoblasto expresa numerosos transportadores de nutrientes, los cuales pueden ser regulados por señales fetales, maternas y placentarias [99] (Figura 6). Se ha propuesto que las alteraciones en el aporte de nutrientes y en la concentración de adipoquinas, citocinas y hormonas, como las

I. INTRODUCCIÓN

ocurridas en las complicaciones comunes del embarazo, pueden conducir a la modificación de la función de transporte placentario, lo que consecuentemente tiene efectos sobre el crecimiento fetal [99]. La placenta puede responder a las señales de demanda fetal a través de la regulación de la expresión de sistemas de transporte placentario específicos para mantener su crecimiento [100]. Algunos estudios han mostrado que la concentración del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF, del inglés *insulin-like growth factor*)-II está reducida en el retardo del crecimiento intrauterino [101] y elevada en fetos GEG [102].

Los ácidos grasos son importantes para el desarrollo de órganos y tejidos específicos. El depósito de grasa en el feto aumenta exponencialmente con la edad gestacional. Así, en el tercer trimestre del embarazo los lípidos se acumulan rápidamente en el tejido adiposo fetal y cerebro [103]. Para asegurar un aporte continuo de grasas enriquecidas en AGPI de cadena larga (AGPI-CL) n-6 y n-3 al feto, los cambios temporales en la función de la placenta son sincronizados con los cambios metabólicos y fisiológicos de la madre [103].

Durante el embarazo, se produce un incremento de la absorción intestinal y del almacenamiento de lípidos maternos, principalmente, de AGE y AGPI-CL, en particular, AA y DHA. Durante los primeros meses de la gestación, los AGPI-CL se acumulan en el tejido adiposo, quedando disponibles para el transporte transplacentario al final del embarazo, cuando la tasa de crecimiento fetal es máxima y los requerimientos de dichos ácidos grasos son muy elevados.

I. INTRODUCCIÓN

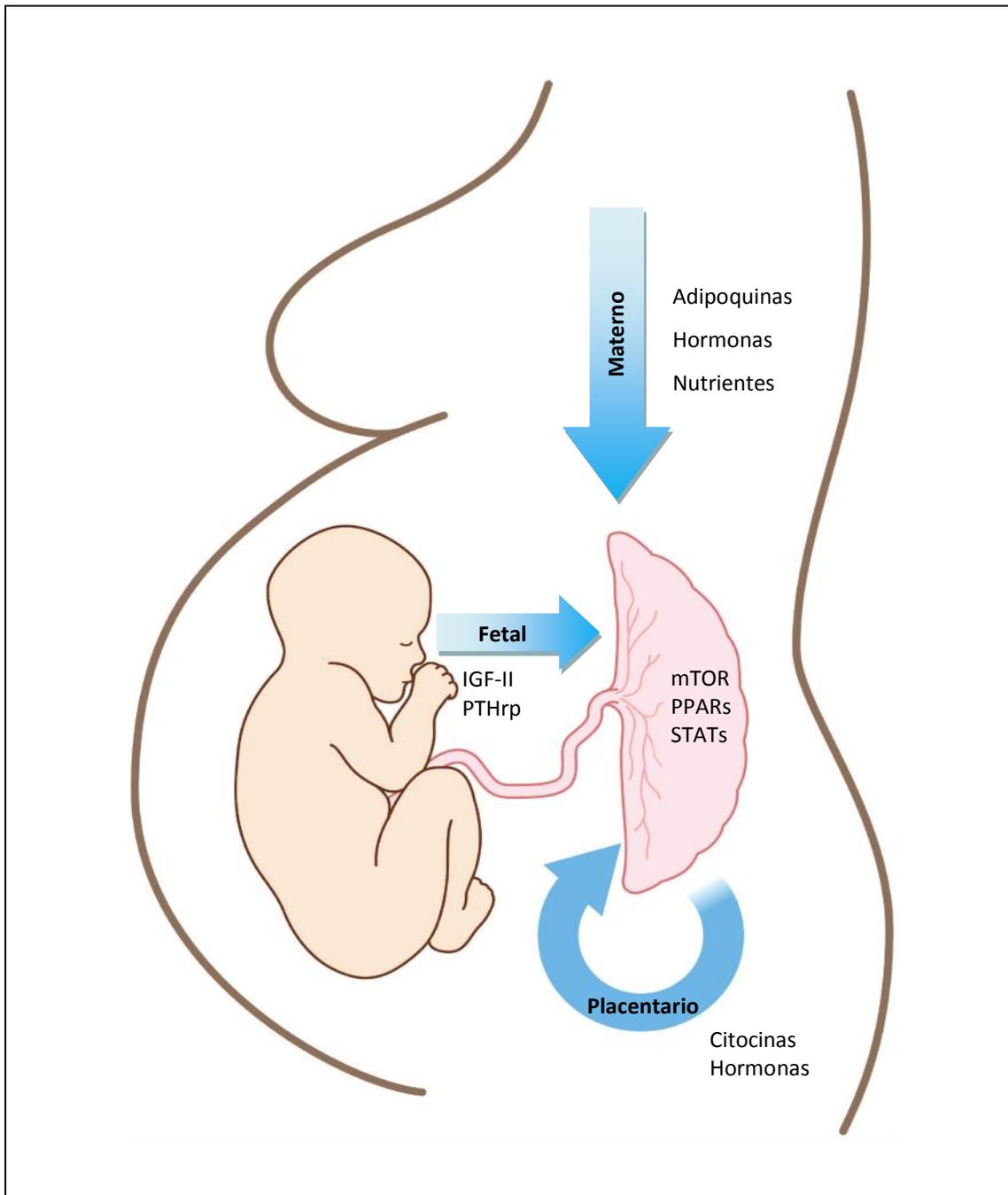


Figura 6. Factores que pueden regular la función de la placenta.

Es probable que la función de la placenta sea regulada por numerosos factores de origen fetal, materno y placentario. Las señales fetales que afectan la función de la placenta incluyen IGF-II (Factor de crecimiento similar a la insulina II, del inglés *Insulin-like growth factor II*) y PTHrp (Proteína relacionado con la hormona paratiroidea, del inglés *Parathyroid hormone-related peptide*). Los efectos de los factores maternos, que comprenden adipoquinas, hormonas y la concentración de nutrientes, han sido investigados en varios modelos, tales como, cultivos celulares de trofoblastos, explantes placentarios y placenta perfundida. La placenta también expresa una amplia gama de moléculas que están relacionadas con la circulación fetal y materna, que pueden impactar sobre ésta de una manera autócrina/parácrina. Se ha demostrado que la integración de numerosas, y a veces divergentes, señales por medio de vías regulatorias intracelulares, como mTOR (Diana de la rapamicina de mamíferos, del inglés *mammalian target of rapamycin*), PPAR (Receptor Activado por Proliferadores Peroxisomales, del inglés *Peroxisome proliferator-activated receptor*) y STAT (Transductor de señal y activador de la transcripción, *Signal transducer and activator of transcription*), afecta el transporte placentario de nutrientes. Adaptado de Lager y Powell [99].

I. INTRODUCCIÓN

En el tercer trimestre de gestación, se produce un aumento de la actividad lipolítica del tejido adiposo que contribuye al desarrollo de hiperlipidemia en la embarazada. El aumento de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, del inglés *very low-density lipoprotein*) en el plasma materno es acompañado por un enriquecimiento proporcional de TAG, tanto en las LDL como en las HDL, las cuales transportan ácidos grasos a la circulación materna. Dado que los TAG no son transferidos en forma directa, la difusión de ácidos grasos al feto requiere de la captación de las lipoproteínas en el tejido placentario, por acción de receptores de lipoproteínas, y de la activación en la placenta de enzimas que hidrolizan los TAG. Así, los ácidos grasos que son liberados pueden ser metabolizados y difundidos hacia el plasma fetal [76].

La liberación de los ácidos grasos que constituyen los TAG de las lipoproteínas maternas requiere la acción de lipasas (LPL y lipasa endotelial) asociadas a la membrana microvellosa (Figura 7). Las evidencias existentes sugieren que la actividad de éstas aumenta con el avance de la gestación y las complicaciones durante el embarazo, como la obesidad combinada con diabetes gestacional, también afectan la actividad de la lipasa endotelial [99].

Como se muestra en la Figura 7, los ácidos grasos son transportados a través de la placenta por medio de las proteínas transportadoras de ácidos grasos, FATP (del inglés *fatty acid transport protein*), aunque también existen otras que cumplen dicha función [98,99]. Por otra parte, en el citosol del sincitiotrofoblasto la proteína de unión a ácidos grasos (FABP, del inglés *fatty acid binding protein*) moviliza dichos nutrientes dentro de la célula para su esterificación, β -oxidación o transferencia al feto [98,99].

I. INTRODUCCIÓN

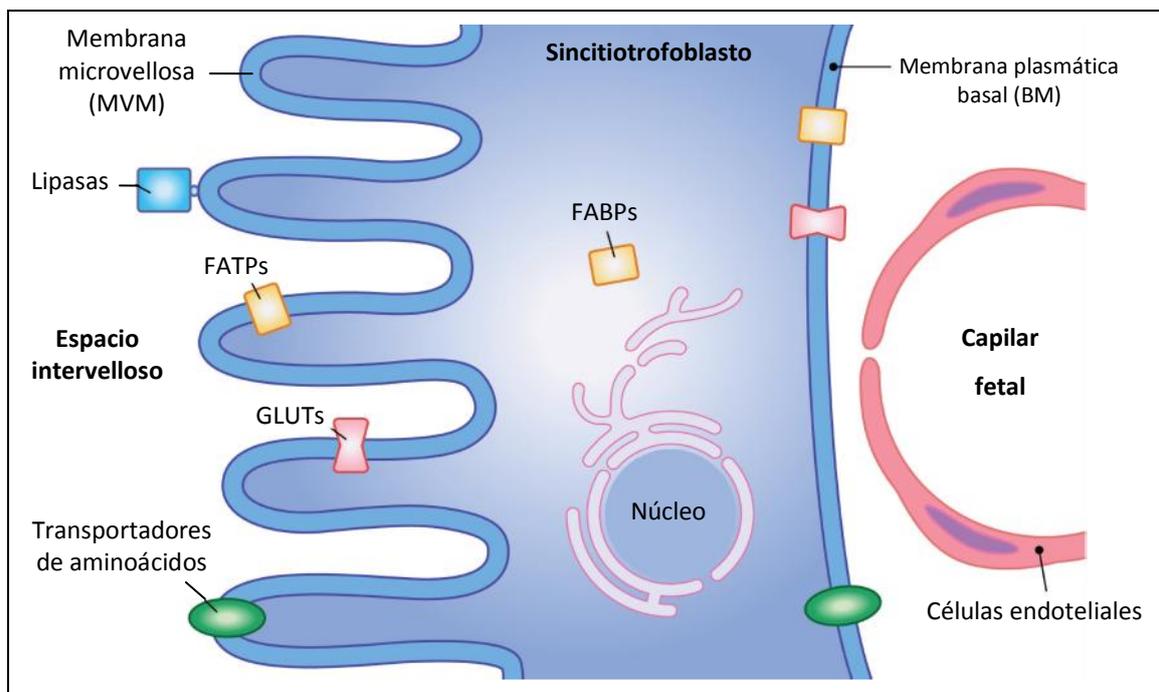


Figura 7. Estructura placentaria y transferencia de macronutrientes.

El sincitiotrofoblasto constituye la primera barrera en la transferencia de nutrientes de la madre al feto. En el espacio intervilloso, el *pool* de sangre materna baña la membrana microvellosa (MVM, del inglés *microvillous membrane*), mientras que la membrana plasmática basal (BM, del inglés *basal plasma membrane*) del sincitiotrofoblasto está orientada hacia la circulación fetal. Los transportadores que median la transferencia de aminoácidos, glucosa (GLUT, transportador de glucosa, del inglés *glucose transporter*) y ácidos grasos (FATP, proteína transportadora de ácidos grasos, del inglés *fatty acid transport protein*) son expresados en ambas membranas del sincitiotrofoblasto. Para la transferencia de lípidos, las lipasas extracelulares liberan a los ácidos grasos de las lipoproteínas maternas y las proteínas transportadoras intracelulares (FABP, proteína de unión a ácidos grasos, del inglés *fatty acid binding protein*) guían a los ácidos grasos dentro del citosol del sincitiotrofoblasto. Adaptado de Lager y Powell [99].

El feto puede sintetizar algunos AGS y AGMI a partir de glucosa [98]. No obstante, debido a que los AGPI-CL son sintetizados en cantidad insuficiente por éste, y, aparentemente, la placenta no posee la actividad D6D, ni delta-5-desaturasa (D5D) para convertir a los AGE en éstos [76], existe un mecanismo preferencial para síntesis y transferencia de dichos ácidos grasos hacia la placenta y el feto [76,99]. Dicho enriquecimiento selectivo con AGPI-CL en la circulación fetal se conoce como *biomagnificación* y refleja el rol de la placenta en la transferencia preferencial de esos compuestos al feto [98,99]. La placenta selecciona AA y DHA de la circulación materna, mientras que retorna a la embarazada LA y ALA. Cuando LA cruza el tejido placentario

I. INTRODUCCIÓN

pasa a formar parte de los TAG del plasma, mientras que el AA se incorpora a los lípidos estructurales [76].

Se ha estudiado la correlación de la concentración de ácidos grasos en los lípidos totales de la placenta con respecto a su concentración en las diferentes fracciones de lípidos plasmáticos en embarazadas que recibieron ácidos grasos marcados 12 horas antes de la cesárea [104]. Así, se elucidó que, en plasma materno, los ácidos oleico y palmítico se encuentran principalmente en TAG, mientras que LA y DHA se encontraron principalmente en fosfolípidos plasmáticos y TAG [104]. En el tejido placentario, los ácidos grasos se encontraron principalmente en fosfolípidos, los cuales comprenden el 80% de los lípidos de dicho tejido [104]. Además, se observó una mayor concentración de DHA en cordón umbilical que en plasma materno. En plasma materno, el DHA es esterificado principalmente en fosfolípidos y TAG, lo cual puede facilitar su captación y transporte [104].

2.3. Ácidos grasos como biomarcadores lipídicos

La evaluación nutricional de los lípidos es importante para conocer el efecto que tienen las diferentes fuentes lipídicas sobre la salud, así como sus cantidades y los cambios en la ingesta. Su uso como biomarcadores del consumo dietético se basa en el hecho que los ácidos grasos en sangre derivan principalmente de la dieta. Se pretende proporcionar información objetiva sobre la ingesta de grasas, sin que ocurran sesgos procedentes de interrogatorios, en los que resulta difícil distinguir y cuantificar todos los lípidos existentes en la dieta, y de la subestimación que habitualmente ocurre por parte de individuos que presentan sobrepeso. Actualmente, la determinación de la composición de ácidos grasos se utiliza para cuantificar cambios en la ingesta de lípidos

I. INTRODUCCIÓN

en la circulación y para determinar el consumo de AGE y no esenciales aportados en forma exógena al organismo [105]. Así, los ácidos grasos plasmáticos reflejan la composición de ácidos grasos de la ingesta por un período de pocas horas hasta un día, pero también se plantea que es factible una correlación con los ácidos grasos dietéticos sobre los 2 meses [106].

Durante el embarazo, los mejores marcadores de la ingesta de ácidos grasos de la serie n-3 son el porcentaje de DHA, tanto en plasma como en los fosfolípidos de los eritrocitos y el porcentaje de EPA, especialmente en los fosfolípidos de dichas células sanguíneas [76].

2.4. Fuentes alimentarias

Los AGS se pueden encontrar en alimentos de origen animal y vegetal, tales como, mantequilla, grasa animal, aceite de coco, aceite de palma, manteca de cacao y aceite de cacahuete. Aceite de oliva, aceite de colza y frutos secos constituyen las principales fuentes alimentarias de AGMI. El ácido oleico, es uno de los encontrados más frecuentemente en la naturaleza, siendo los aceites de oliva y colza alimentos ricos en éste [107]. En lo que respecta a los AGPI, el LA está presente en la mayoría de los aceites vegetales, especialmente de cártamo, maíz y soja, mientras que el ALA se encuentra en los aceites de soja, colza, germen de trigo y de linaza, así como en las nueces. El ácido AA es abundante en manteca y carnes, y los ácidos grasos n-3 de cadena larga, EPA y DHA, se pueden obtener principalmente de fuentes marinas, como aceite de hígado de bacalao, caballa, salmón y sardinas, además de cangrejo, gambas y ostras [4,76].

2.5. Etapa gestacional

Los lípidos dietéticos, incluyendo los ácidos grasos, tienen efectos que van más allá de la fuente y almacenamiento de energía metabólica, tales como la regulación de la función y crecimiento celular, coordinación de la comunicación inter e intracelular y modulación de la expresión génica. Diferentes evidencias sugieren que el aporte insuficiente, excesivo o el desequilibrio de ácidos grasos específicos durante el desarrollo temprano puede contribuir a una programación metabólica [25].

Al igual que para otros nutrientes, el potencial de “programación”, debido a un inadecuado aporte de ácidos grasos, es probablemente mayor cuando ocurre en etapas clave del crecimiento y diferenciación celular, o en el establecimiento del punto de ajuste de respuesta a señales nutricionales, metabólicas o endócrinas, tal como ocurre durante la embriogénesis y desarrollo fetal e infantil [108,109].

La dieta materna incide sobre la calidad de los ácidos grasos transferidos a través de la placenta y sobre los tejidos en desarrollo. Su acumulación en los tejidos fetales y de los niños, incluyendo el cerebro, está influenciada por el aporte pre y postnatal de éstos. Claramente, la calidad de los lípidos dietéticos tiene profundos efectos sobre las características de los ácidos grasos almacenados en el tejido adiposo de los hijos [25].

Aunque los estudios referidos a la sobrenutrición materna y la alimentación con dietas ricas en grasa no han sido enfocados específicamente sobre la calidad de los ácidos grasos, se ha acumulado información que sugiere que ésta es relevante para el desarrollo de las redes de regulación involucradas en la alimentación y el balance energético. Sin embargo, el efecto de los ácidos grasos es complejo y probablemente involucra múltiples tejidos y vías metabólicas (Figura 8).

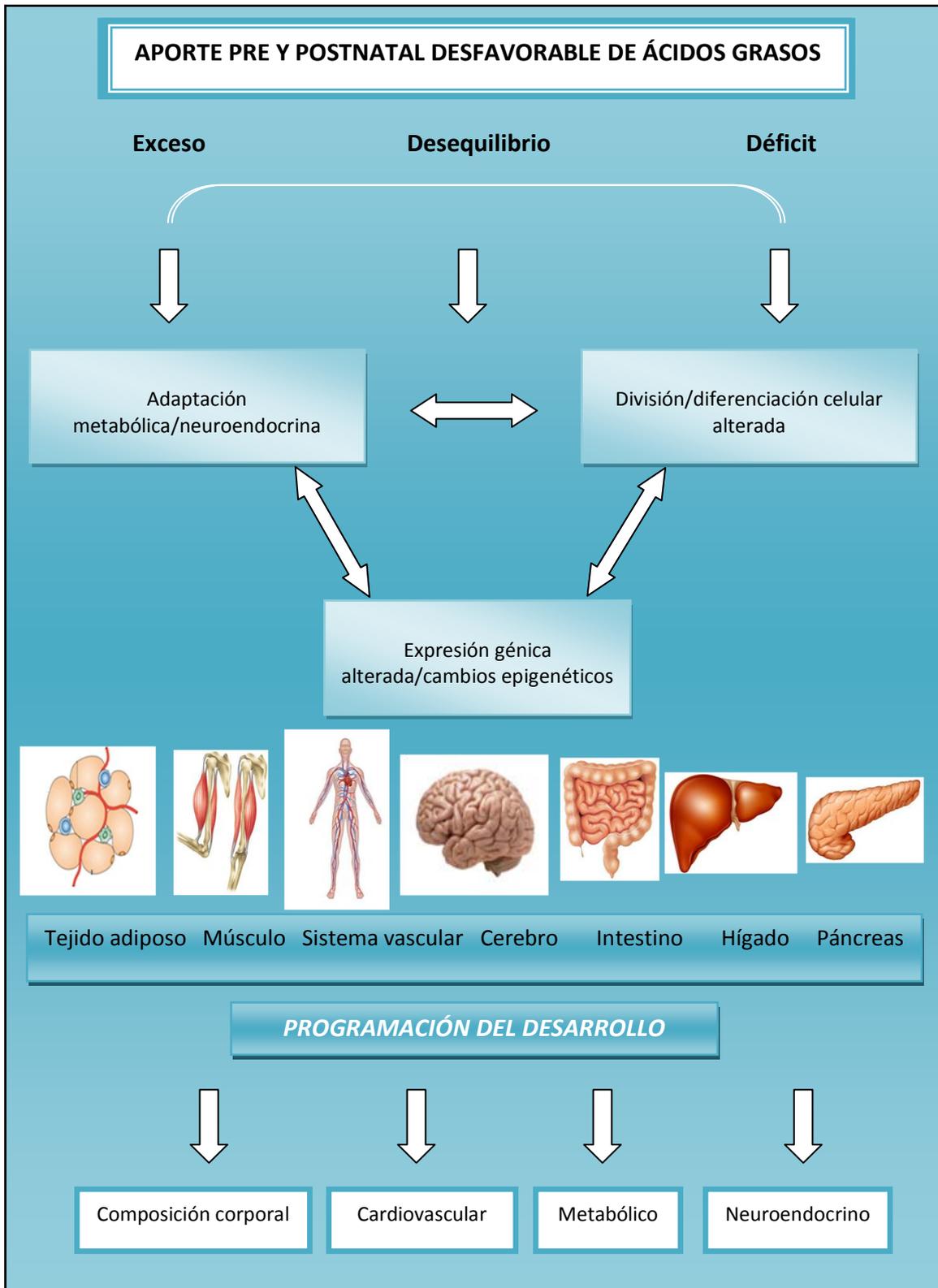


Figura 8. Efectos adversos del aporte deficiente, excesivo o del desequilibrio de ácidos grasos sobre la programación del desarrollo.

El esquema ilustra el concepto de que la deficiencia, el exceso o el desequilibrio en los ácidos grasos en etapas clave del desarrollo pueden tener consecuencias a largo plazo debido a la alteración en el desarrollo celular, la expresión génica o en las respuestas metabólica y neuroendocrina. Es esperado que estos efectos involucren múltiples mecanismos y órganos y la interrelación entre ellos. Adaptado de Innis [25].

I. INTRODUCCIÓN

En cuanto a los AGPI n-3, el DHA ha despertado interés debido a su implicación en el desarrollo infantil, particularmente del cerebro y la retina [110]. No obstante, otros ácidos grasos de la dieta materna como AGMI, AGPI n-6 y otros n-3 transferidos a través de la placenta, también son importantes. En general, una mayor transferencia de LA, de la madre al feto, es acompañada por un menor aporte de ácido oleico y de AGPI n-3, incluyendo DHA, lo cual refleja los cambios ocurridos en la composición de la ingesta de ácidos grasos dietéticos de la población en los últimos 50 años [25].

Inicialmente se planteaba que la ingesta excesiva de grasa saturada era el factor clave vinculado a la actual epidemia de obesidad. Sin embargo, ahora está claro que dicha epidemia, en Estados Unidos, Australia y otros países occidentales, ha coincidido con un significativo descenso de la ingesta per cápita de grasas saturadas, generando un problema con la hipótesis mencionada. Esta caída en el consumo de los mismos ha sido acompañada por el incremento en la ingesta de AGPI de la familia n-6 [111]. El cambio sufrido en la alimentación humana en los últimos 50 años ha determinado un aumento en el consumo de estos últimos, especialmente en forma de LA, acompañado por una menor ingesta de AGPI n-3, principalmente EPA y DHA [25]. Por esta razón, se ha sugerido que el aumento de AGPI n-6, ocurrido durante las últimas décadas, puede ser un importante factor que contribuye a la actual epidemia de obesidad [112].

Existe una creciente preocupación por el incremento de la ingesta de dichos ácidos grasos, ya que puede tener consecuencias negativas para la salud metabólica, debido a las funciones proinflamatorias, protrombóticas y proadipogénicas que poseen el LA y sus derivados. En particular, hay evidencias de que la exposición al exceso de AGPI n-6 antes del nacimiento o en la primera infancia puede ser responsable de promover la

I. INTRODUCCIÓN

formación de células adiposas a edades tempranas y, así, de predisponer a los individuos, como niños y adolescentes, a la acumulación excesiva de grasa corporal [113].

Los eicosanoides derivados del AA juegan un papel clave en la diferenciación de los adipocitos a través de la interacción con PPAR γ [114], aumentando la posibilidad de que los AGPI n-6 del tejido adiposo neonatal y/o fetal fomenten el aumento de la señalización de la leptina y diferenciación de este tejido [25]. En este sentido, estudios recientes demostraron que una dieta con 35% de la energía en forma de grasa, proviniendo el 18% de la energía de LA y 0.6% de ALA, aportada por cuatro generaciones, conduce a un incremento gradual de la masa grasa debido a la combinación de la hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo [115]. También se produjeron alteraciones transgeneracionales en la concentración de adipoquinas, que fueron acompañadas por hiperinsulinemia [115].

Otros estudios sugieren que los AGPI n-3 y n-6 alteran los péptidos hipotalámicos. Las desviaciones del aporte correcto de leptina y/o insulina durante los períodos críticos de la vida alteran el desarrollo del circuito neuromodulador que controla la alimentación, lo cual contribuye a la posterior hiperfagia y al exceso de peso corporal [25]. Se han publicado trabajos en que las dietas maternas ricas en grasa también alteran los péptidos hipotalámicos en el cerebro fetal [116,117]. En ratas susceptibles a síndrome metabólico, una dieta isoenergética con EPA y DHA elevados y LA bajo aumenta la concentración del neuropéptido hipotalámico anorexigénico denominado transcritto regulado por cocaína y anfetamina (CART, del inglés *cocaine and amphetamine regulated transcript*) [118]. Consistente con esto, la deficiencia

I. INTRODUCCIÓN

temprana de AGPI n-3 dietéticos con elevado aporte de LA durante la gestación juega un papel importante en el desarrollo de la señalización del apetito, causando exceso en la ingesta de alimentos [119].

Los ácidos grasos son parte de las vías regulatorias a través de las cuales hígado, músculo esquelético y tejido adiposo, perciben y responden al aporte de energía para coordinar la oxidación y almacenamiento de ácidos grasos. El hígado juega un papel adicional por medio de su capacidad para convertir el exceso de energía metabólica en ácidos grasos y en gluconeogénesis. Continúa sin aclararse si ciertos ácidos grasos o sus metabolitos pueden ser señales metabólicas que contribuyan a la regulación epigenética de la transcripción génica, culminando en un fenotipo que favorezca la retención de energía en depósitos grasos o incremente la oxidación [25].

2.5.1. Resultados a corto y largo plazo

En un estudio en que las madres tomaron aceite de hígado de bacalao como fuente de EPA y DHA o aceite de maíz durante embarazo y lactancia, en los hijos no se encontró relación entre los ácidos grasos al nacer o durante los primeros 3 meses de vida y el IMC a los 7 años de edad [120]. En otro trabajo, se ha indicado que en el grupo de madres que tomaron diariamente 4.5 mL de aceite de pescado, durante los primeros 4 meses de lactancia, los niños (2.5 años de edad) tuvieron mayor perímetro de la cintura que los hijos de las mujeres a las que se le proporcionó aceite de oliva, aunque no se encontraron diferencias en el crecimiento a los 7 años de edad [121]. En contraste, en niños nacidos pretérmino se observó que las niñas alimentadas con fórmula suplementada con AGPI-CL mostraron un mayor aumento de la adiposidad a

I. INTRODUCCIÓN

los 10 años de edad al compararlas con aquellas que recibieron una fórmula sin suplementación [122].

Se ha observado que la relación entre la concentración de AGPI n-3 y n-6 en fosfolípidos maternos y en plasma de cordón umbilical es positiva. Por otra parte, en embarazadas obesas, se ha descrito que presentan mayor ingesta de AGPI n-3 y n-6 totales en comparación con las normopeso [123].

En fosfolípidos plasmáticos se ha mostrado que una concentración baja de los ácidos grasos maternos C20:4 n-3, EPA y C22:5 n-3, y C20:3 n-6, así como una concentración elevada de AA se relacionan con un menor peso al nacer y con un incremento del riesgo de tener un recién nacido PEG [124].

Muhlhausler y Ailhaud [112] han establecido que, a pesar de los diversos estudios existentes al respecto, continúan sin aclararse cuestiones referentes a los componentes específicos de la dieta que son responsables del mencionado efecto de programación. También plantean que han aumentado las incógnitas sobre la relevancia del modelo común de la alimentación típica de los seres humanos, es decir, el consumo elevado de grasa y azúcar. En particular, las dietas ricas en grasa son usadas habitualmente en ensayos con animales para inducir la obesidad materna, las cuales son elevadas en diversos ácidos grasos. No obstante, existen dificultades para determinar cuál de los ácidos grasos es el responsable de dicho efecto. En general, estas dietas son ricas en AGS, siendo acompañadas por un incremento de éstos en la leche materna y en el plasma de los hijos, pero también ocurre un aumento de los AGPI n-6 [112]. Por ello, los autores consideran que estos últimos pueden estar

I. INTRODUCCIÓN

jugando un papel importante en los resultados adversos de los hijos nacidos de madres que consumen dietas elevadas en grasa durante embarazo y lactancia.

En este sentido, se ha demostrado la capacidad del AA de promover la diferenciación de preadipocitos *in vitro* [125], sugiriendo que la exposición a AGPI n-6 durante los períodos críticos del desarrollo de las células adiposas podría resultar en un aumento permanente de su número, así como en el incremento de la propensión a la acumulación de masa grasa [112]. En ratas, a las cuales se les proporcionó una dieta rica en LA y/o con una elevada relación LA/ALA, se ha observado un aumento en la expresión de genes lipogénicos, de la masa grasa y mayor tamaño y número en los adipocitos en comparación con las que fueron alimentadas con una menor cantidad de dicho ácido graso [126,127].

La ingesta materna y la concentración plasmática en cordón umbilical de DHA+EPA se han asociado con menor adiposidad y riesgo de obesidad en los hijos a los 3 años de edad, pero no se ha encontrado relación con la concentración en plasma materno. En los AGPI n-6 totales y AA, de la ingesta y cordón umbilical, no se constató asociación significativa con la adiposidad de los niños, mientras que, en plasma materno, una mayor concentración de AA se asoció con una mayor adiposidad en los hijos [128]. No obstante, en un estudio de intervención en que las embarazadas fueron suplementadas con AGPI n-3 o AGMI, no se observaron diferencias en el IMC o perímetro de la cintura entre los hijos a los 19 años de edad [129]. Krauss-Etschmann et al. [130] observaron que la suplementación con DHA y EPA, a través de la ingesta de aceite de pescado, aumenta el contenido de ambos en plasma materno y de DHA en cordón umbilical. Además, constataron una relación positiva entre la proporción de

I. INTRODUCCIÓN

DHA en sangre materna y cordón umbilical, pero los resultados del embarazo y el desarrollo fetal no difirieron entre los grupos de intervención.

Por otra parte, se ha sugerido que los cambios metabólicos tempranos, como resultado de las influencias del ambiente prenatal, podrían afectar el metabolismo de AGPI-CL en la vida futura [131]. Dicha hipótesis se debe a que el peso al nacer se asoció con la concentración sérica de DHA y EPA, no así con AA, en la adolescencia [131].

En embarazadas sanas suplementadas con AGPI-CL n-3, que recibieron consejo para reducir la ingesta de AA, se ha mostrado una reducción de la relación de AGPI n-6/n-3 en plasma materno y en cordón umbilical tanto en fosfolípidos como en glóbulos rojos. En eritrocitos, DHA, AGPI-CL n-3 y AGPI-CL n-6 se relacionaron positivamente con el peso al nacer. AGPI-CL n-3, AGPI-CL n-6 y AA de la madre se asociaron positivamente con la longitud al nacer. Además, la concentración de AA y AGPI-CL n-6 de los eritrocitos maternos se relacionaron negativamente con el IMC y el índice ponderal de los hijos al año de edad, no así con la masa grasa [132].

En una revisión efectuada en el presente año por Muhlhausler et al. [112], los autores han concluido que la mayoría de los estudios realizados en humanos han sido enfocados en el análisis de los efectos del incremento de la ingesta de AGPI n-3, y actualmente no hay estudios clínicos que hayan investigado directamente los efectos del aumento de la ingesta de AGPI n-6 en ensayos aleatorizados controlados. Hauner et al. [26] han establecido que los resultados presentados hasta ahora son inconsistentes para poder señalar conclusiones definitivas sobre el papel de los AGPI-CL n-3 durante embarazo o lactancia en la determinación del desarrollo de la adiposidad del hijo.

2.6. Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas

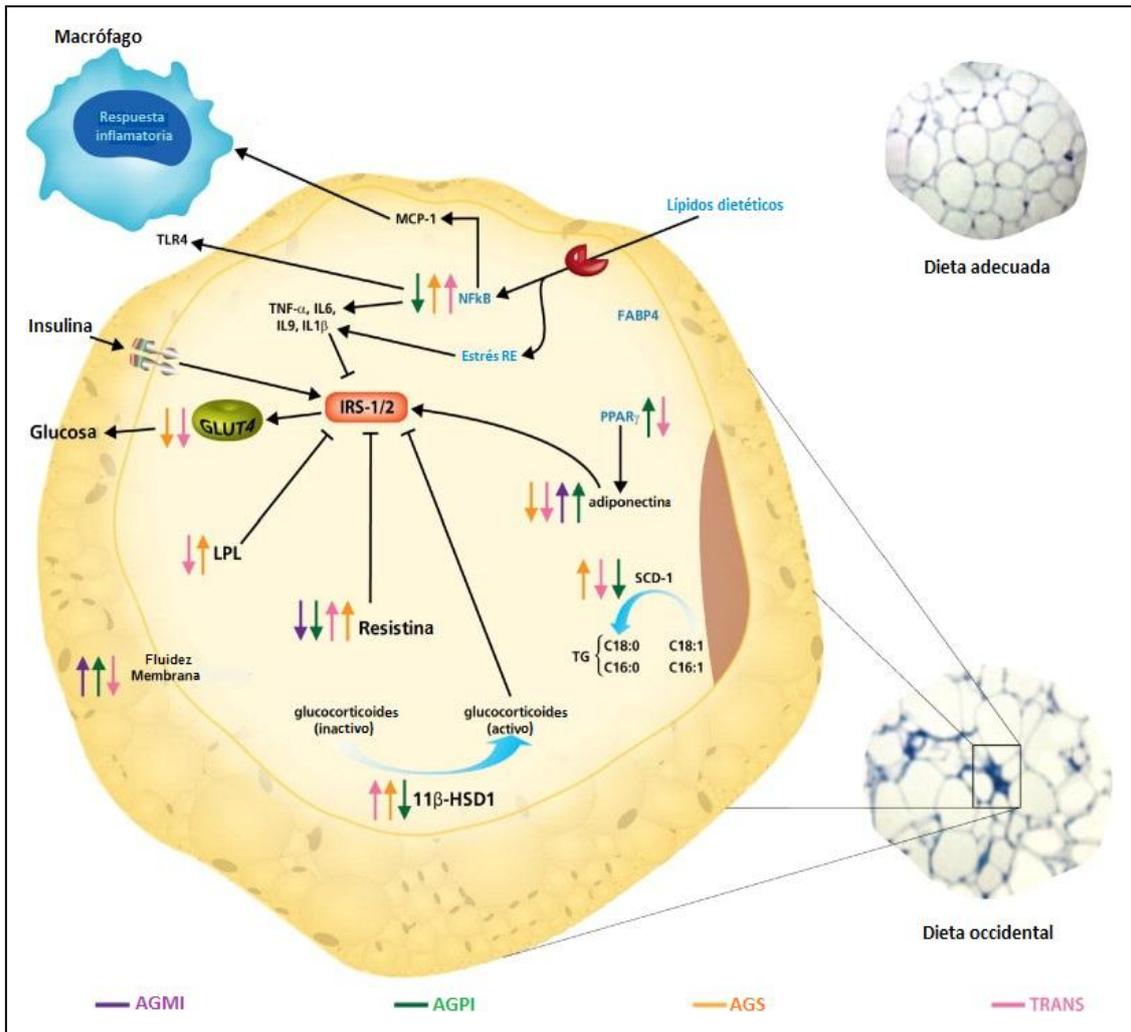


Figura 9. Mecanismos de acción de los ácidos grasos alimentarios sobre el metabolismo de los adipocitos.

Las flechas indican la actividad específica de los ácidos grasos, mostrando el efecto de descenso y aumento sobre los parámetros correspondientes. Las dietas ricas en grasa incrementan la expresión y actividad de FABP, que cuando se sobreexpresa conduce al estrés del retículo endoplasmático. AGMI y AGPI aumentan la fluidez de la membrana. Los AGS estimulan las vías inflamatorias y la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo e incrementan la producción de adipocinas proinflamatorias y de las vías MCP-1 y NFκB, mientras que los AGPI inhiben NFκB. Una acción similar sobre la activación enzimática de glucocorticoides es observada para AGS y AGPI, que se relaciona con la señalización intracelular de la insulina. AGPI aumentan la expresión de PPAR γ y adiponectina, y disminuyen la expresión de resistina, mientras AGS tiene una acción opuesta, excepto para PPAR γ , ya que no modifican su expresión. AGMI activan a la adiponectina e inhiben a la resistina y mejoran la sensibilidad a la insulina en adipocitos. Con respecto a la enzima lipogénica SCD-1, AGPI suprimen su expresión, mientras que AGS la sobreexpresan y AGMI no interfieren. Los AGS aumentan la expresión de LPL, aumentando los ácidos grasos libres en sangre, lo que lleva a insulinorresistencia. MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1, del inglés *monocyte chemotactic protein 1*; TLR4, receptores tipo toll 4, del inglés *toll-like receptor 4*; NFκB, factor nuclear-kappa B, del inglés *nuclear factor-kB*; TNF α , factor de necrosis tumoral α , del inglés *tumor necrosis factor- α* ; IL, interleuquinas; FABP4, proteína de unión a ácidos grasos 4, del inglés *Fatty acid binding protein*; RE, retículo endoplasmático; GLUT4, transportador de glucosa 4, del inglés *glucose transporter 4*; IRS1/2, sustratos del receptor de insulina 1/2, del inglés *insulin receptor substrates 1/2*; PPAR γ , receptor activado por proliferadores peroxisomales γ , del inglés *peroxisome proliferator activated receptor γ* ; LPL, lipoproteinlipasa; SCD-1, esteroil-CoA desaturasa-1, del inglés *stearoyl-CoA desaturase-1*; TG, triacilglicerol; 11 β -HSD1, 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1, del inglés *11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase 1*. Adaptado de Lottenberg et al. [107].

I. INTRODUCCIÓN

Los lípidos dietéticos participan en la composición de los fosfolípidos de la membrana celular del tejido adiposo, en la modulación de la transcripción de diferentes genes involucrados en los procesos de lipólisis y lipogénesis, así como en la regulación de adipocitos y vías metabólicas e inflamatorias (Figura 9). La composición de ácidos grasos de la membrana celular de adipocitos y miocitos incide sobre los mecanismos fisiológicos involucrados en la respuesta a la insulina y el consumo de glucosa [107].

2.6.1. Ácidos grasos saturados

La ingesta de dietas ricas en AGS puede desencadenar lipogénesis *de novo* y generar insulinoresistencia e incremento en la expresión de citocinas inflamatorias en el tejido adiposo [107]. El exceso de AGS produce hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos y la subsecuente apoptosis, lo cual aumenta la inflamación, empeora la señalización de la insulina y causa insulinoresistencia en múltiples tejidos, especialmente en tejido adiposo y músculo, debido al aumento de la señalización inflamatoria, así como del reclutamiento y activación de macrófagos y neutrófilos. Los AGS tienen la capacidad de aumentar la expresión de genes inflamatorios, tanto en adipocitos como en macrófagos, y, aparentemente, disminuyen la oxidación de ácidos grasos y glucosa, aumentando su acumulación en tejidos y sangre [6] (Figura 9). No obstante, la aplicación de una dieta isoenergética reducida en AGS en personas adultas no tuvo efecto sobre diversos biomarcadores de inflamación, como PCR, resistina, adiponectina y leptina [133].

En adolescentes, los AGS representan casi el 50% del total en fosfolípidos plasmáticos [134]. Se ha mostrado que, aquellos que poseen sobrepeso exhiben mayor concentración de AGS plasmáticos que los normopeso [134], con mayor contenido de

I. INTRODUCCIÓN

ácidos mirístico y palmítico [62]. Sin embargo, en tejido adiposo de adultos obesos, la concentración de ácido palmítico y ácido esteárico es menor que en el grupo control [135].

En un estudio reciente efectuado por nuestro grupo de investigación en adultos con riesgo elevado de desarrollar ECV, los ácidos mirístico y palmítico han sido relacionados positivamente con el perímetro de la cintura e IMC [136]. Sin embargo, en sujetos con síndrome metabólico sometidos a una intervención dietética isoenergética, la reducción de la ingesta de AGS, no produjo cambios en IMC, perímetro cintura ni tensión arterial [133].

La ingesta de dietas ricas en AGS se ha relacionado con el desarrollo de síndrome metabólico [6], debido a los efectos inflamatorios [6,107] y antagónicos con la insulina [6]. Se ha observado que el contenido plasmático de AGS totales, ácido mirístico y ácido palmítico, es mayor en los individuos que presentan síndrome metabólico. Además, los cuartiles más altos de éstos se han asociado a un incremento de la probabilidad de desarrollar síndrome metabólico [136].

Los AGS han sido vinculados a efectos deletéreos para la salud referentes a diferentes parámetros ligados al síndrome metabólico, especialmente debido a su influencia sobre TAG, colesterol total y LDL [107]. Se ha constatado que los ácidos mirístico y palmítico se relacionan positivamente con TAG y que el ácido palmítico también lo hace con el colesterol total [136]. Con respecto a las HDL, se ha descrito que los AGS totales de la dieta [137] y la concentración de ácido palmítico en ésteres de colesterol [138] se relacionan en forma inversa con éstas, mientras que en fosfolípidos séricos no se ha encontrado tal asociación [138]. No obstante, en sujetos con síndrome

I. INTRODUCCIÓN

metabólico, la concentración de TAG fue menor y la de HDL mayor, luego de la aplicación de una dieta rica en AGS, mientras que apolipoproteína A1 (apo A1) y apo B no fueron alteradas significativamente [133]. Cabe destacar que, el incremento de la colesterolemia y LDL atribuido al efecto de dichos ácidos grasos, no es observado con el ácido esteárico, ya que es particularmente sensible a la estearoil-CoA desaturasa (SCD, del inglés *stearoyl-CoA desaturase*)-1 del hígado, la cual desatura AGS a AGMI [107].

In vivo e in vitro, el ácido palmítico causa insulinoresistencia, lo que, aparentemente, está vinculado a la reducida expresión de adiponectina (proteína insulinosensibilizante producida por adipocitos) y a su acción sobre las vías de señalización de la insulina requeridas para el almacenamiento de la glucosa [6]. Sin embargo, en adolescentes con sobrepeso, no se ha encontrado relación entre la insulinoresistencia y la composición de ácidos grasos [134]. En adultos con síndrome metabólico, la aplicación de una dieta isoenergética reducida en AGS no tuvo efecto sobre la sensibilidad a la insulina, la insulina en ayunas, la concentración de glucosa o la insulinoresistencia [133]. En contrapartida, en adultos con riesgo elevado de desarrollar ECV, los ácidos mirístico y palmítico han sido relacionados positivamente con la glicemia [136].

Por otra parte, en adultos con sobrepeso y/o obesidad central, la ingesta de una dieta rica en AGS ha resultado en el incremento de la expresión de genes involucrados en los procesos inflamatorios en tejido adiposo, sin cambios en la morfología o sensibilidad a la insulina [139].

I. INTRODUCCIÓN

Cabe destacar que, la sustitución de AGS por ácidos grasos insaturados, particularmente oleico y DHA, aminora muchos de los efectos adversos mencionados [6].

2.6.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Las evidencias indican que, las poblaciones con elevado consumo de ácido oleico, como las mediterráneas, presentan menor prevalencia de obesidad, diabetes tipo 2 y eventos cardiovasculares [140].

Tanto en tejido adiposo de adultos obesos [135] como en fosfolípidos plasmáticos de niños con sobrepeso [62], se ha observado una mayor concentración de ácidos palmitoleico y oleico en comparación con el grupo control. Además, en los niños, el perfil de AGMI plasmático ha mostrado un contenido más elevado de C20:1 n-9 [62].

La ingesta de AGMI reduce la lipogénesis a través del aumento de la oxidación de ácidos grasos [107]. Al comparar los efectos de diferentes dietas sobre la composición corporal, se ha observado una pérdida de peso mayor en las personas que siguieron un régimen rico en AGMI que en aquellas que recibieron una alimentación reducida en grasas totales y AGS [141]. Asimismo, a dichos ácidos grasos se le ha atribuido un descenso de masa grasa más pronunciado en comparación con el grupo de menor ingesta, sin poder establecerse asociación con el perímetro de la cintura [141]. En sujetos con síndrome metabólico suplementados con aceite de girasol alto oleico, también se ha producido disminución del peso corporal, pero no se ha encontrado cambios significativos en IMC o perímetro de la cintura [133].

I. INTRODUCCIÓN

Por otra parte, se ha demostrado que, el ácido palmitoleico es una hormona lipídica importante, recientemente designada como una “lipoquina” [142], que estimula la actividad de la insulina sobre los músculos e influye sobre el depósito de grasa en el hígado [95,142]. No obstante, no se han encontrado diferencias significativas entre la concentración de PCR en personas sometidas a dietas ricas o pobres en AGMI [141].

Se ha mostrado que, el incremento de la prevalencia de obesidad está relacionado con el aumento de la concentración de ácido palmitoleico en tejido adiposo [135]. En niños, el contenido plasmático este ácido graso ha sido asociado con el porcentaje de masa grasa y la circunferencia de la cintura [62], mientras que en adultos, además de una asociación positiva con la adiposidad abdominal, se ha encontrado relación con el IMC [136].

En adultos con riesgo elevado de desarrollar ECV, se ha observado que el contenido plasmático de AGMI totales y de ácido palmitoleico es mayor en los individuos que presentan síndrome metabólico [136]. Además, una concentración plasmática elevada de dicho ácido graso ha sido relacionada con el riesgo de desarrollar síndrome metabólico, tanto en adultos [136] como en adolescentes [134].

La sustitución de AGS por AGMI mejora la sensibilidad a la insulina [143] y la suplementación con ácido oleico bloquea la supresión de la β -oxidación y de la sensibilidad a la insulina, así como la acumulación de diacilglicerol, mediada por el ácido palmítico [6]. Además, se ha constatado una asociación positiva entre ácido palmitoleico y glicemia [136]. Sin embargo, en adolescentes con sobrepeso, la insulinoresistencia no ha sido relacionada con la composición de ácidos grasos [134].

I. INTRODUCCIÓN

Se ha mostrado que, las personas que reciben una dieta rica en AGMI sufren una mayor reducción de la tensión arterial sistólica y diastólica que aquellas alimentadas con un régimen bajo en AGMI [141]. A pesar de ello, en sujetos con síndrome metabólico, suplementados con aceite de girasol alto oleico, no se ha encontrado cambios significativos en las cifras de tensión arterial [133]. Además, se ha constatado una asociación positiva entre el ácido palmitoleico y tensión arterial diastólica [136].

Las evidencias actuales referentes al perfil lipídico son controvertidas. Mientras que en ciertos estudios no se ha constatado efecto alguno de los AGMI sobre colesterolemia, LDL, HDL o TAG [141], otros muestran asociación con el descenso de la concentración de las LDL y su menor susceptibilidad a la oxidación [143]. En sujetos suplementados con aceite de girasol alto oleico o alimentados con una dieta rica en AGMI, no se produjo alteraciones significativas de apo A1 ni apo B [133]. No obstante, el aumento de la ingesta de AGMI se relacionó con el incremento de la concentración de HDL [133] y descenso de LDL [139]. Además, se ha constatado una asociación positiva entre el ácido palmitoleico y colesterol total y TAG [136].

En lo que respecta a la inflamación, van Dijk et al. han constatado que el incremento de la ingesta de AGMI resulta en el descenso de la expresión de genes inflamatorios en tejido adiposo de sujetos con obesidad abdominal [139]. Sin embargo, en un metaanálisis en el que se evalúa el efecto de los AGMI sobre los factores de riesgo de ECV, no se han encontrado diferencias significativas en la concentración de PCR entre dietas ricas o pobres en dichos ácidos grasos [141].

2.6.3. Ácidos grasos poliinsaturados

En adolescentes, el 37% de los ácidos grasos en los fosfolípidos plasmáticos está constituido por AGPI [134]. Se ha mostrado que aquellos que presentan sobrepeso poseen menor concentración plasmática de DHA y AGPI n-3 totales que los normopeso [134]. En tejido adiposo, se ha observado mayor concentración de DHA y AA en adultos obesos en comparación con el grupo control [135]. El contenido de ácido α -linolénico plasmático es mayor en niños obesos que en normopeso [62], mientras que en el tejido adiposo de adultos resulta menor [135]. Además, los niños con obesidad presentan un menor contenido de ácido linoleico y mayor de dihomo- γ -linolénico (C20:3 n-6), mientras que el AA no difirió significativamente entre grupos [62].

Estudios en animales han mostrado que, AGPI n-3 afectan la composición corporal y reducen la acumulación de masa grasa, pero en ensayos clínicos de intervención los resultados son controvertidos [144]. En sujetos con síndrome metabólico suplementados con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3, se produjo una reducción significativa del peso corporal [133]. Sin embargo, en una revisión efectuada por Martínez-Victoria et al. [144], los autores plantean que se carece de datos concluyentes para evaluar el efecto de los AGPI n-3 sobre dicho parámetro antropométrico. Mientras que unos estudios reportan la acción beneficiosa de éstos, otros no manifiestan dichos hallazgos sobre la composición corporal [144]. Un ejemplo de ello son los resultados de Tierney et al., donde la suplementación con AGPI-CL n-3 no ha producido cambios significativos en IMC o perímetro de la cintura [133].

En ratones alimentados con dietas que simulan los cambios ocurridos en los últimos 20 años en la ingesta de LA en la alimentación humana, se ha observado que este ácido

I. INTRODUCCIÓN

graso aumenta el contenido de AA en los tejidos y subsecuentemente incrementa los endocannabinoides, con el consecuente desarrollo de obesidad [145]. Además, se ha constatado que el efecto adipogénico del LA puede ser prevenido con el consumo suficiente de EPA y DHA, ya que reduce el AA en fosfolípidos y normaliza el tono endocannabinoides [145].

Se ha observado que los AGPI participan en la regulación de diversas vías involucradas en el metabolismo de lipoproteínas, disminuyendo la colesterolemia [107]. Específicamente, los AGPI-CL n-3 han sido relacionados con la reducción de TAG [107,133] y lipoproteínas ricas en este lípido [133]. Sin embargo, apo A1 y apo B no fueron alteradas significativamente por el incremento de éstos en la alimentación [133]. En pacientes adultos con síndrome metabólico que recibieron una dieta isocalórica durante 12 semanas, se ha observado que la suplementación con AGPI-CL n-3 modifica la densidad y el fenotipo proaterogénico de las LDL a uno menos aterogénico [146]. Por otra parte, se ha constatado una relación directa entre LA y HDL y LDL e inversa con TAG y glicemia, mientras que dihomo- γ -linolénico se ha asociado positivamente con colesterolemia, HDL y LDL [136]. En pacientes con síndrome metabólico sometidos a una dieta hipocalórica, se ha observado que el grupo enriquecido en ALA ha sufrido un descenso de TAG [68].

A través de la modulación de genes involucrados en la lipogénesis, los AGPI reducen la síntesis de ácidos grasos y previenen el desarrollo de insulinoresistencia [107]. Los resultados actuales referentes al efecto de los AGPI n-3 sobre la sensibilidad a la insulina y control de la glicemia son controvertidos, mientras que unos estudios muestran una mejora de ambos, otros no han corroborado tales hallazgos [107].

I. INTRODUCCIÓN

También hay discrepancias, en este sentido, con respecto a los AGPI n-6, específicamente sobre el AA [107]. Así, en adolescentes con sobrepeso, la insulinoresistencia no ha sido relacionada con la composición de ácidos grasos [134].

En adolescentes con sobrepeso, la composición plasmática de ácidos grasos, específicamente la reducción de ácido linoleico, se relacionó con el desarrollo de síndrome metabólico, independientemente de la masa grasa [134]. En adultos con riesgo elevado de desarrollar ECV, se ha observado que el contenido de AGPI totales y LA es menor en los sujetos que poseen dicho síndrome [136]. Además, el estudio por cuartiles, ha permitido establecer que el bajo contenido en plasma de éstos incrementa el riesgo de desarrollar síndrome metabólico [136].

En adultos obesos sometidos a un tratamiento de pérdida de peso con restricción calórica, se ha mostrado que la suplementación con EPA y DHA mejora la elasticidad de las arterias [147]. Por otra parte, en pacientes con síndrome metabólico, se ha observado que el grupo enriquecido en ALA ha mostrado una reducción más pronunciada de la tensión arterial diastólica [68]. Sin embargo, la suplementación con AGPI-CL n-3 no ha producido cambios significativos en la tensión arterial [133].

En adolescentes, una relación AGPI/AGS baja se ha vinculado al riesgo de desarrollar síndrome metabólico, además, dicho índice experimentó una asociación positiva con la concentración de HDL y negativa con la interleucina-6 [134]. La suplementación con LA previene la expresión y secreción de interleucinas inducida por el ácido palmítico [6].

En adolescentes con sobrepeso, la concentración de PCR se ha relacionado inversamente con el ácido α -linolénico y EPA en ésteres de colesterol plasmáticos [134]. No obstante, Devaraj et al. [70] y Rangel-Huerta et al. [148] han revisado el

I. INTRODUCCIÓN

efecto de los AGPI n-3 sobre biomarcadores de inflamación encontrando que, si bien algunos estudios muestran una relación inversa, otros no han confirmado esos resultados. Por esta razón, resulta crucial recabar mayores evidencias que permitan establecer conclusiones al respecto.

2.6.4. Actividad enzimática

La composición plasmática de ácidos grasos también es influenciada por las enzimas desaturasas y elongasas, como SCD-1, delta-5-desaturasa (D5D), D6D y elongasa-6 de ácidos grasos (Elovl6, del inglés *Fatty acid elongase-6*). La expresión de esas enzimas es modulada por nutrientes de la dieta, como los lípidos, que controlan factores de transcripción clave. Estudios en ratones modificados genéticamente, han establecido que las enzimas involucradas en la lipogénesis *de novo* y la síntesis de AGMI juegan un papel importante en el control del metabolismo, expresión génica y en el desarrollo y progresión de la obesidad [149].

SCD-1 es la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de AGMI, y los productos de su actividad son los ácidos palmitoleico y oleico (Figura 4). D5D y D6D son enzimas fundamentales en el metabolismo de los AGPI, las cuales producen la conversión de LA a AA y de ALA a EPA (Figura 5). Elovl6 es una enzima lipogénica clave, que cataliza la elongación de AGS y AGMI con 12, 14 y 16 carbonos (Figura 4). [95].

Estudios previos han establecido la actividad de las enzimas desaturasas [136] y elongasas [150] a través de la relación producto/sustrato de ácidos grasos. De esta manera, los índices C16:1n-7/C16:0 (SCD-16), C18:1n-9/C18:0 (SCD-18); C18:3n-

I. INTRODUCCIÓN

6/C18:2n-6; C20:4n-6/C20:3n-6 y C18:0/C16:0 permiten estimar la actividad de SCD-1, D6D, D5D y Elovl6, respectivamente.

Investigaciones en ratones muestran que la inhibición de SCD-1 protege contra las dietas que inducen obesidad [151]. En plasma y tejido adiposo de niños y adultos, la actividad de SCD-16 [62] y SCD-18 [135] es mayor en los que presentan obesidad que en los normopeso. Se ha observado que el aumento de la prevalencia de obesidad está relacionado con el incremento de la actividad estimada de SCD-16 y SCD-18 en tejido adiposo [135]. Además, la actividad de SCD-16 [136,152,153] y SCD-18 [152] se ha asociado positivamente con el IMC, así como SCD-16 se ha relacionado en forma directa con la adiposidad abdominal [136]. Sin embargo, Warensjo et al. [153] han observado una relación inversa entre SCD-18 e IMC.

Se ha observado que la actividad estimada de SCD-18 es mayor en sujetos que presentan síndrome metabólico [136]. Asimismo, estudios en ratones han mostrado que la inhibición de SCD-1 protege contra insulinoresistencia y hepatoesteatosis [151]. En personas adultas, SCD-18 se ha asociado en forma inversa con HOMA [153] y positivamente con la glicemia [136]. Por otra parte, el índice SCD-16 se ha relacionado directamente con leptina, no así con insulina o insulinoresistencia [62].

La inhibición de SCD-1 en ratones promueve, fuertemente, la aterosclerosis aórtica (lesión aórtica rica en AGS y colesterol), incluso recibiendo una dieta rica en AGMI [151]. Análisis adicionales han revelado que, también se produce la acumulación de AGS en plasma y tejidos, y reducción de TAG plasmáticos, HDL y apo A1, aunque no tuvo impacto sobre LDL ni apo B [151]. En humanos, la actividad de SCD-16 se ha relacionado positivamente con colesterol total, TAG y tensión arterial diastólica,

I. INTRODUCCIÓN

mientras que SCD-18 se ha asociado negativamente con HDL y positivamente con TAG [136,152].

Las evidencias sugieren que, la síntesis endógena de ácidos grasos puede involucrar señales que inciden sobre la sensibilidad a la insulina, siendo crucial la conversión de ácido palmítico a esteárico, más que la simple acumulación del primero. En ratones, se ha constatado que la deficiencia de Elovl6 protege de la insulinoresistencia, a pesar de no haber mejorado la obesidad o la hepatoesteatosis existentes, lo cual está relacionado con la supresión tanto de la síntesis como de la oxidación de ácidos grasos [95]. Por otra parte, el índice de actividad de Elovl6 ha sido menor en niños obesos en comparación con los normopeso [62].

En adultos, la actividad estimada de D5D se ha relacionado indirectamente con IMC [136,153] y el indicador de insulinoresistencia HOMA [153], mientras que en adolescentes obesos, no se ha encontrado asociación con el IMC [152]. Además, el índice de D5D se ha correlacionado positivamente con HDL e inversamente con TAG [136,152] y colesterol total [136].

Se ha observado que la actividad estimada de D6D es más elevada en sujetos que presentan síndrome metabólico y que una mayor actividad de ésta se asocia al riesgo de desarrollar dicho síndrome [136]. En adultos, el índice de D6D se ha relacionado en forma directa con IMC, HOMA [153] y TAG [136]. No obstante, en adolescentes obesos, no se ha encontrado relación entre IMC y dicha actividad enzimática [152].

3. VITAMINAS LIPOSOLUBLES ANTIOXIDANTES Y CAROTENOIDES

3.1. Vitamina E

3.1.1. Estructura química, clasificación y nomenclatura

El término “vitamina E” se utiliza para describir, en forma general, a un grupo de sustancias liposolubles biológicamente activas (tocolos) que incluye tocoferoles y tocotrienoles [154].

La vitamina E está formada por 8 isómeros, de los cuales cuatro son tocoferoles (α -, β -, γ - o δ -tocoferol) y los demás tocotrienoles (α -, β -, γ - o δ - tocotrienol). Su estructura consta de 2 partes primarias: un anillo complejo cromanol y una larga cadena lateral. Los isómeros se diferencian en la saturación de la cadena lateral, teniendo los tocoferoles una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con 3 dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. La posición que ocupa el grupo metilo en el anillo cromanol determina la letra griega utilizada como prefijo, designándose como formas α , β , γ o δ [154,155] (Figura 10).

El RRR- α -tocoferol es la forma más abundante en la naturaleza y la de mayor actividad biológica [3], mientras que el isómero sintético consiste en una mezcla de ocho estereoisómeros (RRR, RSR, RRS, RSS, SRR, SSR, SRS, SSS) [154]. La nomenclatura RRR- indica que los carbonos quirales se encuentran en la configuración R en las posiciones 2', 4' y 8' [156].

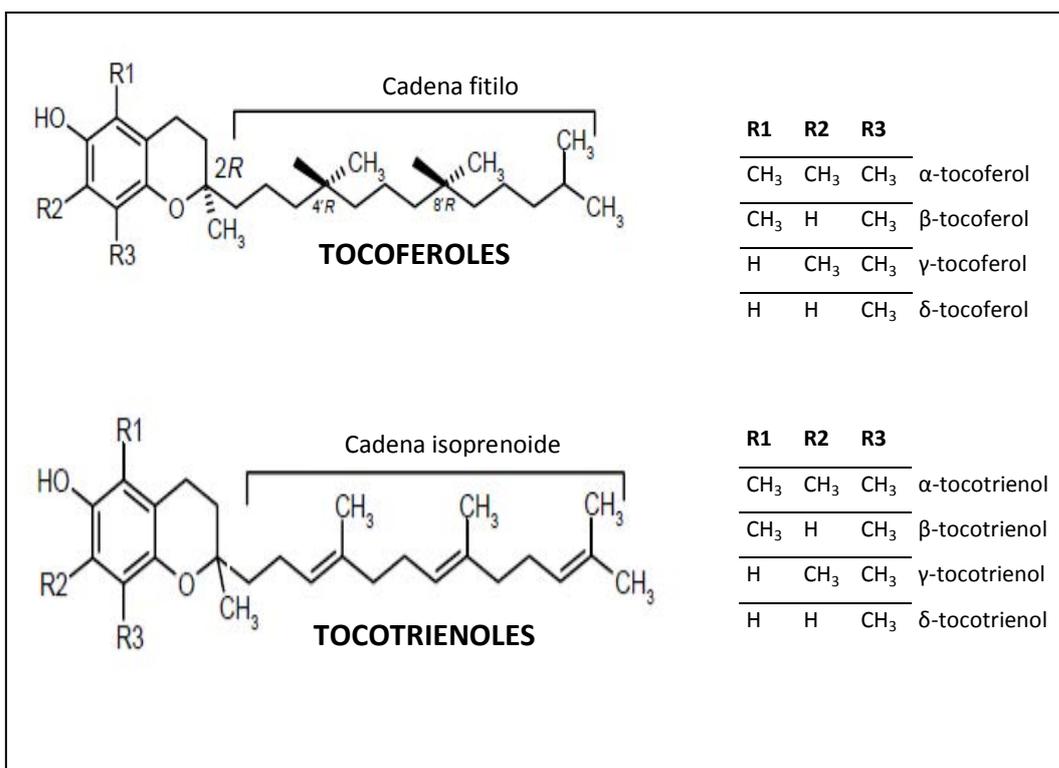


Figura 10. Estructura química y nomenclatura de la vitamina E.

Las diferentes formas de la vitamina E difieren en su actividad biológica. El α-tocoferol es la forma más común que se encuentra en sangre y tejidos humanos, y posee la mayor actividad biológica entre los tocoferoles y tocotrienoles [154]. En el β-tocoferol, el γ-tocoferol y el δ-tocoferol ésta se considera en función del α-tocoferol (100%), siendo del 30%, 15% y 1%, respectivamente [3]. Esto hace que el α-tocoferol sea el isómero más importante de la vitamina E [3].

3.1.2. Absorción y metabolismo

La vitamina E es absorbida en la porción media del intestino delgado en presencia de sales biliares y lipasa pancreática. Debido a su hidrofobicidad, la vitamina E es poco soluble en el medio hidrofílico del plasma, fluido extracelular y citosol, por lo que, al igual que otras vitaminas liposolubles, requiere la unión a proteínas específicas o lipoproteínas para ser transportada y distribuida [157]. Tanto el α-tocoferol como los

I. INTRODUCCIÓN

demás isómeros de la vitamina E, son absorbidos en el intestino delgado junto con la grasa dietética, en presencia de sales biliares y lipasa, e incorporados en quilomicrones, para posteriormente ser transportados desde el sistema linfático a la circulación sistémica [3,154]. Parte de la vitamina E es captada por los tejidos extrahepáticos, por acción de la LPL, y los remanentes de quilomicrones llevan la vitamina restante hacia el hígado [3,154]. La distribución a la circulación es regulada por la proteína transportadora de α -tocoferol (α -TTP, del inglés *α -tocopherol transfer protein*), la cual se localiza en el hígado y tiene mayor afinidad por el α -tocoferol [154,158]. Esta proteína es crucial en el mantenimiento de las concentraciones plasmáticas de la vitamina [154], así como, en la distribución del α -tocoferol a los tejidos y en la distribución intracelular [158]. En el hígado, por acción de la proteína que transfiere α -tocoferol, la mayor parte es incorporada a las VLDL nacientes y liberada a la circulación, mientras que el exceso de α -tocoferol y las demás formas de vitamina E es metabolizado o excretado en la bilis [3,154]. Una vez secretadas a la circulación, las VLDL son convertidas en lipoproteínas de densidad intermedia y LDL por acción de la LPL [3]. El exceso de componentes superficiales, incluyendo el α -tocoferol, es transferido a HDL [3,154]. Las LDL entregan el α -tocoferol a los tejidos periféricos por medio de la unión con receptores de LDL [154], siendo almacenada principalmente en tejido adiposo e hígado [3].

3.1.3. Fuentes alimentarias

La vitamina E está ampliamente distribuida en la naturaleza. Las principales fuentes alimentarias son los aceites vegetales, como los de germen de trigo, girasol y oliva, y los productos de origen vegetal ricos en lípidos, como almendras, nueces, semillas y

I. INTRODUCCIÓN

granos de cereales [3,154]. También se encuentra en las hojas y otras partes verdes de las plantas y en el tejido adiposo de los animales. En las dietas occidentales, la ingesta de vitamina E deriva de grasas y aceites comestibles, siendo cada vez mayor la procedencia de alimentos fortificados (cereales de desayuno, leche, zumo de frutas). Cabe destacar que, el contenido de vitamina E de los alimentos depende de la cosecha, procesamiento, almacenamiento y cocción, ya que ésta es muy susceptible a la destrucción por el oxígeno, metales, luz y calor [154].

3.1.4. Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas

Existen evidencias de que niños y adolescentes obesos poseen mayor estrés oxidativo [65] y menor concentración de α -tocoferol, ajustado por la concentración de lípidos plasmáticos [20,61] y sin ajustar [65], que los normopeso, constatándose una relación inversa entre ambos [65]. In vitro, se ha demostrado que la vitamina E es un potente antioxidante, que interfiere con la propagación de los radicales libres, inhibiendo la peroxidación lipídica en membranas y lipoproteínas [156,158]. Además, recientemente, se ha descubierto que ésta, en especial el α -tocoferol, actúa como reguladora de múltiples enzimas y que está involucrada en la expresión de genes vinculados a las vías inflamatorias y al metabolismo de la glucosa y de los lípidos [158,159]. Esto lleva a pensar que, el aumento de la ingesta de dicha vitamina puede ejercer un rol importante en la prevención y tratamiento de sobrepeso, obesidad y patologías asociadas.

En adultos con obesidad mórbida, también se ha observado menor concentración sérica de α -tocoferol, estandarizado por lípidos plasmáticos, en comparación con el grupo control, así como, se ha constatado déficit de esta y otras vitaminas en el 11-

I. INTRODUCCIÓN

38% de los pacientes [60]. Cabe destacar que, en los individuos con mayor grado de obesidad, ha ocurrido una reducción más pronunciada de la concentración de vitaminas [60]. Por otra parte, la concentración de α -tocoferol se ha asociado directamente con el IMC, el porcentaje de masa grasa y la adiposidad central [160], mientras que, otros autores han encontrado que la relación con la masa grasa es inversa [20]. Después de ser ajustado por los lípidos plasmáticos, el isómero fue correlacionado negativamente con el peso [61], la circunferencia de la cintura [20,64] y la masa grasa absoluta (kg) [61].

Con respecto a la regulación de la actividad génica, se ha observado un aumento de la expresión de PPAR α , principal regulador del metabolismo de los lípidos, por acción tanto de α - como de γ -tocoferol [158]. Además, la ingesta de vitamina E modula la relación de las variantes genéticas del gen sirtuin (SIRT1) con el IMC, el cual está vinculado con el riesgo de obesidad [159].

La insulinorresistencia, estimada a través del índice HOMA, ha sido relacionada en forma inversa con la concentración de α -tocoferol corregida por lípidos [61,64], encontrándose que los tertiles más altos mostraban menor concentración del tocoferol [64]. También se ha observado que el α -tocoferol se correlaciona en forma negativa con la concentración plasmática de insulina en ayunas [61]. Asimismo, en niños y adolescentes, la ingesta de vitamina E ha sido establecida como predictor negativo de la concentración de leptina [21].

Duncan et al. han estudiado la magnitud del efecto de la inflamación sobre la concentración de micronutrientes, encontrando que la vitamina E no disminuye con el aumento de la severidad de la respuesta inflamatoria aguda [161]. Sun et al. [162] han

I. INTRODUCCIÓN

revisado el efecto de la suplementación con micronutrientes antioxidantes sobre la inflamación, sin encontrar diferencias en los cambios de las concentraciones de PCR o interleucina-6 entre el grupo suplementado con vitaminas-minerales y el grupo control de placebo.

En relación a la etiología de las enfermedades cardiovasculares, se plantea que la modificación oxidativa de las LDL es un factor clave en el inicio y progresión de la patología [157]. La habilidad del α -tocoferol de inhibir la oxidación de dichas lipoproteínas in vitro a llevado a asumir que la vitamina E también puede prevenir la aterosclerosis. No obstante, los resultados encontrados, hasta el momento, son inconsistentes [156,157]. Algunos autores han observado una menor incidencia de enfermedades crónicas y de eventos cardiovasculares cuando la ingesta de vitamina E es aumentada [156,157,163], mientras que otros no han hecho tales hallazgos [156,157]. Un ejemplo de ello son los resultados de Dwyer et al., que no encontraron relación entre las concentraciones plasmáticas de α - y γ -tocoferol y la progresión del espesor íntima media carotídeo (marcador sucedáneo de aterosclerosis y de eventos cardiovasculares o cerebrovasculares) [164]. En adolescentes, la vitamina E no se ha asociado al síndrome metabólico [165] y en adultos mayores, no se ha encontrado asociación con el riesgo de mortalidad por todas las causas o por enfermedades cardiovasculares o cáncer [166]. Sin embargo, otros autores han descrito menos muertes de causa cardiovascular e infarto de miocardio no fatal en las personas suplementadas con α -tocoferol [157]. Aparentemente, la suplementación con α -tocoferol es beneficiosa sólo cuando las enfermedades crónicas resultan, al menos en parte, de una protección antioxidante subóptima [156].

I. INTRODUCCIÓN

Por otra parte, se plantea que, los beneficios de la vitamina E sobre las enfermedades cardíacas podrían deberse a su habilidad de interferir con la formación de coágulos, al incidir en el estado de vitamina K. Así, se logra prevenir la trombosis y, por lo tanto, los ataques del corazón y los accidentes cerebrovasculares [156]. Teniendo en cuenta otras funciones de la vitamina E, se ha propuesto como mecanismos antiateroscleróticos del α -tocoferol, la modulación de la señalización celular, vinculada a su acción sobre la proteína quinasa C, que determina la inhibición de varios eventos clave en la inflamación, y la regulación transcripcional de la expresión génica [157].

3.2. Vitamina A

3.2.1. Estructura química, clasificación y nomenclatura

El término vitamina A es empleado para describir a los compuestos con la actividad biológica del retinol, es decir, retinoides y carotenoides con actividad provitamínica A [3,167] (los carotenoides serán presentados posteriormente en el apartado 3.3 Carotenoides: β -caroteno y licopeno).

Los compuestos vitamínicos A pertenecen al grupo de los isoprenoides, estando formados por cuatro unidades de isopreno que contienen cinco dobles enlaces conjugados [3,167]. Los retinoides con actividad vitamínica A se encuentran en la naturaleza en tres formas: alcohol (retinol), aldehído (retinal o retinaldehído) y ácido (ácido retinoico) (ver Figura 11) [3,167]. Además del todo-*trans*-retinol, otros cinco isómeros (7-*cis*, 9-*cis*, 11-*cis*, 13-*cis* y 9,13-*cis*) tienen actividad de vitamina A [3]. Las formas con mayor actividad fisiológica son el retinol y el ácido retinoico, siendo el palmitato de retinol la forma de depósito más importante [3,167]. Cabe destacar que, los retinoides tienden a ser más estables en la configuración todo-*trans* [167].

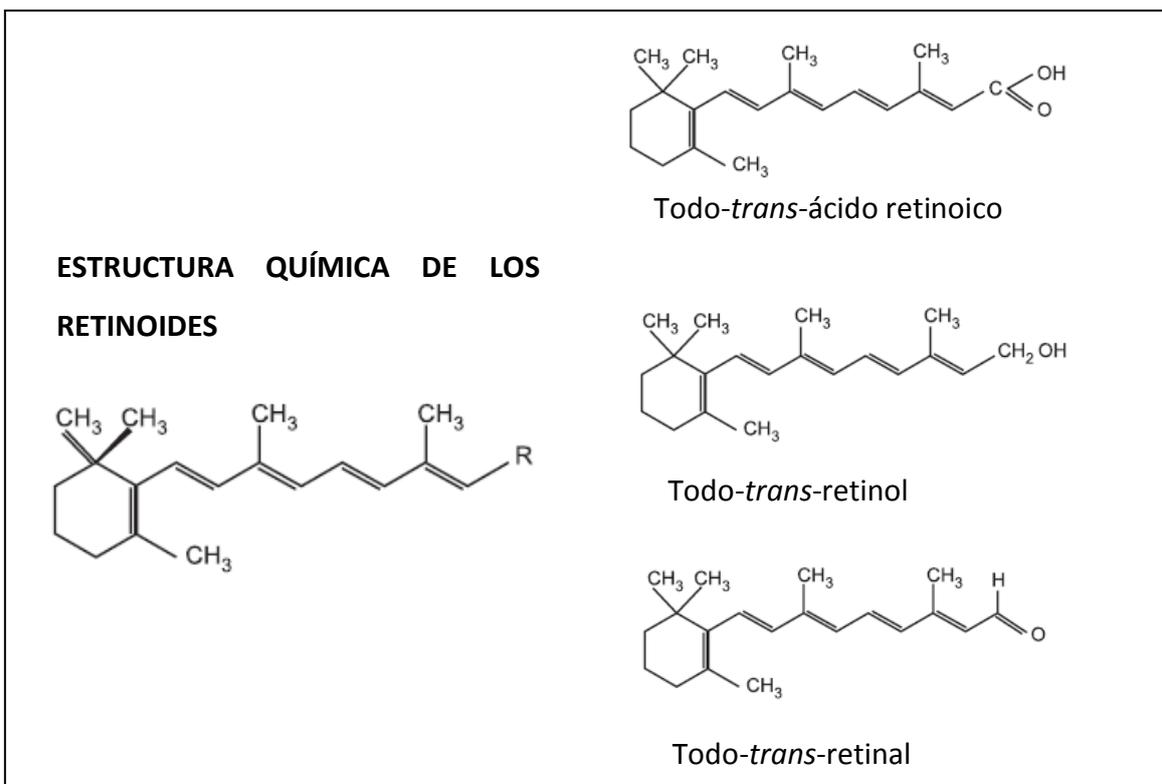


Figura 11. Estructura química general de los retinoides con ejemplos de las formas ácido, alcohol y aldehído.

Esta vitamina es muy sensible a la luz, oxidación, isomerización y polimerización debido a su estructura de dobles enlaces conjugados. En general, los ésteres son más estables que las formas alcohólicas y los carotenoides son algo menos estables que los retinoides [3].

3.2.2. Absorción y metabolismo

La absorción de la vitamina A requiere de la acción previa de enzimas proteolíticas gastrointestinales, esterasas pancreáticas y lipasas intestinales. Después de su absorción en el intestino delgado, los quilomicrones recién formados contienen ésteres de retinol, retinol en forma libre y algunos carotenoides que no han sido hidrolizados previamente, además de ésteres de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos y apolipoproteínas. Dichos quilomicrones son liberados al torrente linfático alcanzando

I. INTRODUCCIÓN

así la vía sanguínea. Se debe señalar que parte del retinol no esterificado y de los ácidos retinoicos pueden ser transportados al hígado vía circulación portal [3,167].

Durante el transporte y distribución de los quilomicrones desde la linfa a los tejidos periféricos, se produce una metabolización inicial de los mismos, dando lugar a la formación de los quilomicrones remanentes. Estas partículas vehiculizan los ésteres de retinol hacia el hígado y otros órganos como pulmones y riñones y al tejido adiposo, aunque a nivel hepático es donde se produce el mayor almacenamiento [3].

En el hígado, antes de la secreción de la vitamina A a la circulación general, el *trans*-retinol se une a la proteína transportadora de retinol (RBP, del inglés *retinol-binding protein*, también denominada apo-RBP), la cual le confiere solubilidad en el medio acuoso, formando el complejo holo-RBP (retinol-RBP) que es liberado al plasma. Éste, a su vez, se ensambla con la transtirretina plasmática (prealbúmina), lo que minimiza las pérdidas renales y aumenta la estabilidad del retinol. Por su parte, el ácido retinoico no es transportado por la RBP, sino que lo hace unido a la albúmina y a otras proteínas [3,167].

El complejo holo-RBP interacciona con los receptores superficiales, de las células de los tejidos diana, siendo internalizado por endocitosis. Dentro de la célula el retinol es liberado y se une a proteínas transportadoras específicas como la proteína celular fijadora de retinol, la proteína celular fijadora de ácido retinoico, la proteína celular fijadora de retinal y la proteína fijadora de retinol interfotorreceptor, a nivel ocular [3,167].

La vitamina A es ampliamente metabolizada en diversos lugares del organismo, siendo las principales reacciones ocurridas, esterificación, oxidación a C-15, oxidación a C-4,

I. INTRODUCCIÓN

conjugación, fosforilación, isomerización y escisión de las cadenas. Cabe enfatizar que, estos cambios en la estructura molecular pueden afectar su actividad biológica [3,167].

La excreción se produce fundamentalmente por medio de la bilis, si bien una pequeña proporción es eliminada a través de la orina, aunque las pérdidas son mínimas debido a que el hígado puede reciclar vitamina A [3].

3.2.3. Fuentes alimentarias

La vitamina A preformada se encuentra en alimentos de origen animal, principalmente en hígado, carnes, aceite de pescado, mantequilla, productos lácteos y yema de huevo, en forma de ésteres de ácidos grasos de cadena larga, siendo uno de los predominantes el palmitato de retinol [3,167].

Además del aporte de vitamina A a partir del contenido de forma natural en los alimentos, en numerosos países se enriquecen los productos lácteos y las margarinas con ésteres de retinol, constituyendo de este modo una fuente importante de la vitamina [3].

3.2.4. Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas

La cantidad abundante de vitamina A encontrada en el tejido adiposo y los numerosos estudios que documentan su significativo rol en el metabolismo de éste, justifican el persistente interés en la acción de esta vitamina sobre la adipogénesis.

In vitro e in vivo, se ha mostrado que el tratamiento con ácido retinoico (RA) y la producción autócrina de RA y retinaldehído, en el tejido adiposo a partir de retinol, pueden regular la síntesis de grasa corporal [10,168]. Interesantemente, el RA también

I. INTRODUCCIÓN

ha sido descrito como potente supresor de las adipoquinas, lo que probablemente esté vinculado a insulinoresistencia e inflamación [168]. Estudios en animales, sustentan el impacto del estado nutricional de vitamina A sobre la composición corporal [168], así como, la importancia de ésta en la reducción de la peroxidación lipídica, aumento de las enzimas antioxidantes y disminución de la inflamación [169]. Asimismo, estudios observacionales en humanos, indican asociación entre déficit de vitamina A y obesidad, hígado graso y resistencia a la insulina [168].

El RA puede afectar el metabolismo energético y lipídico, a través de múltiples mecanismos genómicos y no genómicos, que impactan sobre la señalización del receptor de ácido retinoico (RAR), del PPAR y del receptor hepático X (LXR), así como sobre proteínas quinasas en tejidos clave [168,170]. El RA actúa principalmente a través de RAR y PPAR δ [10,171,172]. La activación de PPAR δ induce la expresión de genes involucrados en la homeostasis de lípidos y glucosa y aumenta la sensibilidad a la insulina [171,172], lo cual es mejorado aún más por la activación de RAR [172]. Así, el RA estimula la lipólisis, la oxidación de ácidos grasos y reduce el contenido de triglicéridos de los adipocitos, con la consecuente pérdida de peso [171,172]. En contraste, el retinaldehído es un débil agonista de RAR pero puede inhibir la activación del receptor X retinoide (RXR) y del PPAR γ en adipocitos, lo que podría disminuir la adipogénesis [10].

En lo que respecta a estudios en humanos, en adultos con obesidad mórbida, se ha observado una menor concentración sérica de vitamina A en comparación con el grupo control [60]. No obstante, en adolescentes obesos, con y sin síndrome metabólico, no ha sido confirmado tal hallazgo [61].

I. INTRODUCCIÓN

Al evaluarse la asociación del retinol plasmático con indicadores antropométricos de adiposidad general y central, no se confirmó correlación alguna [61]. En relación a la pérdida de peso, se observó que en adultos con exceso de peso sometidos a un tratamiento de adelgazamiento sin ejercicio, el retinol plasmático disminuyó a los 3 meses de tratamiento, en relación con las condiciones iniciales, y se mantuvo disminuido hasta los 6 meses de intervención [69].

Un aspecto muy relevante en el estudio de la obesidad, es la relación de la vitamina A con la inflamación. Duncan et al. [161] han evaluado la magnitud del efecto de la inflamación sobre la concentración de micronutrientes, encontrando que la vitamina A disminuye con el aumento de la severidad de la respuesta inflamatoria aguda. Así, en pacientes obesos, se ha constatado que aquellos que poseen de 8 a 69 mg/L de PCR, tienen una concentración de vitamina A más baja que los individuos con menor grado de inflamación [60]. En adolescentes, la concentración de retinol+ésteres de retinol ha mostrado una relación inversa con la PCR [165]. Sin embargo, Sun et al. [162] han revisado el efecto de la suplementación con micronutrientes antioxidantes sobre la inflamación, sin encontrar diferencias en los cambios de las concentraciones de PCR o interleucina-6 entre el grupo suplementado con vitaminas-minerales y el grupo control de placebo.

En relación a las ECV, un estudio efectuado en adultos, que pretendía elucidar el rol de la vitamina A, ha mostrado que la concentración plasmática de retinol es menor en pacientes con ECV que en el grupo control y que las cantidades bajas de retinol aumentan el riesgo de desarrollar dichas patologías [173]. Cabe destacar que el riesgo

I. INTRODUCCIÓN

asociado a dicha vitamina es comparable con factores de riesgo como HDL e interleucina-6 y se comporta aditivamente [173].

Las evidencias enunciadas, plantean un posible efecto antiobesidad de la vitamina A, aunque gran parte de éstas derivan de estudios *in vitro* o en animales, lo cual incentiva a continuar profundizando en el tema, en especial en grupos de riesgo como los adolescentes.

3.3. Carotenoides: β -caroteno y licopeno

3.3.1. Estructura química, clasificación y nomenclatura

Los carotenoides son hidrocarburos poliénicos, sintetizados por plantas y microorganismos a partir de ocho unidades de isopreno. En base a su estructura, pueden ser clasificados en: carotenoides hidrocarbonados o carotenos, como β -caroteno y licopeno, los cuales no contienen oxígeno, y xantofilas u oxicarotenoides, como la luteína, que contienen carboxilos y/o hidroxilos en sus grupos constituyentes [3]. Esencialmente, todos los nombres específicos de los carotenos se basan en la estructura patrón de 40 carbonos *caroteno*, precedido por prefijos (letras griegas) que designan los dos grupos terminales [174] (ver Figura 12). Debido a la presencia de dobles enlaces conjugados, los carotenoides pueden experimentar isomerización a las formas *cis-trans* [174,175].

Todos los carotenoides con un anillo β no sustituido y una cadena polieno con 11 átomos de carbono, presentan actividad de vitamina A, debido a que pueden ser convertidos a retinol [174]. Al metabolizarse, los carotenoides generan retinoides, de los cuales alrededor de 50 producen retinol. Los que poseen actividad provitamínica A

I. INTRODUCCIÓN

son β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno y β -criptoxantina [3,174]. Entre ellos, el β -caroteno tiene la mayor actividad de provitamina A [174]. Al igual que los demás carotenoides, el licopeno es un pigmento liposoluble. Tiene una estructura altamente insaturada que consta de 11 dobles enlaces conjugados y 2 no conjugados (Figura 12) y no posee actividad de provitamina A. En la naturaleza, se encuentra en la forma isomérica *todo-trans* [175,176].

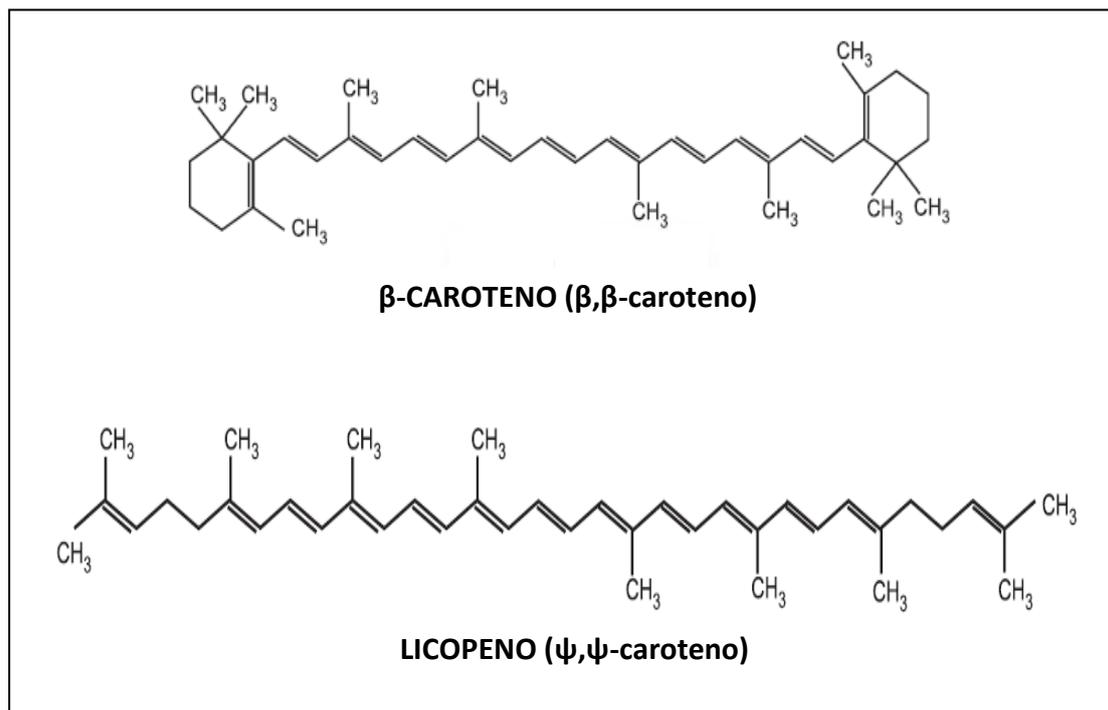


Figura 12. Estructura química y nomenclatura de β -caroteno y licopeno.

Los carotenoides son algo menos estables que los retinoides [3]. Su naturaleza insaturada los hace susceptibles a la degradación por oxidación, aunque también son vulnerables a la temperatura, luz y pH [175]. En general, el contenido de carotenoides de los alimentos no es alterado en gran medida por los métodos culinarios habituales [175].

3.3.2. Absorción y metabolismo

Diversos factores influyen sobre la absorción de los carotenoides. El procesamiento y cocción de los alimentos causa la ruptura de los tejidos, liberando los carotenoides, lo que consecuentemente mejora su absorción [175]. En el intestino delgado, estos compuestos pueden ser absorbidos en forma intacta, o bien son desdoblados enzimáticamente en moléculas de retinol dentro de los enterocitos [3]. Los que no son metabolizados en la mucosa intestinal, son transportados al hígado en quilomicrones por vía linfática. Los carotenoides de los quilomicrones remanentes son internalizados en el hígado y secretados posteriormente al torrente sanguíneo en VLDL, las cuales son metabolizadas a LDL, lipoproteínas de densidad intermedia y HDL, siendo las LDL el principal portador de licopeno [3,167,177,178]. Los carotenoides más hidrocarbonados son transportados principalmente por las LDL, mientras que los más polares lo hacen tanto en las LDL como en las HDL [3,167].

El licopeno es el carotenoide más abundante en el plasma humano con una vida media de 2-3 días [175]. Los órganos en que se ha encontrado mayor cantidad son: glándulas suprarrenales, hígado, tejido adiposo y próstata [175,179]. La mayor parte del β -caroteno es almacenado en los adipocitos, lo cual hace que en los seres humanos las capas del tejido graso presenten una coloración amarillenta [3].

3.3.3. Fuentes alimentarias

Aunque los carotenoides están presentes en muchos alimentos, las frutas muy pigmentadas, zumos y vegetales, constituyen las principales fuentes alimentarias en la dieta humana [175]. Los vegetales y frutas de color amarillo-naranja, como zanahoria y calabaza, aportan la mayoría del β -caroteno, mientras que los tomates y productos

derivados de éste proporcionan la mayor parte del licopeno [3,174,175]. Otros alimentos ricos en licopeno son guayaba, papaya, sandía y pomelo [176].

3.3.4. Relación con sobrepeso, obesidad y patologías asociadas

Como se sabe, las personas obesas tienen menor concentración de β -caroteno que las normopeso [63,180]. Estos hallazgos han podido ser verificados en adolescentes, tanto para el β -caroteno ajustado por lípidos plasmáticos como sin ajustar [61]. Dichas evidencias y las funciones constadas en estudios in vitro y en modelos animales, han despertado interés en el estudio de la vinculación del β -caroteno y el licopeno con las enfermedades crónicas no transmisibles.

En cultivos celulares y modelos de ratones, se ha mostrado que el β -caroteno es un precursor fisiológico para la síntesis de ácido retinoico en adipocitos y que, a través de este metabolito, puede reducir la expresión de PPAR γ y el contenido lipídico de células adiposas maduras [181]. En personas adultas, la ingesta elevada de β -caroteno y licopeno se ha relacionado con menor IMC [63,182], circunferencia de la cintura y masa grasa visceral y subcutánea [182]. En adolescentes, la concentración de β -caroteno, corregida por lípidos, ha mostrado una correlación inversa con el peso corporal, el IMC, el porcentaje de masa grasa, la masa grasa absoluta (kg), la masa magra (kg) y la relación cintura/cadera [61], así como con la circunferencia de la cintura [64]. Al emplear la concentración absoluta, se ha constatado asociación negativa con IMC [160,183], porcentaje de masa grasa, relación cintura/cadera y la circunferencia de la cintura [160]. En contrapartida, en adultos del sexo masculino, no se ha encontrado asociación para el β -caroteno y la adiposidad central [160].

I. INTRODUCCIÓN

En lo que respecta al tratamiento de la obesidad, adultos con exceso de peso sometidos a un régimen hipocalórico con [184] y sin [69] aumento de la actividad física, han experimentado un incremento de la concentración de β -caroteno a los 3 o 6 meses de intervención, en comparación con las condiciones iniciales; pero en el licopeno no se produjeron cambios significativos [69].

La actividad antioxidante de β -caroteno y licopeno es una de las principales funciones de interés en el presente estudio. En comparación con el α -tocoferol y el β -caroteno, el licopeno posee la mayor capacidad antioxidante, mostrando el siguiente orden: licopeno > α -tocoferol > β -caroteno [179]. Se ha constatado que el licopeno puede actuar sobre el ácido hipocloroso, el cual está ligado a la oxidación de los tejidos en las enfermedades cardiovasculares y otras patologías inflamatorias [185]. Karppi et al. [186] han mostrado que la concentración plasmática de licopeno es el principal determinante de los dienos conjugados de las LDL en mujeres, los cuales son marcadores de peroxidación en dichas lipoproteínas; mientras que el β -caroteno es el factor más importante en hombres.

In vitro e in vivo, se ha mostrado que el licopeno tiene actividad antiinflamatoria, lo que se debe a su capacidad antioxidante y a que inhibe enzimas generadoras de eicosanoides y la expresión de citocinas proinflamatorias, a través de la reducción de la activación de proteínas quinasas y de factores de transcripción [177]. En el tejido adiposo, se ha observado que dicho carotenoide disminuye la expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias [187]. En personas adultas, tanto β -caroteno [164,180,183] como licopeno [164,183], han sido inversamente relacionados con marcadores de inflamación crónica. En adolescentes, la concentración de carotenoides

I. INTRODUCCIÓN

totales también ha mostrado dicha asociación con la PCR [165]. Sin embargo, al revisarse el efecto de la suplementación con micronutrientes antioxidantes sobre la inflamación, no se han encontrado diferencias en los cambios de las concentraciones de PCR o interleucina-6 entre el grupo suplementado con vitaminas-minerales y el grupo control con placebo [162].

Con respecto a los lípidos, β -caroteno y licopeno plasmáticos han sido inversamente asociados con la concentración sérica de colesterol total [164]. Sin embargo, otros autores han observado una asociación positiva [160,183]. Se ha encontrado que ambos carotenoides en plasma se relacionan directamente con la concentración de LDL [180] y que el licopeno también está vinculado, pero en forma inversa, con las HDL [180]. Por el contrario, el β -caroteno ha sido asociado positivamente con las HDL [183]. Al igual que una mayor ingesta de licopeno se ha relacionado a una menor concentración sérica de triglicéridos [182], se ha encontrado una asociación indirecta entre el β -caroteno y estos lípidos [183]. Se ha demostrado que el licopeno puede disminuir la síntesis de colesterol a través de la inhibición de la hidroxil-3-metil-glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa [176].

El β -caroteno, corregido por lípidos, ha mostrado una correlación inversa con la concentración de insulina en ayunas [61,188] y la insulinoresistencia [61], encontrándose que los tertiles más altos del índice de insulinoresistencia HOMA, presentan menor concentración del carotenoide [64]. En adolescentes, la concentración de carotenoides totales ha sido inversamente relacionada con el índice HOMA [165]. El β -caroteno y el licopeno han sido relacionados en forma negativa con la diabetes tipo 2 y con el deterioro del metabolismo de la glucosa [188]. Asimismo, la

I. INTRODUCCIÓN

ingesta de β -caroteno ha sido postulada como predictora de la concentración de leptina en niños y adolescentes [21].

Estudios epidemiológicos y de intervención, han mostrado que la concentración plasmática o tisular de licopeno se asocia en forma negativa con la incidencia de enfermedades cardiovasculares o con los factores de riesgo de estas patologías (aterosclerosis, hipertensión, diabetes, síndrome metabólico, inflamación y estrés oxidativo). Sin embargo, dichos hallazgos no han podido ser verificados por otros autores. Se requieren más estudios e intervenciones a largo plazo para poder establecer los beneficios del licopeno sobre la salud cardiovascular [176].

En adultos con edad avanzada, una mayor concentración plasmática de β -caroteno se ha asociado a un menor riesgo de mortalidad por todas las causas y por enfermedades cardiovasculares o cáncer [166]. Adultos diabéticos con enfermedades cardiovasculares tienen menor concentración de licopeno y β -caroteno, sin corregir y corregida por lípidos, que los individuos sanos [189]. En contrapartida, la concentración plasmática de licopeno no se ha relacionado con la progresión del espesor íntima media carotídeo (marcador sucedáneo de aterosclerosis y de eventos cardiovasculares o cerebrovasculares) [164]. Sin embargo, se ha observado que dicho carotenoide protege contra la progresión de dicho marcador en personas fumadoras [164], y que disminuye el riesgo de desarrollar ECV en mujeres [190] y síndrome metabólico en hombres [182].

3.4. Determinación analítica

Actualmente, las técnicas instrumentales cromatográficas constituyen el método de elección para la determinación de vitaminas liposolubles y carotenoides, dándose la

I. INTRODUCCIÓN

separación y la detección en forma simultánea. Entre ellas, destacan la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, del inglés *High Performance Liquid Chromatography*). El análisis por HPLC es el que, a día de hoy, predomina, ya que la primera es inadecuada para la cuantificación de dichos analitos, debido a la inherente inestabilidad y baja volatilidad de esas moléculas [191].

3.4.1. Preparación de la muestra

Antes del análisis cromatográfico, es necesario preparar la muestra para eliminar la mayor parte de los lípidos y romper las interacciones de las lipoproteínas, liberando los analitos [192]. El proceso de preparación de muestras de plasma y suero incluye una etapa de precipitación de proteínas, con un solvente que contenga patrones internos, y la extracción de las vitaminas liposolubles y carotenoides [193].

Los métodos de extracción incluyen desde la saponificación e hidrólisis enzimática hasta la extracción directa por solventes [192]. Cuando es posible su aplicación, esta última es preferible a la saponificación debido a que se pueden generar pérdidas considerables de analitos [194], al ahorro de tiempo, al menor costo de los solventes y a que evita la formación de artefactos [192].

En la extracción directa, se debe utilizar un disolvente capaz de penetrar en la matriz de la muestra y romper los enlaces de las lipoproteínas para liberar los analitos, pudiendo ser acetona, etanol y metanol, entre otros. Posteriormente, para la extracción y purificación, se debe emplear un disolvente hidrófobo con un bajo punto de ebullición para que pueda ser eliminado (hexano, éter dietílico, acetato de etilo, benceno, etc.) [194]. Hexano, solo o combinado con otros solventes, parece ser el más usado para la extracción de retinol, α -tocoferol y carotenoides de fluidos biológicos

I. INTRODUCCIÓN

[193,195]. Con el objetivo de evitar la oxidación de vitaminas y carotenoides, por acción del oxígeno y/o luz, la evaporación de los solventes de extracción debe realizarse bajo atmósfera de nitrógeno y en la oscuridad [194]. Para la redisolución, en un volumen menor, se puede escoger un disolvente compatible con la fase móvil a utilizar, siempre y cuando sea capaz de disolver por completo el residuo seco obtenido.

3.4.2. Análisis cromatográfico

3.4.2.1. Sistema HPLC

Numerosos métodos de HPLC han sido utilizados para el análisis de retinol, α -tocoferol y carotenoides, los cuales emplean columnas de fase normal y reversa, en modos de elución isocrática o con gradiente [191,196]. En la primera, los analitos son adsorbidos en la fase estacionaria polar y los compuestos de menor polaridad eluyen antes que los más polares. En cambio, los métodos de fase reversa son de naturaleza hidrofóbica y se emplean solventes más polares (metanol o acetonitrilo con o sin pequeñas cantidades de agua), por lo que los analitos más hidrofílicos eluyen antes que aquellos más hidrofóbicos [197].

La cromatografía en fase reversa es la más popular y práctica en el análisis de vitaminas liposolubles y carotenoides, destacándose el uso de columnas con fases estacionarias C18 y C30 [191,198,199]. Estas últimas fueron desarrolladas específicamente para la separación de los isómeros *cis* y *trans* de los carotenoides [191], pero tienen la desventaja de que los tiempos de retención aumentan considerablemente [194]. Varias mezclas de solventes han sido utilizadas en dicho sistema, incluyendo agua, metanol, acetonitrilo, 2-propanol, acetona, acetato de etilo, tetrahidrofurano, t-butil metil éter, diclorometano y cloroformo [191]. Se ha

I. INTRODUCCIÓN

observado que los solventes basados en metanol producen mayor recuperación de carotenoides que aquellos basados en acetonitrilo [194]. Por otra parte, la separación cromatográfica completa de todas las especies relevantes de carotenoides, descritas en la literatura, requiere el uso de una elución con gradiente más que isocrática [191]. Esta necesidad conlleva un mayor tiempo de análisis en comparación con el método isocrático, ya que la elución por gradiente implica el reequilibrio de la columna entre inyecciones, lo cual puede modificar el tiempo de retención de los analitos.

Dependiendo del analito de interés, se pueden utilizar detectores espectrofotométricos UV-visible y de fotodiodos (PDA, del inglés *photodiode array detector*) [196,198,199], de fluorescencia [196,199], electroquímicos [196] y de espectrometría de masas [196,200] para analizar retinol, tocoferoles, carotenoides y sus isómeros. Se ha constatado que, carotenoides, tocoferoles y retinoides pueden ser identificados y cuantificados empleando detectores UV/PDA [196,198], mientras que retinoides y tocoferoles por fluorescencia [201], y carotenoides, retinoides y tocoferoles por detección electroquímica [196].

La principal limitación de la cromatografía HPLC es la falta de alta eficacia, especialmente cuando se compara con cromatografía de gases y electroforesis capilar. Esto se debe a los pequeños coeficientes de difusión de los analitos en la fase líquida, lo que deriva en una velocidad de difusión lenta en la fase estacionaria [202]. El uso de partículas más pequeñas, para acortar la trayectoria de difusión de los analitos, es un enfoque bien conocido para mejorar la eficiencia de separación. No obstante, en la práctica, el uso de partículas de menor tamaño es limitado por el incremento rápido de la presión. Los sistemas HPLC comerciales toleran una presión máxima de 400 bares,

I. INTRODUCCIÓN

impidiendo el uso de columnas cortas llenas de partículas de diámetro inferior a 2 μm [203].

Con la introducción de la cromatografía líquida rápida de alta eficacia (UHPLC, del inglés *Ultra-High Performance Liquid Chromatography*), proporcionando el flujo de eluyente a presiones de hasta 1000 bares, y la disponibilidad de columnas con partículas de 1.7-1.8 μm , capaces de tener una eficacia de hasta 80000 platos teóricos, se superan los límites de la tecnología HPLC [204].

3.4.2.2. Sistema UHPLC

Las mejoras en el rendimiento usando UHPLC han sido reportadas recientemente. Los componentes de este sistema incluyen módulos de fluidos de alta presión (bomba binaria), inyectores automáticos eficientes, caracterizados por ciclos de inyección rápida, bajos volúmenes de inyección, control de temperatura y detectores de alta velocidad, que han sido diseñados para lograr un mayor rendimiento [205,206].

Dicho sistema constituye un nuevo avance en rapidez, sensibilidad y alta resolución. Utiliza columnas de pequeño diámetro con fases estacionarias constituidas por estructuras especiales y con menor tamaño de partícula (1.7-1.8 μm). Estas partículas están diseñadas para resistir presiones elevadas de hasta 1000 bares, en contraste con la cromatografía líquida convencional que tolera un máximo de aproximadamente 400 bares [205,206]. Recientemente, se han diseñado fases estacionarias C18 para UHPLC que permiten separar diversos carotenoides, tocoferoles y retinol [191,195,207]. El uso de estas columnas produce una mayor velocidad de análisis sin perder eficiencia [204].

I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas UHPLC ofrecen diversos avances en relación a los HPLC convencionales, tales como análisis más rápidos (menores tiempos de retención), picos más estrechos (dando mayor relación de señal-ruido) y mayor sensibilidad [191]. Se ha descrito que, en comparación con los métodos por HPLC, la determinación simultánea de tocoferoles, retinol y carotenoides en suero, mediante el uso de UHPLC, permite la reducción de los volúmenes de muestra (a la mitad), de solventes de extracción (a la mitad) y de inyección (10 veces), así como de la tasa de flujo (3 veces), del tiempo de inyección (6 veces), del consumo de fase móvil (22 veces) y del tiempo total de análisis (casi 7 veces), con los consecuentes aumento del número de muestras inyectadas por día (6 veces) y descenso del costo (a la mitad) [208]. Así, se logra obtener mejor resolución, velocidad y sensibilidad [195].

En virtud de las propiedades enunciadas, se puede concluir que, la cromatografía líquida rápida de alta eficacia constituye una herramienta prometedora para el análisis simultáneo de vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides.

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento sobre la relación de los ácidos grasos y de las vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides plasmáticos con la obesidad en la etapa gestacional y la adolescencia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Desarrollar un método adecuado para la determinación simultánea de vitaminas A y E, licopeno y β -caroteno en plasma por cromatografía líquida rápida de alta eficacia.

Etapas gestacional

- 2) Determinar la composición de ácidos grasos de fosfolípidos plasmáticos de embarazadas con sobrepeso u obesidad durante el segundo y tercer trimestre de gestación y de los hijos al nacer.
- 3) Establecer la relación de la composición de ácidos grasos de fosfolípidos plasmáticos, de las madres y los hijos, con el estado nutricional y el incremento de peso total de las embarazadas.
- 4) Estudiar la asociación entre la composición de ácidos grasos de fosfolípidos plasmáticos, de madres e hijos, y los indicadores antropométricos de crecimiento fetal.

II. OBJETIVOS

Adolescencia

- 5) Analizar los cambios en la concentración plasmática de vitaminas liposolubles y carotenoides y en la composición plasmática de ácidos grasos de adolescentes con sobrepeso u obesidad sometidos a un tratamiento integral de adelgazamiento durante 6 meses.
- 6) Evaluar la relación de los cambios plasmáticos de la concentración de α -tocoferol, retinol, β -caroteno y licopeno, y de la composición de ácidos grasos con el perfil cardiometabólico y la adiposidad de los adolescentes durante la intervención.
- 7) Estudiar los cambios de la concentración de vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides y de la composición de ácidos grasos en función del grado de pérdida de peso de los adolescentes, a los 6 meses de tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. PROYECTO PREOBE

1.1. Participantes y diseño del estudio

Este estudio comprendió un total de 165 mujeres embarazadas, de 18 a 44 años de edad, y 162 recién nacidos, participantes en el proyecto PREOBE (Papel de la nutrición y la genética materna sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo fetal. *Búsqueda de marcadores de riesgo de obesidad en etapas precoces de la vida. Programación Precoz de la Obesidad*). Dicho proyecto es un estudio observacional que examina prospectivamente los efectos de la nutrición y la genética maternas sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo. La metodología completa y detallada del estudio PREOBE ha sido descrita anteriormente [209,210].

El reclutamiento y el seguimiento de las embarazadas fue realizado en el Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada, en el Hospital Materno Infantil de Granada y en los Centros de Salud adscritos a los mismos. Las mujeres fueron captadas a las 20 semanas de gestación y clasificadas de acuerdo a su estado nutricional pregestacional en tres grupos: obesas ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($25 \leq IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) y normopeso (grupo control, $18.5 \leq IMC < 25 \text{ kg/m}^2$). Las gestantes que presentaron un embarazo simple y sin complicaciones, sin otra patología más que el exceso de peso, fueron incluidas en el estudio, siendo excluidas aquellas que participaron en otras investigaciones, que recibían tratamiento farmacológico o que consumían drogas. El diseño del estudio se muestra en la Figura 13. Las revisiones y la toma de muestras, en

III. MATERIAL Y MÉTODOS

las madres, se realizaron a las 20, 24 y 34 semanas de gestación, en el parto y postparto (1 semana; 1, 3 y 6 meses), mientras que en los hijos fue al nacer, a la semana y a los 3, 6, 9, 12 y 18 meses de edad.

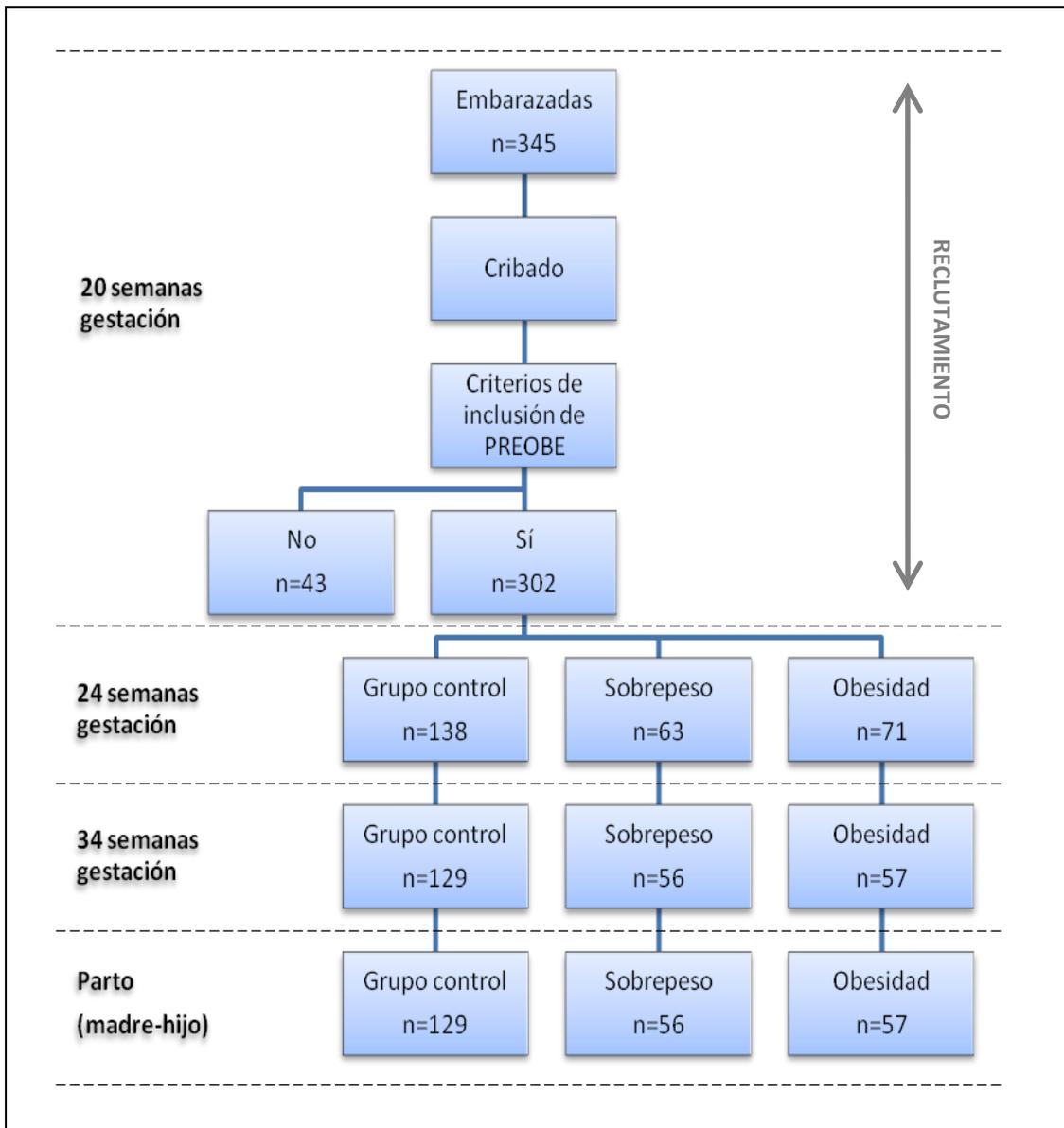


Figura 13. Diseño del proyecto PREOBE.

1.2. Metodología

Historia clínica

Se realizó una revisión médica general y una anamnesis de las pacientes, incluyendo los antecedentes médicos, intervenciones quirúrgicas anteriores, antecedentes familiares de enfermedad o fallecimiento, embarazos o abortos previos.

Ingesta dietética

La ingesta dietética fue evaluada por medio de encuestas dietéticas especialmente adaptadas para embarazadas, así como para las distintas etapas del primer año y medio de vida de sus hijos, que son elaboradas y supervisadas por especialistas en nutrición. A las 24 semanas de gestación, el registro diario de comidas fue efectuado durante 72 horas (2 días de la semana y 1 fin de semana). A las madres se les proporcionó información detallada sobre la forma de registrar los alimentos y bebidas consumidos. Con los datos recabados se analizaron el contenido de energía, agua y nutrientes en base a las tablas de composición de alimentos españolas del Centro de Enseñanza Superior de Nutrición y Dietética [211]

Actividad física y hábitos de vida

Se aplicaron diversos cuestionarios para conocer el nivel de actividad física y los hábitos de vida que presentan las voluntarias, antes y durante el embarazo.

Antropometría y composición corporal

Al inicio del estudio se procedió a la medición de la talla de la madre, mientras que el control del peso se realizó en cada una de las revisiones. Con éstos se calculó el IMC, que fue corregido mediante estudio ecográfico de la composición corporal. Además, se

III. MATERIAL Y MÉTODOS

realizó un seguimiento de la evolución de la somatometría fetal siguiendo los estándares y patrones establecidos por la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, de acuerdo a la metodología de Fanelli [212] y Perin [213]. Después del nacimiento, se obtuvieron los parámetros antropométricos de los niños: peso, talla y perímetro cefálico.

Muestras biológicas

En las madres se recogieron muestras de heces, orina, cordón umbilical, placenta, sangre, calostro y leche materna. Asimismo, se obtuvieron muestras de heces, saliva y mucosa oral de los hijos. Todas las determinaciones fueron sometidas a control interno y externo de calidad, de acuerdo a la normativa de cada uno de los centros participantes.

La sangre fue extraída por venopunción. Para la obtención de plasma y suero, ésta fue centrifugada (1750 g durante 15 minutos a 22-24 °C) y las alícuotas se conservaron a -80 °C hasta su análisis.

1.3. Aspectos éticos

El estudio fue dirigido de acuerdo con las normas éticas de la Declaración de Helsinki (revisión de Hong Kong, septiembre de 1989, en Edimburgo en el año 2000 y en Corea en 2008), siguiendo las pautas de Buenas Prácticas Clínicas de la Comunidad Económica Europea (documento 111/3976/88 de julio de 1990) y la actual ley española que regula la investigación clínica en humanos (Real Decreto 561/1993 referente a ensayos clínicos). También ha sido aprobado por los Comités de Ética del Hospital San Cecilio y la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada. Cabe

destacar que, antes de la inclusión en el estudio, se obtuvo un consentimiento informado escrito de todas las embarazadas.

2. PROGRAMA EVASYON

2.1. Participantes y diseño del estudio

El presente proyecto incluyó 127 adolescentes de 12 a 17 años de edad, diagnosticados con sobrepeso u obesidad. El reclutamiento y seguimiento de los mismos fue llevado a cabo en cuatro hospitales de diferentes ciudades de España (Granada, Madrid, Pamplona y Zaragoza). Los criterios de inclusión fueron: poseer sobrepeso u obesidad de acuerdo con los valores de IMC específicos para edad y sexo del *International Obesity Task Force* [214], ser español o haber sido educado en España, y estar libre de otras enfermedades. Los adolescentes con tratamiento farmacológico o diagnosticados con anorexia, bulimia u otros desórdenes alimentarios, excepto trastorno por atracón, fueron excluidos.

Todos los individuos seleccionados fueron tratados con el programa EVASYON (Desarrollo, aplicación y evaluación de la eficacia de un programa terapéutico para adolescentes con sobrepeso y obesidad: educación integral nutricional y de actividad física), el cual es un estudio de intervención en una cohorte de adolescentes con sobrepeso y obesidad. El mismo comprende un programa multidisciplinario a largo plazo, en el que participaron investigadores, pediatras, nutricionistas, psicólogos y educadores de actividad física, para tratar el exceso de peso de los adolescentes, de acuerdo con la estrategia NAOS liderada por el Ministerio de Sanidad y Consumo. La intervención comprendió dos etapas, una fase intensiva con controles semanales

III. MATERIAL Y MÉTODOS

durante los 2 primeros meses y otra extensiva, donde los adolescentes fueron monitoreados mensualmente hasta el final del programa. Para dicho fin se establecieron grupos de trabajo que estuvieron constituidos por 10 individuos. Las muestras y las mediciones correspondientes fueron efectuadas en diferentes momentos del tratamiento: antes del comienzo, a los 2 meses, a los 6 meses y al finalizar el mismo. El diseño del estudio se muestra en la Figura 14.

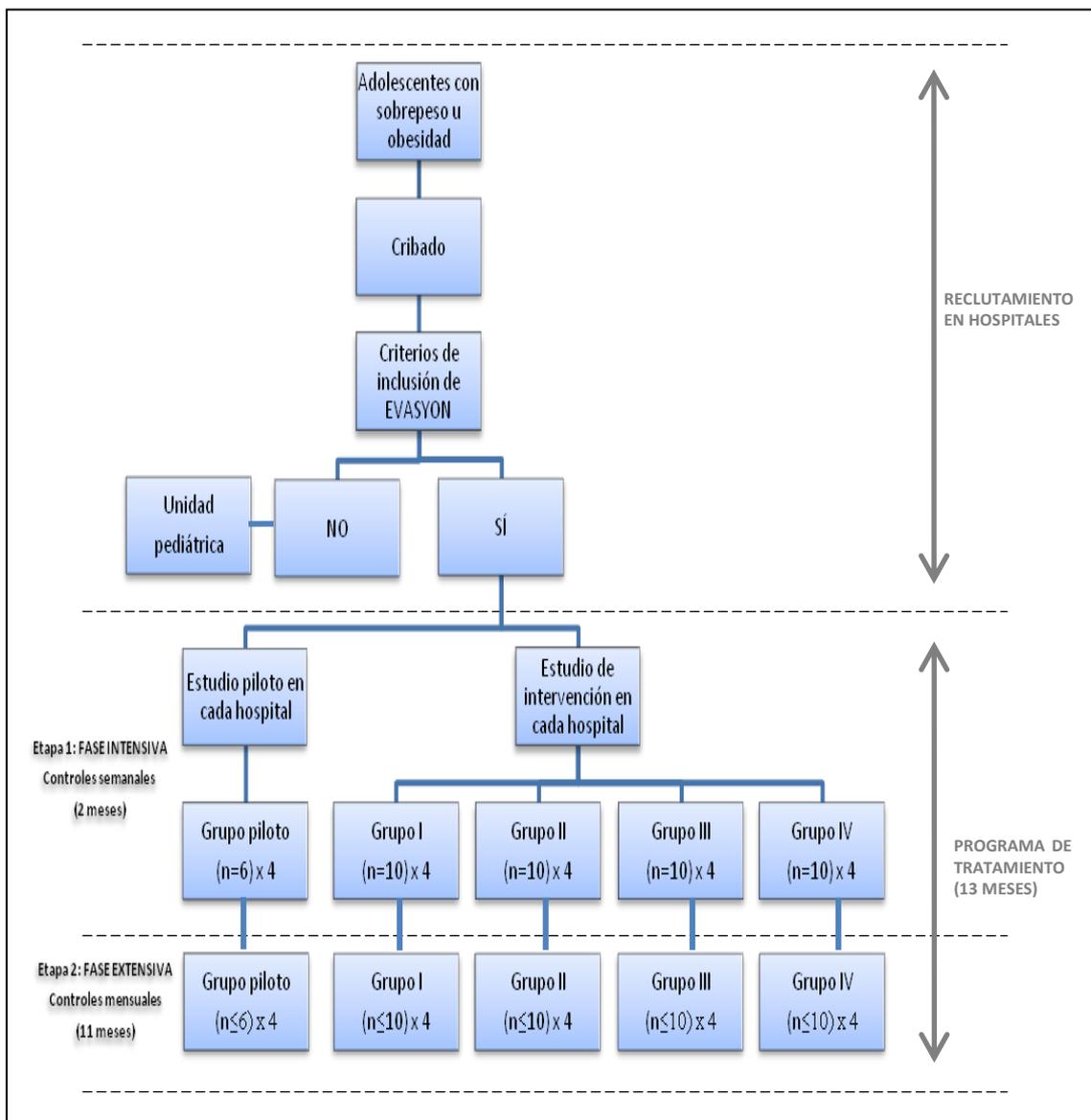


Figura 14. Diseño del estudio EVASYON.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

El plan terapéutico consistió en una dieta con restricción calórica del orden del 10 al 40% de energía, aumento de la actividad física (al menos 60 minutos/día, 5 veces a la semana), que correspondió a 15-23 Kcal/kg de peso corporal/semana, terapia psicológica y educación nutricional durante aproximadamente 13 meses. La ingesta máxima de energía de las chicas fue de 1800 Kcal/día y de los chicos 2200 Kcal/día. La distribución de macronutrientes, con respecto al valor calórico total, fue la siguiente: 50% de carbohidratos, 30% de lípidos y 20% de proteínas [215]. La metodología completa y detallada del estudio EVASYON ha sido descrita anteriormente [216,217].

2.2. Metodología

Ingesta dietética

La ingesta dietética fue evaluada antes de iniciar el tratamiento, al comienzo, a los 2 meses y al final del mismo, utilizando registro diario de comidas durante 72 horas (2 días de la semana y 1 fin de semana), así como un cuestionario de frecuencia de consumo semicuantitativo, previamente validado. Con la información recabada, a través de éstos, se determinaron el contenido de energía, agua y nutrientes en base a las tablas de composición de alimentos españolas del Centro de Enseñanza Superior de Nutrición y Dietética [211]. Los resultados de la ingesta de nutrientes fueron procesados con un programa de ordenador desarrollado específicamente para este objetivo.

Actividad física

La actividad física fue evaluada empleando diferentes métodos. Los participantes en el estudio llevaron un monitor de actividad ActiGraph GT1M (ActiGraph™, LLC, Fort

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Walton Beach, FL, EEUU), que es un acelerómetro uniaxial validado con niños y adolescentes [218]. También se utilizó la versión española adaptada del *Physical Activity Questionnaire for Adolescents* (PAQ-A) [219], así como otros cuestionarios para poder evaluar patrones y determinantes relacionados con la actividad física: comportamiento sedentario, grado de actividad física, influencia familiar, cambios de estrategia, autoeficacia y factores ambientales.

Composición corporal, desarrollo puberal y tensión arterial

El protocolo de antropometría usado en el estudio EVASYON fue idéntico al usado en el estudio AVENA, que fue estandarizado con más de 2000 adolescentes españoles [220]. Cada medida fue tomada tres veces. El peso corporal fue determinado sin zapatos y con ropa ligera usando una balanza de brazo estándar, y la talla con un tallímetro SECA 714 (60-200 cm). Los pliegues cutáneos (tricipital, bicipital, subescapular, suprailíaco, muslo y pantorrilla) fueron medidos del lado izquierdo del cuerpo con una precisión de 0.1 mm, usando un plicómetro (Caliper Holtain, Holtain Ltd., Waller, Reino Unido). Las circunferencias (brazo relajado y flexionado, cintura y cadera) fueron determinadas en centímetros con una cinta inextensible, estando de pie los adolescentes. La suma de los 6 pliegues cutáneos y la circunferencia de la cintura fueron empleados como indicadores de grasa corporal total y central, respectivamente.

El desarrollo puberal se evaluó de acuerdo a los 5 estadios de Tanner establecidos [221]. En el sexo femenino, cada estadio describe el desarrollo mamario y del vello púbico, y en los chicos el desarrollo del vello púbico y de los genitales.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

La tensión arterial fue evaluada mediante el uso de un monitor digital automático (Omron M6, Omron Health Care Co., Ltd., Kyoto, Japón) validado de acuerdo con el Protocolo Internacional de la Sociedad Europea de Hipertensión [222].

Evaluación psicológica y comportamiento alimentario

Ésta se efectuó por medio de la aplicación de diferentes cuestionarios. Para evaluar la autoestima se utilizó el *AF-5 Self-Concept Questionnaire*, que valora cinco aspectos personales: académico, social, emocional, familia y dimensiones físicas [223]. El *Anorectic Behaviour Observation Scale (ABOS)*, en el entorno clínico, es útil para la evaluación de pacientes con desórdenes alimentarios [224]. Otro instrumento empleado fue el *Eating Disorder Inventory (EDI-2)*, el cual se centra en las características cognitivas y conductuales encontradas en individuos con desórdenes alimentarios [225].

Muestras biológicas

Se recogieron muestras de sangre, orina y heces antes de comenzar el tratamiento, a los 2 meses, a los 6 y al final del mismo.

Análisis bioquímicos y metabólicos

La sangre fue extraída por venopunción después de un ayuno nocturno de aproximadamente 10 horas. Para la obtención de plasma y suero, ésta fue centrifugada (1750 g durante 15 minutos a 22-24 °C) y las alícuotas se conservaron a -80 °C hasta su análisis.

Colesterol total, HDL, TAG y glucosa fueron analizados usando un autoanalizador bioquímico Olympus AU2700 (Olympus, Melville, NY, EEUU). VLDL y LDL fueron

III. MATERIAL Y MÉTODOS

calculados a partir de la concentración existente de colesterol total, HDL y TAG [226]. Apolipoproteína B y A1 y PCR se determinaron por nefelometría, mediante el uso de un sistema Turbox (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandia), mientras que la insulina fue evaluada por inmunoensayo enzimático, utilizando un sistema Luminex-100 IS (sistema integrado: Luminex Corporation, Austin, TX, EEUU). También se estudiaron otros parámetros bioquímicos y metabólicos: LDL oxidadas, prealbúmina, homocisteína, hormona del crecimiento, grelina, leptina, adiponectina, interleucinas e inmunoglobulinas, entre otros.

2.3. Aspectos éticos

El estudio fue dirigido de acuerdo con las normas éticas de la Declaración de Helsinki (revisión de Hong Kong, septiembre de 1989, en Edimburgo en el año 2000 y en Corea en 2008), siguiendo las pautas de Buenas Prácticas Clínicas de la Comunidad Económica Europea (documento 111/3976/88 de julio de 1990) y la actual ley española que regula la investigación clínica en humanos (Real Decreto 561/1993 referente a ensayos clínicos). De todos los adolescentes y sus padres, se obtuvo consentimiento informado escrito, y el estudio fue aprobado por los comités de ética de cada hospital.

3. MUESTRAS

En el presente trabajo, se utilizaron muestras de plasma de cordón umbilical y de embarazadas con sobrepeso y obesidad, así como del grupo control de gestantes normopeso, correspondientes al proyecto PREOBE. Con éstas, se determinó la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos plasmáticos a las 24 y 34 semanas de gestación y al final del embarazo (parto), y de los hijos al nacer.

Por otra parte, se efectuó el análisis de muestras de plasma de adolescentes con sobrepeso y obesidad, sometidos a un tratamiento integral de adelgazamiento, pertenecientes al programa EVASYON. La concentración de vitaminas antioxidantes liposolubles y carotenoides, así como la proporción de ácidos grasos plasmáticos de los adolescentes, fueron determinadas en tres períodos diferentes: antes de comenzar el tratamiento (condiciones basales), a los 2 meses de intervención (fase intensiva) y a los 6 meses (fase extensiva).

4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

4.1. Determinación de ácidos grasos de fosfolípidos plasmáticos por cromatografía de gases

La determinación de ácidos grasos de fosfolípidos plasmáticos se basa en el método puesto a punto por nuestro grupo de investigación [227].

El procedimiento está constituido, básicamente, por una etapa de extracción de lípidos con diclorometano:metanol 2:1, seguida por la extracción en fase sólida de la fracción de fosfolípidos. Finalmente, se procede a la metilación de los ácidos grasos, en la cual se suceden la saponificación con metilato sódico y la esterificación con trifloruro de boro. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos, que se han formado, son extraídos con hexano y analizados por cromatografía de gases (GC, del inglés *gas chromatography*).

4.1.1. Reactivos y patrones

Metanol HPLC y sulfato de sodio anhidro fueron comprados de Scharlab (Sentmenat, España). Cloruro de sodio, dietil éter, 2-propanol, ácido acético, diclorometano y cloroformo de Panreac (Barcelona, España). n-Hexano de Merck (Darmstadt, Alemania). Solución de trifloruro de boro en metanol (14% p/v) y metilato sódico en metanol (0.5 M) de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU). Mezcla patrón de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, del inglés *fatty acids methyl esters*), FAME-37, y mezcla patrón de ésteres metílicos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, del inglés *polyunsaturated fatty acid*), PUFA-2 animal y 1,2 dipentadecanoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (PC-C15:0, patrón interno) de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Las soluciones estándar fueron preparadas disolviendo los patrones FAME-37 y PUFA-2 en n-hexano a una concentración de 1000 µg/mL. El patrón interno PC-C15:0 se preparó con el mismo disolvente, siendo la concentración de 400 µg/mL. Las soluciones fueron conservadas a -20 °C hasta su utilización.

4.1.2. Procedimiento experimental

Descongelar las muestras, conservadas en ultracongelador (-80°C), a temperatura ambiente y proceder a su homogeneización agitando en vórtex durante 30 segundos. Agregar 40 µL de una solución de patrón interno PC-C15:0 (0.4 µg/µL) y 300 µL de plasma a un tubo de ensayo. Extraer los lípidos con 3 mL de diclorometano:metanol (DCM:MeOH) 2:1 (v/v). Después de agitar durante 5 minutos, añadir 500 µL de una solución saturada de cloruro de sodio en agua, agitar y centrifugar durante 7 minutos a 3000 rpm y 25 °C. Trasvasar la fase orgánica a un tubo cónico y evaporar bajo atmósfera de nitrógeno hasta sequedad.

Reconstituir el residuo con 400 µL de cloroformo, agitar y trasvasar a una placa SPE DSC-NH₂ de extracción en fase sólida de 96 pocillos (NH₂, 100 mg por pocillo), activada previamente con 2 x 1 mL de hexano, después, con 2 mL de cloroformo/2-propanol 2:1 para eliminar los lípidos neutros, seguido por 1 ml de ácido acético 2% en éter etílico para eliminar los ácidos grasos libres, y finalmente con 1.5 mL de metanol para recoger la fracción de fosfolípidos.

Posteriormente, se procede a la metilación. Agregar 2 mL de metilato sódico (0.5 M) al tubo, agitar 30 segundos y calentar a 80 °C durante 10 minutos. Enfriar en baño de hielo, añadir 2 mL de trifloruro de boro al 14%, agitar durante 10 segundos y calentar a 80 °C durante 3 minutos. Enfriar nuevamente y extraer los FAME agregando 500 µL de

III. MATERIAL Y MÉTODOS

n-hexano, agitando durante 1 minuto, añadiendo 2 mL de una solución saturada de cloruro de sodio y centrifugando 10 minutos a 3000 rpm. Transferir la capa hexánica superior a un eppendorf, al que previamente se ha agregado sulfato sódico anhidro, y dejar reposar. Finalmente, trasvasar 300 μ L de la fase hexánica a un vial para inyector automático, evaporar hasta la sequedad bajo atmósfera de nitrógeno y redissolver con 50 μ L de n-hexano. Conservar los viales en un congelador a -32 $^{\circ}$ C hasta el momento de la inyección en cromatógrafo de gases.

4.1.3. Instrumentación y condiciones cromatográficas

- Equipo: Shimadzu GC-2010 (Kyoto, Japón) / detector de ionización de llama (FID, del inglés *flame ionization detector*)/ inyector *split-splitless*
- Columna Capilar SP-2560 de 75 m x 0.18 mm x 0.14 μ m
- Relación *split*: 1/50
- Volumen de inyección: 1 μ L
- Temperatura del inyector: 250 $^{\circ}$ C
- Temperatura del detector: 300 $^{\circ}$ C
- Presión inicial: 53 psi
- Gas portador: helio a velocidad lineal constante de 18.3 cm/s
- Programa de temperatura:
 - Temperatura inicial: 120 $^{\circ}$ C (0 min)
 - *Rate* de 15 $^{\circ}$ C/min hasta 180 $^{\circ}$ C (10 min)
 - *Rate* de 15 $^{\circ}$ C/min hasta la temperatura final de 240 $^{\circ}$ C (15 min)
- Tiempo de análisis: 33 minutos

4.1.4. Identificación y cuantificación

La identificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los fosfolípidos se realizó por comparación de sus tiempos de retención con aquellos de los estándares FAME-37 y PUFA-2. La cuantificación se realizó por normalización, expresando los resultados en cantidades relativas, es decir, porcentajes (% del total de ácidos grasos).

4.2. Determinación de ácidos grasos totales en plasma por cromatografía de gases

La determinación de ácidos grasos totales en plasma se basa en el método puesto a punto por nuestro grupo de investigación [228].

El proceso de metilación de los ácidos grasos plasmáticos comprende una etapa de saponificación con metilato sódico/metanol anhidro, en la cual los ácidos grasos del plasma pasan a estar en forma libre, seguida por la esterificación de los mismos con trifluoruro de boro/metanol. Así, se forman los ésteres metílicos de los ácidos grasos, que son extraídos con hexano y finalmente inyectados por GC.

4.2.1. Reactivos y patrones

Ester metílico del ácido tridecanoico (C13:0, usado como patrón interno), metilato sódico en metanol (0.5 M), solución de trifluoruro de boro en metanol (14% p/v) y sulfato de sodio anhidro fueron comprados de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU). Mezcla patrón de ésteres metílicos FAME-37 y mezcla patrón de ésteres metílicos PUFA-2 animal fueron de Supelco (Bellefonte, EEUU). n-Hexano de Merck (Darmstadt, Alemania) y cloruro de sodio de Panreac (Barcelona, España).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Las soluciones estándar fueron preparadas disolviendo los patrones FAME-37 y PUFA-2 en n-hexano, obteniendo una concentración de 1000 µg/mL. El patrón interno C13:0 también fue disuelto en n-hexano, siendo la concentración de 400 µg/mL. Las soluciones fueron almacenadas a -20 °C hasta su utilización.

4.2.2. Procedimiento experimental

Descongelar las muestras, conservadas en ultracongelador (-80°C), a temperatura ambiente y proceder a su homogeneización. Añadir 100 µL de plasma a un tubo de ensayo que contiene 20 µL de una solución de patrón interno C13:0 (0.4 µg/µL). Adicionar 1mL de metilato sódico 0.5 M, tapar el tubo y agitarlo durante 30 segundos, y calentar a una temperatura de 100 °C durante 10 minutos. Después de enfriar el tubo, las muestras son esterificadas con 1 mL de trifluoruro de boro al 14%. Agitar durante 30 segundos, cerrar el tubo y calentar a 100 °C durante 10 minutos. Cuando el tubo esté frío, extraer los esteres metílicos con 500 µL de n-hexano y agitar. Posteriormente, añadir 1 mL de solución saturada de NaCl y agitar durante 30 segundos. Centrifugar a 3000 rpm durante 7 minutos a temperatura ambiente. Trasvasar la fase hexánica a un eppendorf, al que previamente se ha añadido sulfato sódico anhidro y dejar reposar.

Finalmente, trasvasar la fase hexánica a un vial de inyección con inserto y encapsular. Conservar los viales en un congelador a -32 °C hasta el momento de la inyección en cromatógrafo de gases.

4.2.3. Instrumentación y condiciones cromatográficas

- Equipo: Shimadzu GC-2010 (Kyoto, Japón)/ detector de ionización de llama (FID, del inglés *flame ionization detector*)/ inyector *split-splitless*
- Columna Capilar Varian VF-23 ms de 10 m x 0.10 mm x 0.10 μm
- Relación *split*: 1/100
- Volumen de inyección: 1 μL
- Temperatura del inyector: 250 $^{\circ}\text{C}$
- Temperatura del detector: 300 $^{\circ}\text{C}$
- Presión inicial: 81.3 psi
- Gas portador: helio a velocidad lineal constante de 59.4 cm/s
- Programa de temperatura:
 - Temperatura inicial: 120 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)
 - *Rate* de 35 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 175 $^{\circ}\text{C}$ (0.5 min)
 - *Rate* de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta la temperatura final de 250 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)
- Tiempo de análisis: 6 minutos

4.2.4. Identificación y cuantificación

La identificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los fosfolípidos se realizó por comparación de sus tiempos de retención con aquellos de los estándares FAME-37 y PUFA-2. La cuantificación se realizó por normalización, expresando los resultados en cantidades relativas, es decir, porcentajes (% del total de ácidos grasos).

4.3. Determinación de vitaminas A y E, β -caroteno y licopeno en plasma por UHPLC

La determinación de retinol, α -tocoferol, β -caroteno y licopeno en plasma se basa en el método puesto a punto por nuestro grupo de investigación [229].

Una alícuota de plasma se desproteiniza con etanol, que contiene acetato de α -tocoferol y acetato de retinol como estándares internos, y, a continuación, los analitos se extraen con hexano. La fase orgánica se evapora a sequedad bajo una corriente de nitrógeno y el residuo se redisuelve en una solución de DCM:MeOH 2:1 para ser analizado en UHPLC.

4.3.1. Reactivos y patrones

Retinol, acetato de retinol (usado como patrón interno), α -tocoferol, γ -tocoferol, acetato de α -tocoferol (empleado como patrón interno), β -caroteno y licopeno fueron comprados de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU). Sueros patrones de calibración y sueros control de dos niveles para vitaminas A y E y β -caroteno de Chromsystems (Munich, Alemania). Metanol HPLC y n-hexano HPLC de Scharlab (Sentmenat, España). Etanol absoluto HPLC y diclorometano estabilizado con 20 ppm de amileno HPLC de Panreac (Barcelona, España).

Las soluciones madre estándar de retinol, acetato de retinol, α -tocoferol, γ -tocoferol y acetato de α -tocoferol fueron preparadas en etanol, mientras que las soluciones de β -caroteno y licopeno lo fueron en DCM:MeOH 2:1. Los rangos de concentración empleados en la calibración fueron 5-150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para α -tocoferol y 0.1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para

III. MATERIAL Y MÉTODOS

retinol, γ -tocoferol, β -caroteno y licopeno. Las soluciones fueron conservadas a $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$ en viales topacio hasta su utilización.

4.3.2. Procedimiento experimental

La determinación de las vitaminas liposolubles y carotenoides se debe llevar a cabo en ausencia de luz ultravioleta, por lo que, la manipulación de las muestras se realiza en una habitación oscura.

Descongelar las muestras de plasma, conservadas en ultracongelador ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$), a temperatura ambiente y homogeneizar agitando en vórtex durante 30 segundos. Añadir $300\text{ }\mu\text{L}$ de plasma y $500\text{ }\mu\text{L}$ de etanol conteniendo una mezcla de patrones internos (acetato de retinol $0.6\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ y acetato de α -tocoferol $17\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$) a cada tubo de polipropileno y agitar durante 30 segundos. A continuación, extraer 2 veces con 1 mL de n-hexano, agitando 1 minuto y centrifugando a 4000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente. Pasar la fase orgánica obtenida por un filtro Acrodisc de 13 mm con membrana GHP de $0.2\text{ }\mu\text{m}$ sobre tubos cónicos de vidrio. Evaporar hasta sequedad bajo atmósfera de nitrógeno a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reconstituir el residuo con $50\text{ }\mu\text{L}$ de una solución de DCM:MeOH 2:1 y agitar durante 15 segundos. Trasvasar a viales topacio e inyectar en UHPLC o conservar a $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su inyección.

4.3.3. Instrumentación y condiciones cromatográficas

- Equipo UPLC ACQUITY WATERS formado por:
 - 2 bombas binarias de alta presión (Binary Solvent Manager, BSM).
 - Detector de fotodiodos (PDA-2996).
 - Inyector automático (Sampler Manager, SM).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

- Columna Acquity UPLC BEH C18 (50 x 2.1 mm I.D., 1.7 μm tamaño de partícula) con precolumna Van Guard Pre-Column 5 X 2.1 mm ACQUITY UPLC BEH C18, 1.7 μm y prefiltro *online* de 0.20 μm de poro.

- Volumen de inyección: 3 μl
- Duración de la inyección: 3 min
- Temperatura de la columna: 30 $^{\circ}\text{C}$
- Temperatura del inyector automático: 10 $^{\circ}\text{C}$
- Flujo: 0.6 ml/min
- Fase móvil isocrática: metanol HPLC 100%, filtrado con filtro 0.20 μm
- Detección:
 - Retinol: $\lambda = 325 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)
 - Acetato de retinol: $\lambda = 325 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)
 - α -tocoferol: $\lambda = 292 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)
 - γ -tocoferol: $\lambda = 292 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)
 - Acetato de α -tocoferol: $\lambda = 292 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)
 - β - caroteno: $\lambda = 450 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)
 - Licopeno: $\lambda = 450 \text{ nm}$ (*Bandwidth 20.0, Sampling Rate 20.0.*)

4.3.4. Identificación y cuantificación

Una vez inyectadas las muestras en el UPLC, se procede a la identificación de α -tocoferol, γ -tocoferol, retinol, licopeno y β -caroteno, utilizando los tiempos de retención de los patrones. Para la cuantificación, por el método de patrón interno, se

elaboraron curvas de calibrado empleando la relación de áreas de los picos (analito/patrón interno) en función de la concentración del analito correspondiente.

5. ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

En la presente tesis, se ha empleado la relación producto/sustrato de ácidos grasos para estimar la actividad de ciertas enzimas involucradas en el metabolismo de éstos. Estudios previos han determinado la actividad de elongasas [150] y desaturasas [136,150], empleando dicha relación. De esta manera, los siguientes índices permitieron estimar la actividad de SCD-1, D6D, D5D y Elovl6: $SCD-16 = 16:1n-7/16:0$, $SCD-18 = C18:1n-9/C18:0$, $D6D = C18:3n-6/C18:2n-6$, $D5D = C20:4n-6/C20:3n-6$ y $Elovl6 = C18:0/C16:0$.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron procesados con el paquete estadístico SPSS, versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2011). Los resultados han sido expresados como medias \pm desviación estándar (DE) o error estándar de la media (SEM, del inglés *standard error of the mean*) para las variables cuantitativas, en porcentajes para las variables cualitativas, y, en el caso de las asociaciones entre variables, como coeficientes de regresión estandarizados. Para todos los análisis, la significación bilateral se determinó en una $P < 0.05$.

La normalidad de las variables fue establecida a través de la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov. En la población de embarazadas, las variables que no tuvieron distribución normal fueron transformadas mediante la aplicación de logaritmo natural. En los adolescentes esto no fue posible debido a la existencia de valores negativos en los resultados. En este caso, los test empleados fueron cotejados con las pruebas no paramétricas análogas.

Las características de las gestantes y los hijos fueron analizadas aplicando la prueba Chi cuadrado a las variables cualitativas y ANOVA, ajustado por Bonferroni, a las cuantitativas. Las diferencias entre los grupos (normal, sobrepeso y obesidad) de madres y entre los grupos de hijos se determinaron utilizando este último, mientras que la comparación madre-hijo se efectuó empleando modelos lineales generales también ajustados por Bonferroni.

La evolución de los parámetros clínicos y bioquímicos, de α -tocoferol, retinol, licopeno, β -caroteno y de los ácidos grasos plasmáticos, así como de la actividad enzimática

III. MATERIAL Y MÉTODOS

estimada, a lo largo del tratamiento de los adolescentes o del embarazo, fue analizada empleando modelos lineales generales para medidas repetidas, aplicando la corrección *post hoc* de Bonferroni. En las variables sin distribución normal, los resultados fueron verificados con el test no paramétrico de Wilcoxon.

A fin de establecer la relación entre los cambios de vitaminas, carotenoides, ácidos grasos y actividad enzimática estimada (variables independientes), y los cambios de los indicadores antropométricos de adiposidad, tensión arterial y parámetros bioquímicos (variables dependientes), a los 2 y 6 meses de intervención, se utilizaron modelos de regresión lineal. Dicho análisis fue llevado a cabo sin ajustar y ajustado por edad, sexo, puntuación de desviación estándar del IMC (PDE-IMC) y estadios de Tanner en condiciones basales, grado de actividad física e ingesta energética en los tiempos correspondientes. De igual manera, en las gestantes, se empleó la citada prueba estadística para establecer las asociaciones entre la proporción de los ácidos grasos plasmáticos de madres e hijos y el IMC, el incremento de peso y los indicadores antropométricos de crecimiento fetal.

También se aplicaron modelos lineales generales, corregidos por Bonferroni, para examinar la asociación del grado de pérdida de peso con los cambios de adiposidad y del perfil cardiometabólico de los adolescentes. Así, se determinaron las diferencias entre los tres grupos de pérdida de peso, en lo que respecta a los cambios en los parámetros clínicos y bioquímicos, en las vitaminas, carotenoides y ácidos grasos plasmáticos y en la actividad estimada de elongasas y desaturasas. Este análisis fue llevado a cabo con los datos en crudo y controlando por factores confusores potenciales (edad, sexo, PDE-IMC, estadios de Tanner y las variables correspondientes

III. MATERIAL Y MÉTODOS

en condiciones basales, grado de actividad física e ingesta energética). Además, se verificó si los cambios ocurridos en los parámetros estudiados, entre las condiciones basales y los 6 meses de tratamiento, fueron significativos dentro de cada grupo de pérdida de peso. Para dicho fin, se utilizaron las medias marginales estimadas. Los modelos lineales generales también fueron aplicados en la población de embarazadas para identificar las diferencias en la proporción de ácidos grasos de madres e hijos entre los distintos grupos de incremento de peso y entre recién nacidos macrosómicos y normales.

RESULTADOS

IV. RESULTADOS

1. MÉTODO UHPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES Y CAROTENOIDES

En la Figura 15 se presentan los cromatogramas de la mezcla de los patrones (A) y de una muestra de plasma humano (B) obtenidos con el método puesto a punto. Bajo las condiciones optimizadas de UHPLC, se observa la determinación simultáneamente, a tres longitudes de onda, de cada una de las vitaminas, retinol (tiempo de retención=0.37 min, λ =320 nm) y α -tocoferol (TR=0.70 min, λ =292 nm), y de los carotenoides, licopeno (TR=1.85 min, λ =450 nm) y β -caroteno (TR=2.30 min, λ =450 nm), con los patrones internos, acetato de retinol (TR=0.44 min, λ =320 nm) y acetato de α -tocoferol (TR=0.83 min, λ =292 nm). El tiempo total de análisis fue de tan sólo 3 minutos.

Para la validación de dicho método, se determinaron la linealidad, los límites de detección y cuantificación, la precisión y la exactitud.

Linealidad

La linealidad de un método analítico consiste en la preparación e inyección de soluciones patrón de concentración creciente dentro de un intervalo amplio, que cubra del 50 al 150% del rango de trabajo esperado del ensayo. La respuesta, en este caso, las áreas, debe ser lineal en relación a las concentraciones de patrones, es decir, que el coeficiente de determinación sea próximo a 1.

IV. RESULTADOS

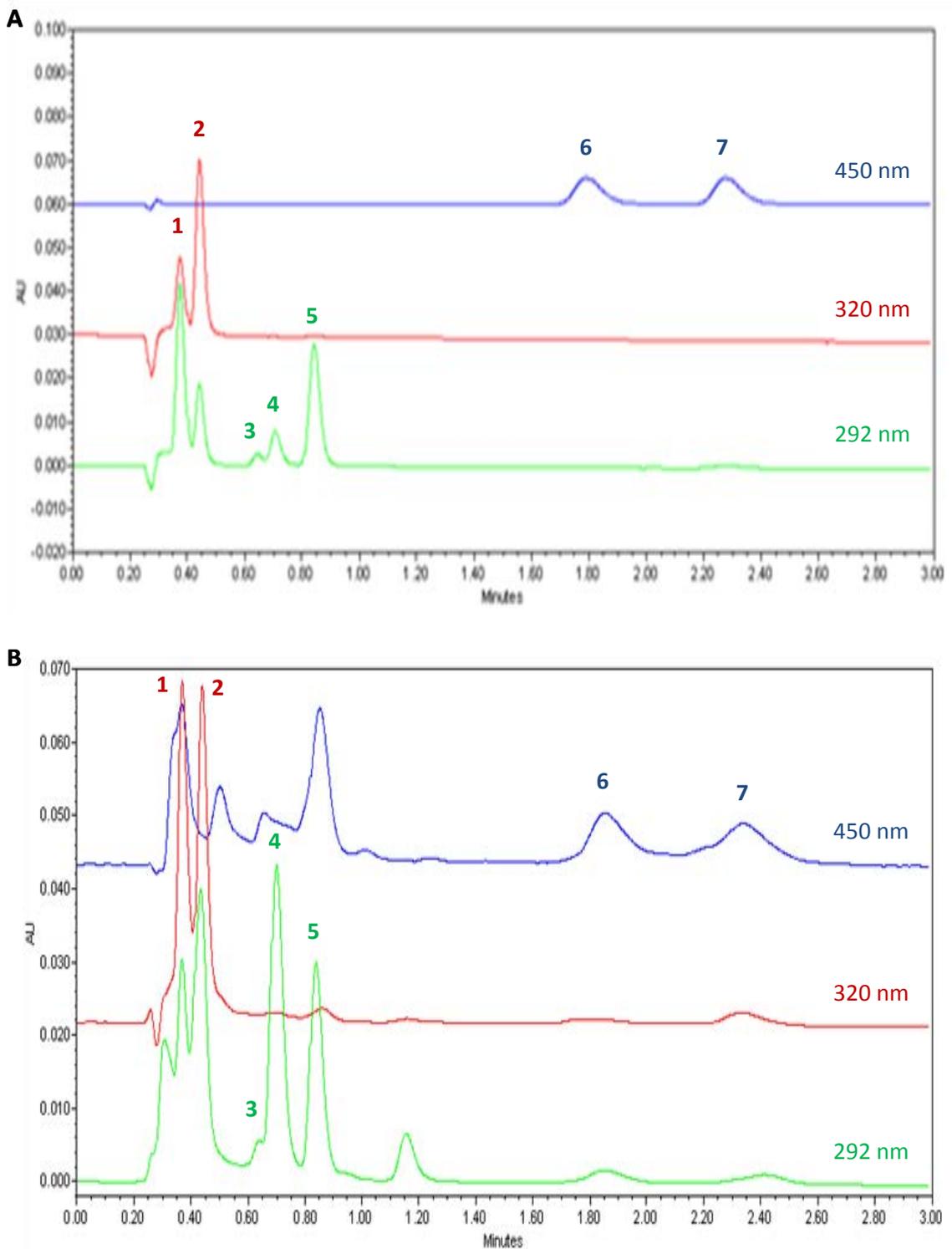


Figura 15. Cromatogramas de patrones (A) y de muestra de plasma (B) de vitaminas A, E y carotenoides.

Pico 1: retinol (tiempo de retención: 0.37 minutos), pico 2: acetato de retinol (0.44 min), pico 3: γ -tocoferol (0.63 min), pico 4: α -tocoferol (0.70 min), pico 5: acetato de α -tocoferol (0.83 min), pico 6: licopeno (1.85 min) y pico 7: β -caroteno (2.30 min).

IV. RESULTADOS

Los rangos de concentración empleados fueron 5-150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para α -tocoferol y 0.1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para retinol, γ -tocoferol y carotenoides. La concentración de las soluciones madre se determinaron por espectrofotometría, empleando el valor de absorbancia obtenido y el coeficiente de extinción específico, correspondiente al disolvente utilizado en la medición. Como se observa en la Tabla 3, los coeficientes de correlación, para todas las rectas de calibrado, oscilaron entre 0.9994 y 1.

Sensibilidad

El *límite de detección* (LOD, del inglés *limits of detection*) expresa la menor concentración de analito que puede ser detectada en una muestra, pero sin que sea posible cuantificarla, es decir, que la señal debe ser significativamente distinta del ruido de fondo. En la práctica, es habitual aceptar como límite de detección en las medidas instrumentales la concentración de analito que proporciona una señal superior a tres veces la DE del ruido de fondo.

El *límite de cuantificación* (LOQ, del inglés *limits of quantification*) indica la concentración mínima de analito que se puede determinar con un nivel de precisión y de exactitud aceptable, por lo general, la concentración que proporciona una señal 10 veces superior a la DE del ruido de fondo.

LOD y LOQ fueron calculados de acuerdo al criterio de *The United States Pharmacopeia* (USP) [230]. Así, se analizaron 10 blancos y se calculó la desviación estándar de la respuesta de fondo, la cual fue multiplicada por 3 y por 10, proporcionando una estimación de LOD y LOQ, respectivamente.

IV. RESULTADOS

Como puede observarse en la Tabla 3, los límites de detección y cuantificación encontrados fueron: 29 ng/mL y 99 ng/mL, respectivamente, para el α -tocoferol, 45 ng/mL y 152 ng/mL para γ -tocoferol, 1.6 ng/mL y 5.2 ng/mL para el retinol, 1.8 ng/mL y 6.1 ng/mL para el β -caroteno, y 2.2 ng/mL y 7.3 ng/mL para el licopeno.

Precisión

La precisión expresa el grado de concordancia que existe entre un conjunto de resultados, obtenidos al llevar a cabo la determinación de un analito de una determinada forma, varias veces, mediante la aplicación del mismo método. Suele expresarse en términos de desviación estándar relativa o coeficiente de variación.

Para dicho fin, se prepararon y extrajeron 20 muestras de plasma (10 en el primer día y 10 al día siguiente), provenientes del mismo *pool*, y se determinaron con el método cromatográfico establecido, inyectándolas consecutivamente. Los resultados de la repetitividad (muestras analizadas bajo idénticas condiciones operativas) oscilaron entre 1.04 y 4.62%, mientras que la reproducibilidad (muestras analizadas bajo diferentes condiciones operativas, en este caso, en días distintos) comprendió valores de 1.89 a 6.96% (ver Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros de la validación del método de cromatografía líquida rápida de alta eficacia (UHPLC) para la determinación de vitaminas antioxidantes liposolubles y carotenoides.

Metabolitos	Repetitividad		Reproducibilidad		Linealidad		LOD	LOQ	Recuperación
	Medias ± DE	CV (%)	Medias ± DE	CV (%)	Ecuación	r ²	(ng/mL)	(ng/mL)	(%)
γ-tocoferol	1.76 ± 0.03	1.78	1.69 ± 0.07	3.95	y = 0,0154x - 0,0008	0.9994	45	152	92
α-tocoferol	18.87 ± 0.20	1.04	18.98 ± 0.36	1.89	y = 0.0196x+0.0166	0.9999	29	99	103
Retinol	0.62 ± 0.01	1.89	0.61± 0.03	4.28	y = 0.2559x-0.0105	1	1.6	5.2	97
Lycopeno	0.15 ± 0.01	4.22	0.15± 0.01	6.96	y = 0.4508x+0.006	0.9998	2.2	7,3	92
β-caroteno	0.09 ± 0.00	4.62	0.08± 0.01	6.12	y = 0.5581x+0.007	0.9999	1.8	6.1	91

CV, coeficientes de variación; LOD, límites de detección; LOQ, límites de cuantificación. Repetitividad, µg/mL, n=10; reproducibilidad, µg/mL, n=20.

IV. RESULTADOS

Exactitud

La exactitud del método fue determinada tanto en términos de recuperación en muestras de plasma adicionadas con una cantidad conocida del analito, correspondientes al 25, 50 y 75% de las concentraciones normales descritas en la bibliografía, como con sueros de referencia (Vitamin A and E Serum Control Bi-level I +II, Vitamins A/E Serum Calibration Standard, β -Carotene Serum Control Bi-level I +II, β -Carotene Serum Calibration Standard) obtenidos de Chromsystems (Munich, Alemania). Así, los resultados obtenidos, correspondieron a 103% de recuperación para el α -tocoferol, 92% para γ -tocoferol, 97% para el retinol, mientras que para β -caroteno y licopeno fueron 91 y 92%, respectivamente (Tabla 3).

2. ETAPA GESTACIONAL

2.1. Características de las gestantes y de los recién nacidos

Las características de las embarazadas son presentadas en la Tabla 4, clasificadas de acuerdo al estado nutricional pregestacional (normal, sobrepeso y obesidad). La media de edad fue de 30.61 ± 4.44 años, siendo mayores las madres del grupo control y las que presentaron sobrepeso ($P=0.007$). No se observaron diferencias significativas entre las embarazadas en lo que respecta a paridad, talla, antecedentes de macrosomía o hábito tabáquico. Sin embargo, el nivel educativo de las madres con un estado nutricional normal fue mayor que el de las madres con sobrepeso u obesas y el de las embarazadas con sobrepeso fue mayor que el de las obesas ($P=0.023$). Las medias de peso e IMC pregestacional fueron 68.22 ± 13.35 kg y 25.60 ± 4.85 kg/m², respectivamente. Al comparar los grupos, se observó que ambos resultaron menores en las madres normopeso que en las embarazadas obesas o con sobrepeso ($P<0.001$). El incremento de peso durante el embarazo fue de 11.22 ± 6.31 kg, siendo mayor en las gestantes normopeso que en las obesas ($P=0.001$). Por otra parte, el peso de la placenta de las madres con un estado nutricional normal fue de 477.04 ± 115.88 g, siendo 524.24 ± 126.74 g para las que presentaron sobrepeso y 563.93 ± 125.80 g para las que eran obesas. Así, dicho parámetro fue mayor en las mujeres con obesidad que en el grupo control ($P=0.003$).

Tabla 4. Características de las embarazadas según el estado nutricional pregestacional.

PARÁMETROS	N	Población global (n = 166)	N	Normal (n = 90)	N	Sobrepeso (n = 40)	N	Obesidad (n = 36)	P
Edad (años)	165	30.61 ± 4.44	89	30.84 ± 4.28 ^a	40	31.80 ± 4.40 ^a	36	28.72 ± 4.39 ^b	0.007 ¹
Paridad (%)	164		88		40		36		0.182 ²
0		47.60		52.30		50.00		33.30	
1		44.50		42.00		37.50		58.30	
2		6.10		3.40		12.50		5.60	
3		1.80		2.30				2.80	
Nivel educativo (%)	163		87	^a	40	^b	36	^c	0.023 ²
Primaria		14.70		12.60		20.00		13.90	
Secundaria		18.40		18.40		20.00		16.70	
Técnico		23.90		17.20		17.50		47.20	
Universidad		39.30		46.00		40.00		22.20	
Doctorado		3.70		5.70		2.50		0.00	
Talla (m)	166	1.63 ± 0.06	90	1.64 ± 0.06	40	1.63 ± 0.06	36	1.63 ± 0.06	0.502 ¹
Peso pregestacional (kg)	166	68.22 ± 13.35	90	58.76 ± 6.01 ^a	40	72.22 ± 5.99 ^b	36	87.40 ± 9.01 ^c	0.000 ¹
IMC pregestacional (kg/m ²)	166	25.60 ± 4.85	90	21.91 ± 1.79 ^a	40	27.33 ± 1.38 ^b	36	32.93 ± 2.63 ^c	0.000 ¹
Incremento de peso (kg)	117	11.22 ± 6.31	67	12.94 ± 5.98 ^a	29	10.04 ± 4.96 ^{a,b}	21	7.34 ± 7.14 ^b	0.001 ¹
Peso placenta (g)	142	505.14 ± 124.58	81	477.04 ± 115.88 ^a	33	524.24 ± 126.74 ^{a,b}	28	563.93 ± 125.80 ^b	0.003 ¹
Antecedente macrosomía(%)	150	2.00	84	1.20	36	2.80	30	3.30	0.717 ²
Fuma durante embarazo (%)	148	14.20	82	12.20	36	22.20	30	10.00	0.271 ²

Valores expresados en medias ± DE (variables cuantitativas) y % (variables cualitativas). Diferencia estadísticamente significativa: las medias con distinta letra superíndice son significativamente diferentes (¹ANOVA ajustado por Bonferroni y ²Chi cuadrado), P<0.05. IMC, índice de masa corporal; RN, recién nacido; PN, peso al nacer; EG, edad gestacional; PEG, pequeño para la edad gestacional; AEG, adecuado para la edad gestacional; GEG, grande para la edad gestacional.

IV. RESULTADOS

Con respecto a los hijos, en la Tabla 5 se presentan las características de los recién nacidos en función del estado nutricional pregestacional de las madres. El 53.7% de los neonatos eran de sexo masculino, siendo la proporción similar, tanto para los hijos de embarazadas normopeso como para los nacidos de madres con sobrepeso u obesidad. Las medias de edad gestacional, peso, longitud y perímetro cefálico fueron 39.55 ± 1.26 semanas, 3340.00 ± 444.89 g, 50.62 ± 1.92 cm y 34.50 ± 1.36 cm, respectivamente, sin haber observado diferencias estadísticamente significativas entre grupos. De acuerdo a la edad gestacional, los recién nacidos fueron clasificados como pretérmino (<37 semanas), término (37-42 semanas) y postérmino (>42 semanas), sin observar diferencias significativas entre grupos. Tampoco se observó diferencias significativas en la cantidad de niños nacidos con bajo peso (<2500 g), PEG o GEG (clasificación de Lubchenco [231]). No obstante, las embarazadas con exceso de peso tuvieron un porcentaje mayor de hijos macrosómicos (>4000 g) que las gestantes con un estado nutricional normal ($P=0.041$).

Tabla 5. Características de los recién nacidos según el estado nutricional pregestacional de las madres.

PARÁMETROS	N	Población global (n = 163)	N	Normal (n = 90)	N	Sobrepeso (n = 40)	N	Obesidad (n = 33)	P
Sexo (masculino, %)	162	53.70	89	53.90	40	47.50	33	60.60	0.534 ¹
Edad gestacional (semanas)	159	39.55 ± 1.26	89	39.46 ± 1.23	38	39.74 ± 1.00	32	39.56 ± 1.58	0.527 ²
Peso (g)	163	3340.00 ± 444.89	90	3275.22 ± 393.14	40	3371.25 ± 440.08	33	3478.79 ± 550.64	0.069 ²
Longitud (cm)	135	50.62 ± 1.92	73	50.42 ± 1.83	36	50.67 ± 1.45	26	51.10 ± 2.63	0.303 ²
Perímetro cefálico (cm)	113	34.50 ± 1.36	61	34.54 ± 1.28	29	34.57 ± 1.19	23	34.30 ± 1.73	0.742 ²
Tipo de RN según EG (%)	159		89		38		32		0.247 ¹
Pretérmino		1.90		1.10		0.00		6.30	
Término		96.20		96.60		100.00		90.60	
Postérmino		1.90		2.20		0.00		3.10	
Clasificación del PN (%)	163		90		40		33		0.064 ¹
Bajo peso		1.80		3.30		0.00		0.00	
Normal		88.30		92.20		85.00		81.80	
Macrosómico		9.80		4.40 ^a		15.00 ^b		18.20 ^b	0.041¹
Peso/EG (%)	159		89		38		32		0.272 ¹
PEG		1.30		1.10		2.60		0.00	
AEG		81.80		86.50		78.90		71.90	
GEG		17.00		12.20		18.40		28.10	

Valores expresados en medias ± DE (variables cuantitativas) y % (variables cualitativas). Diferencia estadísticamente significativa: las medias con distinta letra superíndice son significativamente diferentes (¹Chi cuadrado y ²ANOVA ajustado por Bonferroni), $P < 0.05$. IMC, índice de masa corporal; RN, recién nacido; PN, peso al nacer; EG, edad gestacional; PEG, pequeño para la edad gestacional; AEG, adecuado para la edad gestacional; GEG, grande para la edad gestacional.

2.2. Ácidos grasos en la etapa gestacional

En la Tabla 6 se muestran los cambios ocurridos en la composición plasmática de ácidos grasos de las madres a las 24 y 34 semanas de gestación y el parto. En los AGS se observó que la proporción de ácido palmítico aumentó ($P<0.001$) y el C20:0 descendió ($P<0.001$) a las 34 semanas, manteniendo los valores hasta el final de la gestación. Los ácidos C17:0 ($P<0.05$) y esteárico ($P<0.01$) disminuyeron significativamente a lo largo del embarazo.

En los AGMI se observó un aumento significativo del ácido oleico ($P=0.012$) y una reducción significativa del C20:1 n-9 a las 34 semanas ($P=0.001$), permaneciendo constantes hasta el parto. En cambio, el ácido palmitoleico experimentó un incremento significativo al final del embarazo ($P<0.001$).

Con respecto a los AGPI, LA experimentó un descenso significativo al final de la gestación ($P=0.001$). Los ácidos C20:2 n-6 ($P<0.001$), C20:3 n-6 ($P=0.005$) y C22:4 n-6 ($P=0.001$) disminuyeron significativamente a las 34 semanas de gestación, manteniéndose el primero igual hasta el parto, mientras que C20:3 n-6 y C22:4 n-6 recuperaron los valores iniciales. El ácido araquidónico descendió significativamente a las 34 semanas ($P<0.001$). Por su parte, C20:3 n-9 ($P=0.009$) y C22:5 n-6 ($P<0.001$) sufrieron un incremento al final del embarazo. En lo que respecta a los AGPI n-3 se ha constatado una reducción significativa de ALA al momento del parto ($P<0.05$), sin haber detectado cambios en EPA, C22:5 o DHA.

IV. RESULTADOS

Tabla 6. Evolución en la composición plasmática de ácidos grasos de las madres durante el embarazo.

ÁCIDOS GRASOS (%)	24 semanas (n=111)	34 semanas (n=108)	Parto (n=102)
AGS			
C14:0	0.30 ± 0.07 ^a	0.28 ± 0.07 ^a	0.28 ± 0.07 ^a
C16:0	31.56 ± 1.70 ^a	32.65 ± 1.95 ^b	33.11 ± 1.82 ^b
C17:0	0.34 ± 0.07 ^a	0.31 ± 0.07 ^b	0.30 ± 0.05 ^c
C18:0	10.66 ± 1.09 ^a	10.10 ± 1.09 ^b	9.76 ± 1.29 ^c
C20:0	0.06 ± 0.02 ^a	0.05 ± 0.02 ^b	0.05 ± 0.02 ^b
AGMI			
C16:1 n-7	0.51 ± 0.16 ^a	0.52 ± 0.14 ^a	0.62 ± 0.20 ^b
C18:1 n9	11.82 ± 1.86 ^a	12.36 ± 2.12 ^b	12.67 ± 2.09 ^b
C20:1 n-9	0.21 ± 0.06 ^a	0.19 ± 0.05 ^b	0.19 ± 0.05 ^b
AGPI n-9			
C20:3 n-9	0.23 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.06 ^a	0.24 ± 0.06 ^b
AGPI n-6			
C18:2 n-6	23.71 ± 2.37 ^a	23.75 ± 2.69 ^a	22.83 ± 3.08 ^b
C20:2 n-6	0.48 ± 0.10 ^a	0.43 ± 0.10 ^b	0.42 ± 0.09 ^b
C20:3 n-6	3.79 ± 0.88 ^a	3.58 ± 0.75 ^b	3.82 ± 0.77 ^a
C20:4 n-6	9.79 ± 1.64 ^a	9.16 ± 1.58 ^b	9.48 ± 2.06 ^{a,b}
C22:4 n-6	0.40 ± 0.11 ^a	0.35 ± 0.08 ^b	0.41 ± 0.14 ^a
C22:5 n-6	0.48 ± 0.16 ^a	0.48 ± 0.15 ^a	0.55 ± 0.18 ^b
AGPI n-3			
C18:3 n-3	0.13 ± 0.05 ^a	0.12 ± 0.04 ^{a,b}	0.12 ± 0.05 ^b
C20:5 n-3	0.31 ± 0.18 ^a	0.30 ± 0.20 ^a	0.27 ± 0.13 ^a
C22:5 n-3	0.40 ± 0.10 ^a	0.38 ± 0.10 ^a	0.39 ± 0.11 ^a
C22:6 n3	4.38 ± 1.08 ^a	4.32 ± 1.03 ^a	4.21 ± 0.98 ^a

Resultados expresados en medias ± DE. Las medias en una fila con diferente letra superíndice son significativamente diferentes, $P < 0.05$ (Modelo lineal general corregido por Bonferroni). AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

En la Figura 16 se presenta la composición plasmática de ácidos grasos de las madres a las 24 semanas de gestación según el estado nutricional pregestacional (normal, sobrepeso, obesidad). Como se puede observar, los ácidos grasos mirístico ($P=0.036$), C17:0 ($P<0.001$), C20:1 n-9 ($P<0.001$), C20:2 n-6 ($P=0.007$), ALA ($P=0.013$), EPA ($P=0.016$) y C22:5 n-3 ($P<0.016$) fueron significativamente menores en las

IV. RESULTADOS

embarazadas obesas en comparación con las normopeso. En contrapartida, tanto C20:3 n-6 ($P=0.049$) como AA ($P=0.003$) resultaron mayores en las gestantes que presentaban obesidad que en las normopeso. Las madres con un estado nutricional normal o con sobrepeso tuvieron menor proporción de ácido palmítico ($P=0.001$) y mayor de ácido oleico ($P<0.001$) que las embarazadas obesas.

La composición plasmática de ácidos grasos de las embarazadas a las 34 semanas de gestación, ya sean normopeso, obesas o posean sobrepeso, es presentada en la Figura 17. Al igual que a las 24 semanas, el ácido palmítico ($P=0.044$) fue mayor en las madres obesas que en las normopeso, y el C17:0 ($P=0.034$), ácido palmitoleico ($P=0.042$) y ALA ($P=0.004$) resultaron menores. Las embarazadas normopeso tuvieron una mayor proporción de los AGMI oleico ($P<0.001$) y C20:1 n-9 ($P=0.006$) en comparación con las que tenían sobrepeso u obesidad. El C20:0 ($P=0.022$) fue mayor en el grupo control que en el de gestantes con sobrepeso, mientras que el AA ($P=0.005$) lo fue en ambos grupos de exceso de peso.

En las Figura 18 y Figura 19 se muestra la composición plasmática de ácidos grasos de las embarazadas al final de la gestación y de los hijos al nacer, de acuerdo al estado nutricional pregestacional de las madres. Se efectuó el análisis comparativo de los ácidos grasos entre los grupos de madres, los grupos de hijos y entre madres e hijos. En las madres obesas se observó una menor proporción de C17:0 ($P=0.016$) y ácido oleico ($P=0.003$) que en los otros grupos de embarazadas (Figura 18) mientras que la proporción de ALA fue menor que en las normopeso ($P=0.007$) (Figura 19).

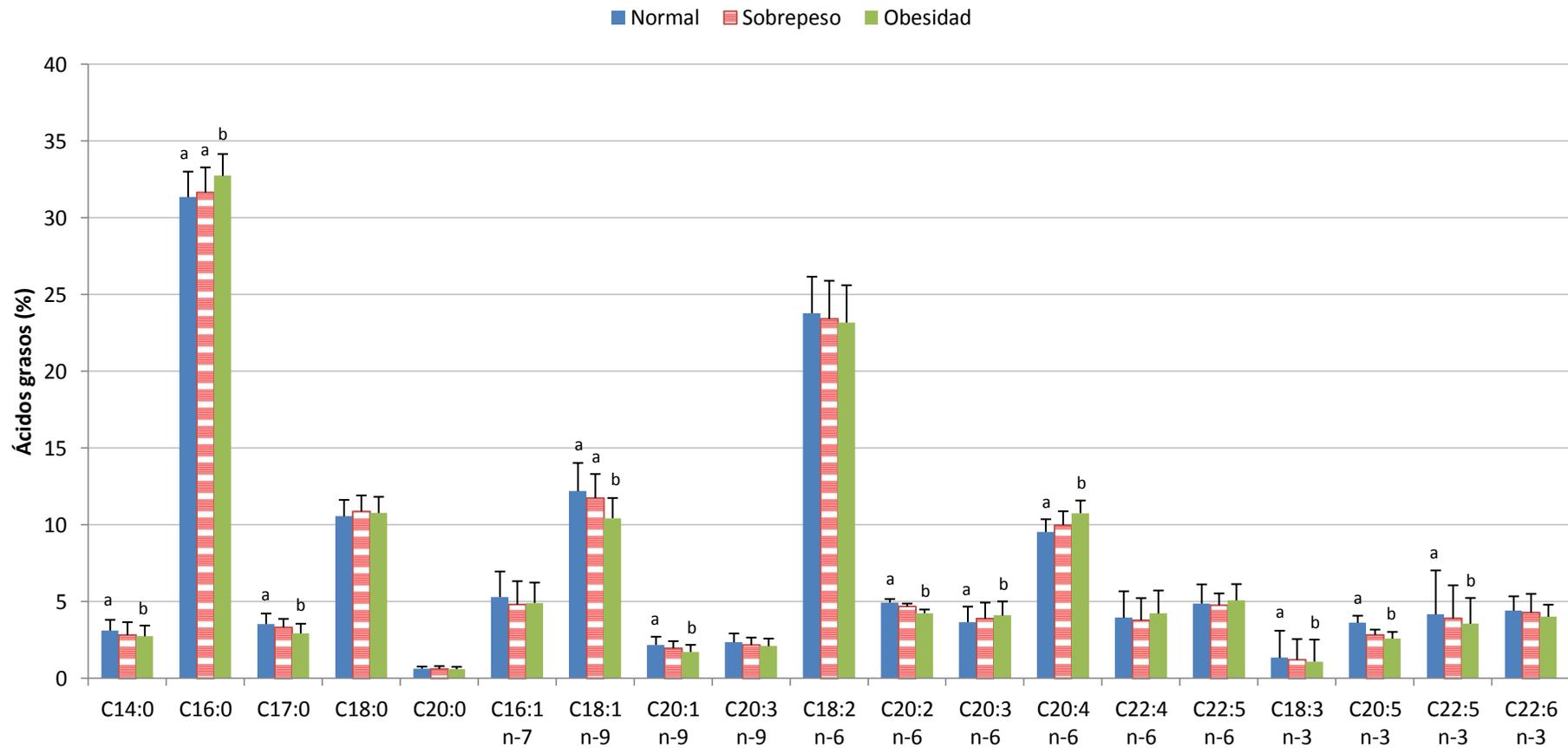


Figura 16. Composición plasmática de ácidos grasos de las madres a las 24 semanas de gestación según el estado nutricional pregestacional.

Resultados expresados en medias \pm DE. Las medias con diferente letra superíndice son significativamente diferentes, $P < 0.05$ (ANOVA corregido por Bonferroni). Las medias de C14:0, C17:0, C20:0, C16:1 n-7, C20:1 n-9, C20:3 n-9, C20:2 n-6, C22:4 n-6, C22:5 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3 y C22:5 n-3 fueron multiplicadas por 10. Grupo control (normal), $n=76$; madres con sobrepeso, $n=29$; madres obesas, $n=30$.

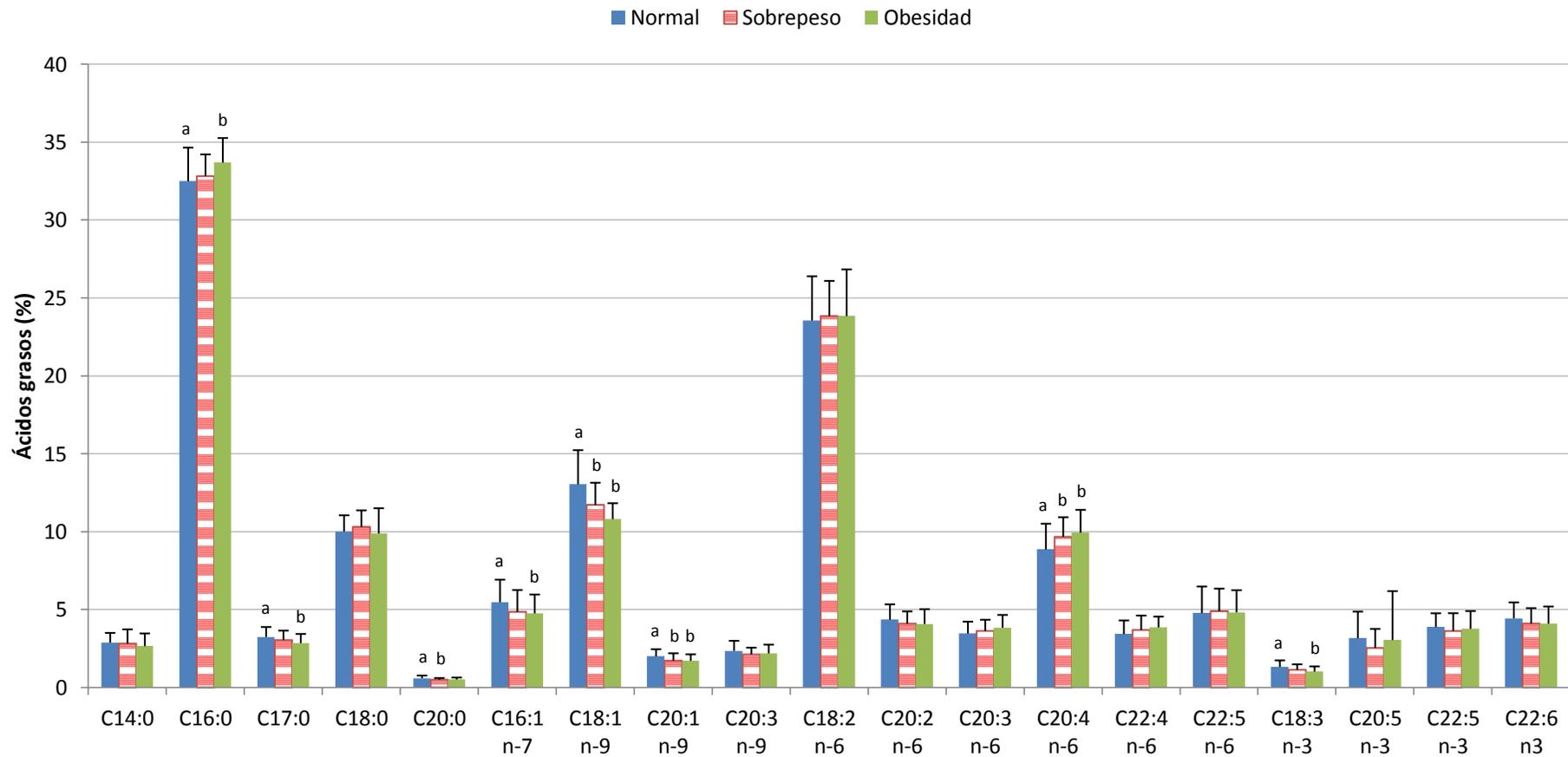


Figura 17. Composición plasmática de ácidos grasos de las madres a las 34 semanas de gestación según el estado nutricional pregestacional.

Resultados expresados en medias \pm DE. Las medias con diferente letra superíndice son significativamente diferentes, $P < 0.05$ (ANOVA corregido por Bonferroni). Las medias de C14:0, C17:0, C20:0, C16:1 n-7, C20:1 n-9, C20:3 n-9, C20:2 n-6, C22:4 n-6, C22:5 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3 y C22:5 n-3 fueron multiplicadas por 10. Grupo control (normal), $n=72$; madres con sobrepeso, $n=28$; madres obesas, $n=21$.

IV. RESULTADOS

En los hijos, no se observaron diferencias significativas en la proporción de AGS o AGMI. Sin embargo, los ácidos C22:4 n-6 ($P=0.037$) y C22:5 n-6 ($P=0.036$) fueron mayores en los recién nacidos de madres con sobrepeso en comparación con el grupo control, y EPA resultó menor en los hijos de madres obesas que en aquellos de embarazadas con un estado nutricional normal ($P=0.015$).

Por otra parte, al comparar la composición de AGS y AGMI (Figura 18) y de AGPI (Figura 19) de las madres con los hijos del mismo grupo de estado nutricional, se encontró que los recién nacidos de los tres grupos poseen una menor proporción de ácido palmítico ($P<0.001$), C20:1 n-9 ($P<0.001$), LA ($P<0.001$), ALA ($P<0.001$) y EPA ($P<0.001$) que las madres, mientras que los ácidos esteárico ($P<0.001$), C20:0 ($P<0.001$), palmitoleico ($P<0.01$), C20:3 n-6 ($P<0.001$), AA ($P<0.001$), C22:4 n-6 ($P<0.001$), C22:5 n-6 ($P<0.001$) y DHA ($P<0.001$) fueron mayores. La proporción de los ácidos C17:0 ($P<0.05$) y oleico ($P<0.01$) sólo resultaron diferentes entre gestantes e hijos en los grupos normopeso y sobrepeso, siendo el primero mayor y el segundo menor en los niños que en las madres.

En la Tabla 7 se muestra la asociación entre la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer. La proporción de los AGS ($P<0.01$), AGMI ($P<0.01$), AGPI n-6 ($P<0.001$) y AGPI n-3 ($P<0.05$) de las madres, excepto C20:0, ácido palmitoleico y γ -linolénico, se relacionó positivamente con los respectivos ácidos grasos de los hijos.

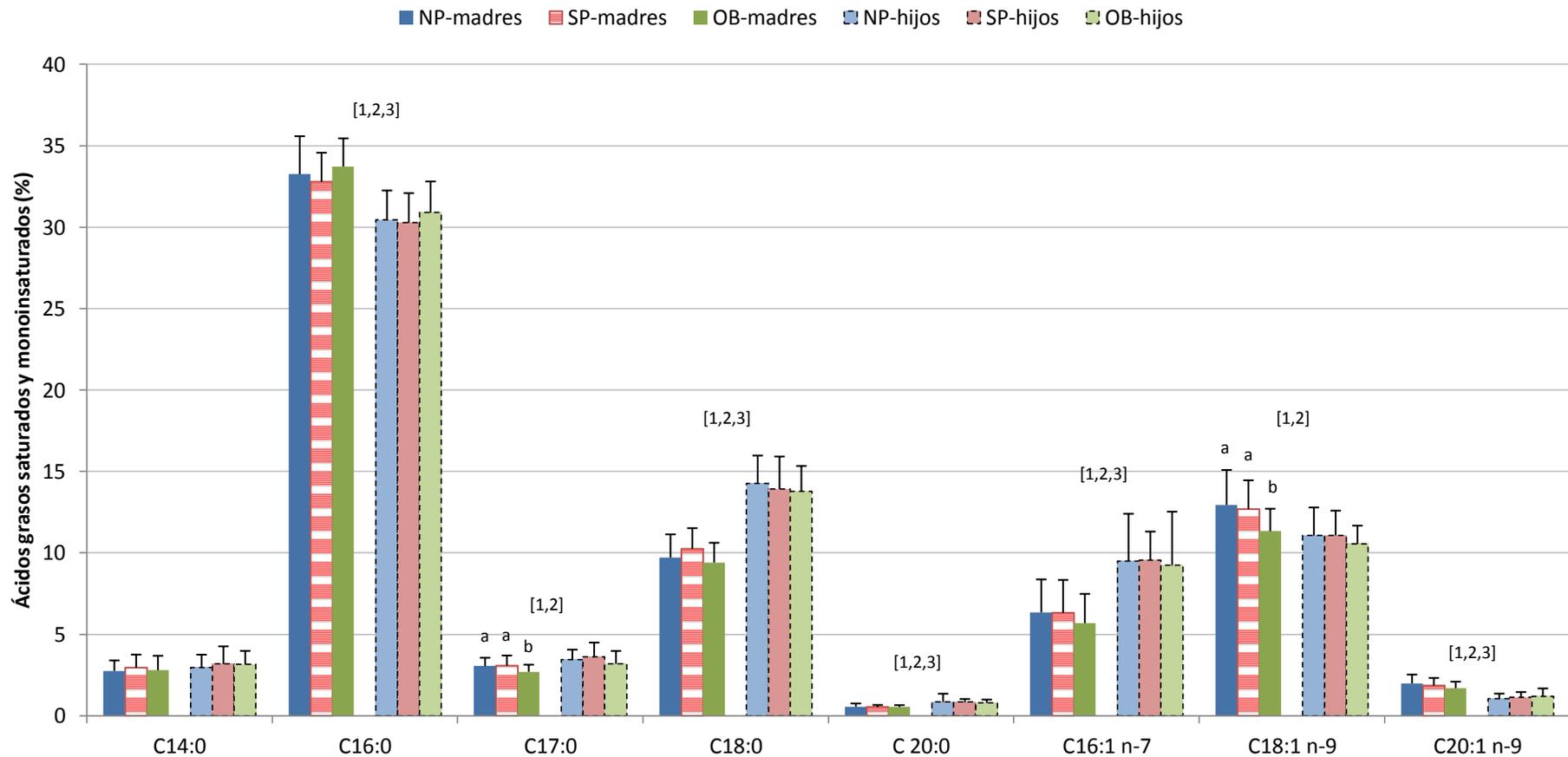


Figura 18. Composición plasmática de ácidos grasos saturados y monoinsaturados de las madres al final de gestación y de los hijos al nacer según el estado nutricional pregestacional.

Resultados expresados en medias \pm DE. Diferencia estadísticamente significativa: ¹entre madre-hijo del grupo normopeso, ²entre madre-hijo del grupo sobrepeso, ³entre madre-hijo del grupo obesidad (Modelo lineal general corregido por Bonferroni); las medias con diferente letra superíndice son significativamente diferentes (ANOVA corregido por Bonferroni); $P < 0.05$. Las medias de C14:0, C17:0, C20:0, C16:1 n-7 y C20:1 n-9 fueron multiplicadas por 10. Madres: grupo control (normal, NP), $n=78$; sobrepeso (SP), $n=23$; obesidad (OB), $n=23$; hijos: grupo normal (NP), $n=59$; sobrepeso (SP), $n=18$; obesidad (OB), $n=15$.

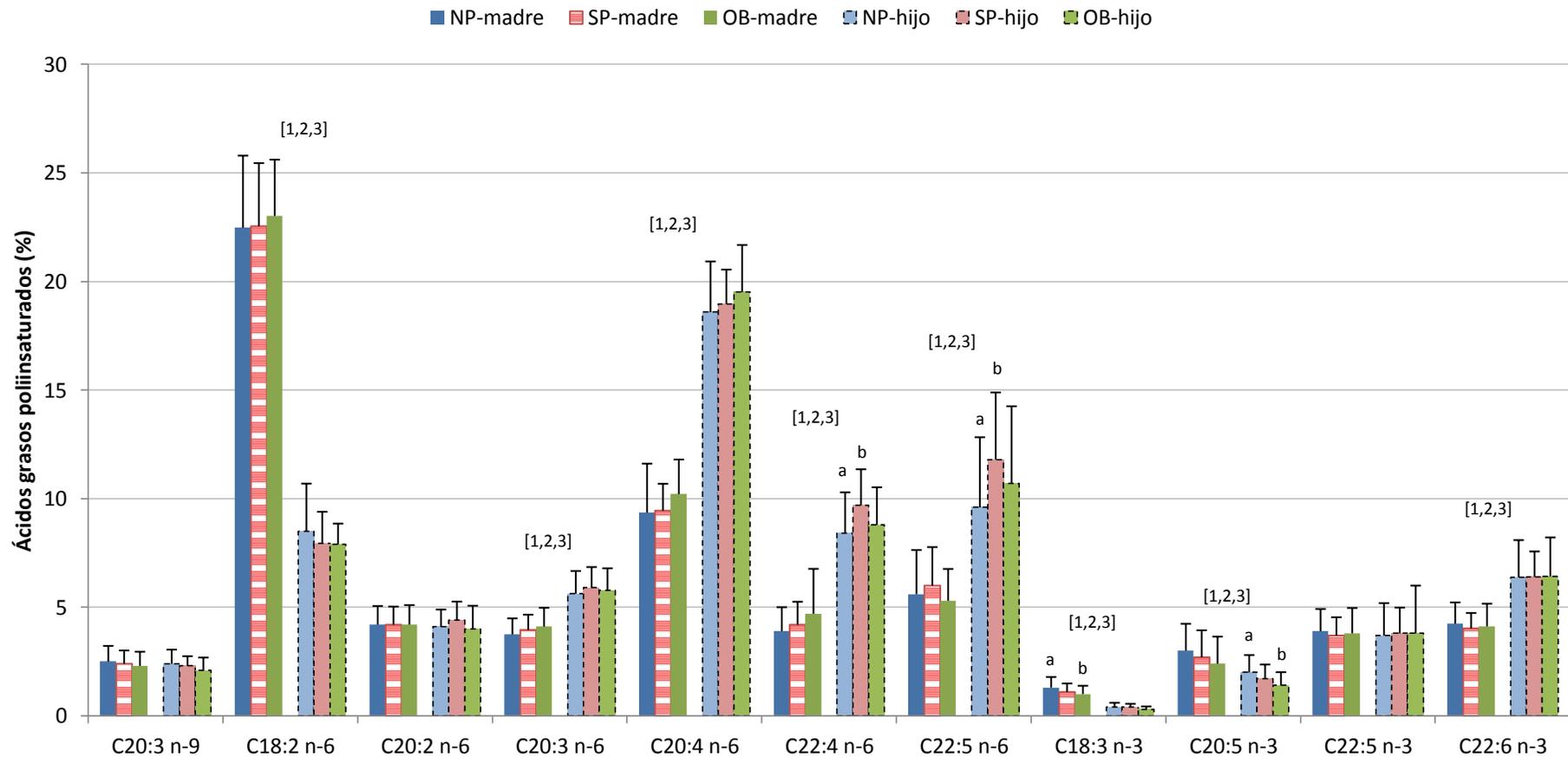


Figura 19. Composición plasmática de ácidos grasos poliinsaturados de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer según el estado nutricional pregestacional.

Resultados expresados en medias \pm DE. Diferencia estadísticamente significativa: ¹entre madre-hijo del grupo normopeso, ²entre madre-hijo del grupo sobrepeso, ³entre madre-hijo del grupo obesidad (Modelo lineal general corregido por Bonferroni); las medias con diferente letra superíndice son significativamente diferentes (ANOVA corregido por Bonferroni); $P < 0.05$. Las medias de C20:3 n-9, C20:2 n-6, C22:4 n-6, C22:5 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3 y C22:5 n-3 fueron multiplicadas por 10. Madres: grupo control (normal, NP), n=78; sobrepeso (SP), n=23; obesidad (OB), n=23. Hijos: grupo normal (NP), n=59; sobrepeso (SP), n=18; obesidad (OB), n=15.

IV. RESULTADOS

Tabla 7. Correlación entre la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer.

ÁCIDOS GRASOS (%)	Madres ¹ (n=87)	Hijos ¹ (n=29)	R ²	P
AGS				
C14:0	0.29 ± 0.08	0.31 ± 0.09	0.314	0.003
C16:0	32.90 ± 2.17	30.44 ± 1.81	0.425	0.000
C17:0	0.31 ± 0.05	0.34 ± 0.07	0.394	0.000
C18:0	9.86 ± 1.10	14.15 ± 1.78	0.447	0.000
C20:0	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.04	0.129	0.234
AGMI				
C16:1 n-7	0.62 ± 0.19	0.95 ± 0.28	0.174	0.107
C18:1 n9	12.82 ± 2.16	10.98 ± 1.63	0.510	0.000
C20:1 n-9	0.20 ± 0.05	0.11 ± 0.04	0.365	0.001
AGPI n-9				
C20:3 n-9	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.06	0.441	0.000
AGPI n-6				
C18:2 n-6	22.66 ± 2.93	8.27 ± 1.98	0.432	0.000
C18:3 n-6	0.05 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.093	0.390
C20:2 n-6	0.43 ± 0.09	0.42 ± 0.08	0.544	0.000
C20:3 n-6	3.84 ± 0.75	5.75 ± 0.99	0.386	0.000
C20:4 n-6	9.45 ± 1.66	18.71 ± 2.19	0.522	0.000
C22:4 n-6	0.42 ± 0.14	0.88 ± 0.19	0.547	0.000
C22:5 n-6	0.58 ± 0.19	1.03 ± 0.33	0.570	0.000
AGPI n-3				
C18:3 n-3	0.12 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.232	0.030
C20:5 n-3	0.29 ± 0.12	0.19 ± 0.08	0.696	0.000
C22:5 n-3	0.39 ± 0.11	0.39 ± 0.15	0.637	0.000
C22:6 n3	4.19 ± 0.96	6.46 ± 1.60	0.568	0.000

Resultados expresados en: ¹medias ± DE y ²coeficientes de correlación. Diferencia estadísticamente significativa: P<0.05 (Correlación de Pearson). AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

La relación entre el IMC pregestacional de las embarazadas y la composición plasmática de ácidos grasos de éstas y de los hijos al nacer se presenta en la Tabla 8. A las 24 semanas de gestación, el IMC pregestacional de las madres se asoció en forma significativa e inversa con los ácidos mirístico ($P=0.012$), C17:0 ($P<0.001$), oleico

IV. RESULTADOS

($P < 0.001$), C20:1 n-9 ($P < 0.001$), C20:2 n-6 ($P = 0.006$), ALA ($P = 0.008$), EPA ($P = 0.048$) y C22:5 n-3 ($P = 0.034$), mientras que con los ácidos palmítico ($P < 0.001$), C20:3 n-6 ($P = 0.009$) y AA ($P < 0.001$) lo hizo en forma directa. A las 34 semanas de embarazo, se observó una relación negativa significativa con C17:0 ($P = 0.032$), C20:0 ($P = 0.002$), ácido palmitoleico ($P = 0.006$), ácido oleico ($P < 0.001$) y ALA ($P = 0.001$), y los ácidos palmítico ($P = 0.049$) y AA ($P < 0.001$) tuvieron un comportamiento opuesto. Al final del embarazo, los ácidos oleico ($P = 0.001$), C20:1 n-9 ($P = 0.038$) y ALA ($P = 0.002$) se asociaron en forma significativa e inversa con el IMC pregestacional de las madres, y los ácidos C20:3 n-6 ($P = 0.008$) y C22:4 n-6 ($P = 0.047$) de forma directa. Por otra parte, se constató una relación positiva entre dicho IMC y la proporción de C22:4 n-6 ($P = 0.031$), C22:5 n-6 ($P = 0.043$) de los recién nacidos y negativa con EPA ($P = 0.011$).

En la Tabla 9 se presenta la relación entre el IMC de las madres al final de la gestación y la composición plasmática de ácidos grasos durante el embarazo y de los hijos al nacer. A las 24 semanas, los ácidos C17:0 ($P = 0.029$), oleico ($P < 0.001$) y C20:1 n-9 ($P = 0.043$) se asociaron negativamente con el IMC que presentaban las madres al final del embarazo, y ácido palmítico ($P = 0.049$) y AA ($P = 0.012$) positivamente. A las 34 semanas, C20:0 ($P = 0.039$), ácido oleico ($P = 0.003$) y ALA ($P = 0.021$) se relacionaron en forma inversa con el IMC de las madres, mientras que C20:3 n-6 ($P = 0.01$) y AA ($P = 0.003$) lo hicieron de manera directa. Al final de la gestación, en los ácidos oleico ($P = 0.003$), C20:1 n-9 ($P = 0.044$) y ALA ($P = 0.027$) se observó una asociación negativa, y en C20:3 n-6 ($P = 0.001$) y AA ($P = 0.007$) positiva. En los hijos, la asociación del IMC de las madres con EPA se mantuvo ($P = 0.049$).

IV. RESULTADOS

Tabla 8. Asociación entre el IMC pregestacional de las madres y la composición plasmática de ácidos grasos de éstas y de los hijos al nacer.

ÁCIDOS GRASOS (%)	Madres 24 semanas gestación (n=135)	Madres 34 semanas gestación (n=121)	Madres parto (n=124)	Cordón umbilical (n=92)
AGS				
C14:0	-0.210*	-0.125	0.028	0.096
C16:0	0.307***	0.202*	0.059	0.016
C17:0	-0.328***	-0.221*	-0.176	-0.078
C18:0	0.099	-0.015	0.020	-0.029
C20:0	-0.139	-0.254**	-0.066	0.044
AGMI				
C16:1 n-7	-0.071	-0.238**	-0.156	-0.075
C18:1 n-9	-0.376***	-0.440***	-0.332**	-0.163
C20:1 n-9	-0.337***	-0.199	-0.201*	0.128
AGPI n-9				
C20:3 n-9	-0.099	-0.009	-0.082	-0.130
AGPI n-6				
C18:2 n-6	-0.141	0.040	0.044	-0.168
C18:3 n-6	0.089	0.065	0.052	-0.028
C20:2 n-6	-0.200**	-0.102	0.073	0.006
C20:3 n-6	0.264**	0.177	0.242**	0.013
C20:4 n-6	0.306***	0.373***	0.168	0.167
C22:4 n-6	0.059	0.146	0.213*	0.235*
C22:5 n-6	0.075	0.043	0.039	0.214*
AGPI n-3				
C18:3 n-3	-0.210**	-0.332**	-0.259**	-0.121
C20:5 n-3	-0.200*	-0.137	-0.136	-0.305*
C22:5 n-3	-0.237*	-0.117	-0.065	0.062
C22:6 n-3	-0.153	-0.146	-0.076	0.039

Coefficientes de regresión estandarizados, ajustados por edad, nivel educativo y paridad de las madres. Diferencias estadísticamente significativas: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). IMC, índice de masa corporal; AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

IV. RESULTADOS

Tabla 9. Asociación entre el IMC de las madres al final de la gestación y la composición plasmática de ácidos grasos de éstas y de los hijos al nacer.

ÁCIDOS GRASOS (%)	Madres 24 semanas gestación (n=104)	Madres 34 semanas gestación (n=96)	Madres parto (n=96)	Cordón umbilical (n=67)
AGS				
C14:0	-0.136	-0.059	0.142	0.214
C16:0	0.213*	0.066	0.066	-0.143
C17:0	-0.232*	-0.186	-0.161	0.022
C18:0	0.188	-0.011	-0.041	-0.072
C20:0	-0.012	-0.230*	-0.011	0.048
AGMI				
C16:1 n-7	-0.102	-0.122	0.046	-0.099
C18:1 n-9	-0.408***	-0.328**	-0.328**	-0.154
C20:1 n-9	-0.226*	-0.067	-0.224*	0.117
AGPI n-9				
C20:3 n-9	0.071	0.168	0.068	-0.095
AGPI n-6				
C18:2 n-6	-0.084	0.015	-0.107	-0.026
C18:3 n-6	0.050	0.136	0.133	-0.005
C20:2 n-6	-0.080	-0.039	0.090	0.093
C20:3 n-6	0.193	0.292**	0.348**	0.134
C20:4 n-6	0.264*	0.334**	0.193**	0.158
C22:4 n-6	0.045	0.206	0.127	0.213
C22:5 n-6	0.122	0.104	0.086	0.187
AGPI n-3				
C18:3 n-3	-0.126	-0.251*	-0.242*	-0.222
C20:5 n-3	-0.140	-0.156	-0.091	-0.243*
C22:5 n-3	-0.150	-0.175	0.042	0.047
C22:6 n-3	-0.177	-0.177	0.037	0.059

Coefficientes de regresión estandarizados, ajustados por edad, nivel educativo, paridad e incremento de peso de las madres y edad gestacional al momento del parto. Diferencias estadísticamente significativas: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). IMC, índice de masa corporal; AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

La composición plasmática de ácidos grasos de madres e hijos según el tipo de incremento de peso experimentado durante el embarazo se muestra en la Tabla 10. La ganancia de peso total de las gestantes fue clasificada en función de las recomendaciones del IOM de 2009 [5], considerándose insuficiente o excesiva cuando

IV. RESULTADOS

el incremento de peso es menor o mayor al recomendado, respectivamente. Así, a las 34 semanas, el ácido esteárico fue significativamente mayor en las embarazadas que tuvieron un aumento de peso excesivo en comparación con aquellas que experimentaron un incremento insuficiente o adecuado ($P=0.017$). El ácido palmitoleico resultó mayor en las gestantes con ganancia de peso excesiva que en las madres con aumento de peso menor al recomendado ($P=0.044$), pero después de ajustar por los factores confusores correspondientes dicha diferencia dejó de ser significativa. Las embarazadas que tuvieron un incremento de peso superior a las recomendaciones del IOM presentaron una proporción significativamente mayor de C20:3 n-6 que las de incremento insuficiente ($P=0.024$). Otro AGPI n-6 en que se constató diferencias significativas fue el C22:5 n-6, siendo menor en las mujeres con aumento de peso insuficiente que en el grupo de ganancia adecuada ($P=0.049$).

En la Tabla 11 se muestra la asociación entre la composición plasmática de ácidos grasos de madres e hijos y el incremento de peso total experimentado por las gestantes. El ácido palmitoleico se asoció en forma directa con el incremento de peso de las madres, a las 34 semanas de gestación ($P=0.039$) y al final del embarazo ($P=0.029$), mientras que el C20:3 n-9 lo hizo en todos los tiempos estudiados ($P<0.05$) y en los recién nacidos ($P=0.043$). En los AGPI n-6, se observó una relación positiva de dicho parámetro antropométrico con C20:2 n-6 a las 24 ($P=0.030$) y 34 ($P=0.047$) semanas de gestación y en los recién nacidos ($P=0.013$), así como con C20:3 n-6 al final del embarazo ($P=0.024$). En los recién nacidos, la asociación constatada para DHA ($P=0.043$) y C22:5 n-3 ($P=0.038$) fue positiva, mientras que para ALA fue inversa ($P=0.031$).

Tabla 10. Composición plasmática de ácidos grasos de las madres y de los hijos al nacer según el tipo de incremento de peso de las embarazadas.

ÁCIDOS GRASOS (%)	INCREMENTO DE PESO TOTAL DE LAS EMBARAZADAS ¹								
	Insuficiente	Recomendado	Excesivo	Insuficiente	Recomendado	Excesivo	Insuficiente	Recomendado	Excesivo
	Plasma materno 34 semanas gestación			Plasma materno parto			Plasma cordón umbilical		
AGS									
C14:0	0.28 ± 0.07	0.30 ± 0.07	0.28 ± 0.06	0.27 ± 0.06	0.030 ± 0.08	0.29 ± 0.09	0.28 ± 0.08	0.31 ± 0.12	0.33 ± 0.08
C16:0	33.28 ± 2.38	32.37 ± 1.88	32.29 ± 1.59	33.53 ± 2.55	32.76 ± 1.94	33.45 ± 1.89	31.02 ± 1.90	29.93 ± 1.57	29.71 ± 1.32
C17:0	0.32 ± 0.07	0.32 ± 0.06	0.30 ± 0.06	0.30 ± 0.05	0.32 ± 0.06	0.28 ± 0.06	0.32 ± 0.06	0.35 ± 0.08	0.36 ± 0.04
C18:0	9.93 ± 1.07^a	9.84 ± 1.11^a	10.88 ± 1.38^b	9.85 ± 1.19	9.55 ± 1.14	9.73 ± 1.56	14.20 ± 1.59	14.24 ± 1.72	14.30 ± 1.47
C20:0	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.08	0.08 ± 0.02
AGMI									
C16:1 n-7	0.49 ± 0.14	0.55 ± 0.13	0.54 ± 0.14	0.58 ± 0.17	0.62 ± 0.14	0.72 ± 0.27	0.93 ± 0.26	1.00 ± 0.27	0.84 ± 0.27
C18:1 n-9	12.03 ± 1.97	13.08 ± 2.11	12.21 ± 2.12	12.87 ± 2.42	13.06 ± 1.59	12.12 ± 1.63	10.92 ± 1.51	11.32 ± 1.78	10.60 ± 1.29
C20:1 n-9	0.18 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.19 ± 0.05	0.19 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.19 ± 0.06	0.11 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.13 ± 0.05
AGPI n-9									
C20:3 n-9	0.22 ± 0.05	0.24 ± 0.06	0.23 ± 0.06	0.24 ± 0.07	0.26 ± 0.07	0.27 ± 0.08	0.22 ± 0.06	0.25 ± 0.06	0.24 ± 0.05
AGPI n-6									
C18:2 n-6	23.60 ± 2.58	23.18 ± 2.27	23.49 ± 3.31	21.92 ± 2.92	22.65 ± 2.05	22.00 ± 2.85	7.74 ± 1.18	8.15 ± 1.30	8.76 ± 4.16
C18:3 n-6	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.03	0.09 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.04
C20:2 n-6	0.42 ± 0.10	0.43 ± 0.09	0.46 ± 0.09	0.40 ± 0.08	0.43 ± 0.09	0.44 ± 0.08	0.39 ± 0.09	0.44 ± 0.08	0.44 ± 0.08
C20:3 n-6	3.60 ± 0.77	3.48 ± 0.77	3.97 ± 0.75	3.83 ± 0.75^a	3.83 ± 0.79^{a,b}	4.39 ± 0.60^b	5.66 ± 1.26	5.83 ± 0.95	5.87 ± 0.86
C20:4 n-6	9.26 ± 1.63	9.41 ± 1.44	8.91 ± 1.71	9.62 ± 1.84	9.54 ± 1.50	9.58 ± 1.79	19.25 ± 2.32	18.24 ± 1.48	18.35 ± 3.52
C22:4 n-6	0.35 ± 0.07	0.35 ± 0.09	0.39 ± 0.08	0.40 ± 0.08	0.40 ± 0.12	0.43 ± 0.11	0.84 ± 0.16	0.96 ± 0.23	0.88 ± 0.19
C22:5 n-6	0.47 ± 0.15	0.48 ± 0.15	0.50 ± 0.15	0.56 ± 0.19	0.57 ± 0.18	0.60 ± 0.18	0.90 ± 0.25^a	1.14 ± 0.37^b	1.06 ± 0.39^{a,b}
AGPI n-3									
C18:3 n-3	0.12 ± 0.04	0.13 ± 0.03	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.04	0.12 ± 0.05	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01
C20:5 n-3	0.27 ± 0.17	0.33 ± 0.18	0.29 ± 0.15	0.28 ± 0.12	0.32 ± 0.13	0.32 ± 0.12	0.19 ± 0.08	0.20 ± 0.08	0.22 ± 0.07
C22:5 n-3	0.38 ± 0.11	0.38 ± 0.05	0.42 ± 0.09	0.38 ± 0.11	0.38 ± 0.05	0.42 ± 0.09	0.36 ± 0.18	0.41 ± 0.12	0.45 ± 0.10
C22:6 n-3	4.37 ± 0.98	4.48 ± 0.97	4.13 ± 1.22	4.26 ± 1.01	4.32 ± 0.94	4.27 ± 0.74	6.28 ± 1.67	6.71 ± 1.55	7.09 ± 1.53

¹Incremento de peso total de las embarazadas clasificado según las recomendaciones de 2009 del Instituto de Medicina (IOM, del inglés *Institute of Medicine*). Resultados expresados en medias ± DE. Diferencia estadísticamente significativa: las letras superíndice distintas indican diferencia significativa (Modelo lineal general corregido por Bonferroni, ajustado por edad, paridad, nivel educativo, IMC pregestacional de las madres y edad gestacional al momento del parto), $P < 0.05$. Madres: n=38/29/21 para incremento de peso insuficiente, recomendado y excesivo, respectivamente; Hijos: n=31/22/10. AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

IV. RESULTADOS

La relación entre la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y los parámetros antropométricos de los hijos al nacer y el peso de la placenta se presenta en la Tabla 12. En los AGS mirístico, palmítico y esteárico la asociación encontrada fue negativa. La proporción de ácido mirístico en plasma materno se relacionó con el peso ($P=0.001$) y el perímetro cefálico de los recién nacidos ($P=0.036$), el ácido palmítico con el perímetro cefálico ($P=0.017$) y el ácido esteárico con el peso ($P=0.013$) y la longitud ($P=0.024$). Con respecto a los AGPI, se observó una asociación inversa entre C20:3 n-9 y el peso de los recién nacidos ($P=0.029$). LA se relacionó positivamente con el peso ($P=0.026$), la longitud ($P=0.001$) y el perímetro cefálico ($P=0.024$) de los niños. En contrapartida, C22:5 n-3 se asoció en forma negativa con la longitud ($P=0.001$).

En la Tabla 13 se muestra la relación entre la composición plasmática de ácidos grasos de los niños y los parámetros antropométricos al nacer y el peso de la placenta. Se observó una relación negativa entre la proporción de C20:2 n-6 ($P=0.026$) y C22:5 n-3 ($P=0.024$) en plasma de cordón umbilical y el peso de los recién nacidos.

A los efectos de verificar si las relaciones constatadas en la población global de embarazadas y recién nacidos son similares en los grupos control y de exceso de peso, se determinaron las asociaciones entre el peso al nacer de los niños y la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y de los hijos según el estado nutricional pregestacional (Tabla 14). En plasma materno, las relaciones constatadas en la población global se mantuvieron para el ácido mirístico en las madres con exceso de peso ($P=0.005$) y normopeso ($P=0.038$), así como para el ácido esteárico en el grupo control ($P=0.017$). En los niños, se observó una relación inversa

IV. RESULTADOS

entre C17:0 ($P=0.011$) y el peso al nacer de los hijos de madres normopeso, la cual no había sido constatada en los resultados globales. Por otra parte, la asociación del C20:2 n-6 permaneció en los hijos de embarazadas con exceso de peso ($P=0.036$), mientras que para el C22:5 n-3 no se observó asociación en los grupos control o sobrepeso y obesidad.

En la Tabla 15 se describe la composición plasmática de ácidos grasos de los recién nacidos macrosómicos y de las madres al final de la gestación. No se observaron diferencias significativas en la proporción de ácidos grasos de las madres de los recién nacidos macrosómicos en comparación con los normales. En cambio, en los neonatos, se encontró que los recién nacidos macrosómicos poseían una menor cantidad de ácido esteárico ($P=0.028$) y mayor de C22:5 n-6 ($P=0.049$) que los niños de peso normal. No obstante, luego de ajustar por los diferentes factores confusores las diferencias en el C22:5 n-6 desaparecieron.

IV. RESULTADOS

Tabla 11. Relación entre el incremento de peso total de las embarazadas y la composición plasmática de ácidos grasos de madres e hijos.

ÁCIDOS GRASOS (%)	Madres 24 semanas gestación (n=135)	Madres 34 semanas gestación (n=121)	Madres parto (n=124)	Hijos al nacer (n=92)
AGS				
C14:0	0.181	0.122	0.114	0.225
C16:0	-0.126	-0.108	0.024	-0.195
C17:0	0.123	-0.005	-0.089	0.236
C18:0	0.150	0.156	-0.105	0.008
C20:0	0.009	0.045	-0.125	-0.030
AGMI				
C16:1 n-7	0.199	0.210*	0.220*	0.046
C18:1 n-9	0.071	0.100	-0.134	-0.024
C20:1 n-9	0.146	0.186	0.045	0.137
AGPI n-9				
C20:3 n-9	0.217*	0.227*	0.206*	0.250*
AGPI n-6				
C18:2 n-6	-0.053	-0.011	0.015	0.151
C18:3 n-6	-0.010	-0.015	0.066	0.057
C20:2 n-6	0.223*	0.199*	0.158	0.303*
C20:3 n-6	0.055	0.200	0.232*	0.193
C20:4 n-6	-0.035	-0.086	-0.001	-0.239
C22:4 n-6	0.014	0.039	-0.067	0.149
C22:5 n-6	0.027	-0.005	0.023	0.215
AGPI n-3				
C18:3 n-3	0.199	0.085	-0.030	-0.293*
C20:5 n-3	0.209	0.084	0.084	0.173
C22:5 n-3	0.184	0.038	0.068	0.271*
C22:6 n-3	-0.059	-0.031	0.040	0.270*

Coefficientes de regresión estandarizados ajustados por edad, paridad, nivel educativo, índice de masa corporal pregestacional de las madres y edad gestacional al momento del parto. Diferencias estadísticamente significativas: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

IV. RESULTADOS

Tabla 12. Relación entre la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y los parámetros antropométricos de los hijos al nacer y el peso de la placenta.

ÁCIDOS GRASOS (%)	Peso ¹ (n=78)	Longitud ¹ (n=70)	Perímetro cefálico ¹ (n=57)	Peso placenta ² (n=78)
AGS				
C14:0	-0.311**	-0.234	-0.274*	-0.207
C16:0	0.021	-0.125	-0.317*	0.108
C17:0	-0.129	-0.071	0.113	-0.019
C18:0	-0.242*	-0.275*	-0.121	0.083
C20:0	-0.069	-0.110	0.042	-0.107
AGMI				
C16:1 n-7	0.049	-0.132	-0.074	0.148
C18:1 n-9	-0.094	0.123	0.201	0.054
C20:1 n-9	-0.038	0.032	0.155	-0.057
AGPI n-9				
C20:3 n-9	-0.210*	-0.160	-0.002	0.128
AGPI n-6				
C18:2 n-6	0.204*	0.402**	0.363*	-0.158
C18:3 n-6	0.012	-0.042	-0.036	-0.001
C20:2 n-6	-0.092	-0.017	0.061	-0.164
C20:3 n-6	0.174	0.132	-0.170	-0.125
C20:4 n-6	-0.039	-0.190	-0.077	-0.023
C22:4 n-6	0.068	-0.158	-0.186	0.051
C22:5 n-6	-0.026	-0.130	-0.187	0.035
AGPI n-3				
C18:3 n-3	0.146	-0.084	-0.037	-0.095
C20:5 n-3	0.052	-0.161	-0.009	-0.024
C22:5 n-3	-0.083	-0.318**	-0.207	0.010
C22:6 n-3	0.025	-0.215	0.014	-0.051

Coefficientes de regresión estandarizados ajustados por: ¹edad, paridad, nivel educativo, hábito tabáquico, IMC pregestacional e incremento de peso de las madres, edad gestacional de los recién nacidos y peso de la placenta; ²edad, paridad, nivel educativo, hábito tabáquico, IMC pregestacional e incremento de peso de las madres y edad gestacional de los recién nacidos. Diferencia estadísticamente significativa: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

IV. RESULTADOS

Tabla 13. Relación entre la composición plasmática de ácidos grasos de los niños y los parámetros antropométricos al nacer y el peso de la placenta.

ÁCIDOS GRASOS (%)	Peso ¹ (n=58)	Longitud ¹ (n=51)	Perímetro cefálico ¹ (n=58)	Peso placenta ² (n=56)
AGS				
C14:0	-0.041	-0.100	0.059	-0.118
C16:0	0.182	0.193	0.240	0.009
C17:0	-0.195	-0.127	0.199	-0.255
C18:0	-0.072	-0.088	-0.159	-0.015
C20:0	-0.080	-0.124	-0.047	-0.012
AGMI				
C16:1 n-7	0.033	0.028	0.150	0.103
C18:1 n-9	0.040	0.157	0.182	0.182
C20:1 n-9	-0.196	0.082	-0.023	0.105
AGPI n-9				
C20:3 n-9	0.073	-0.069	0.203	0.271
AGPI n-6				
C18:2 n-6	-0.207	0.110	0.179	-0.002
C18:3 n-6	0.041	0.013	0.028	-0.072
C20:2 n-6	-0.250*	-0.190	-0.141	0.096
C20:3 n-6	0.130	-0.065	-0.161	-0.260
C20:4 n-6	0.092	-0.102	-0.035	-0.083
C22:4 n-6	-0.005	-0.068	-0.164	0.027
C22:5n-6	0.178	0.121	0.029	0.148
AGPI n-3				
C18:3 n-3	-0.058	0.155	0.088	0.037
C20:5 n-3	-0.181	-0.283	-0.288	-0.044
C22:5 n-3	-0.279*	-0.212	-0.328	-0.007
C22:6 n-3	-0.126	-0.207	-0.256	0.041

Coefficientes de regresión estandarizados, ajustados por: ¹edad, paridad, nivel educativo, hábito tabáquico, IMC pregestacional e incremento de peso de las madres, edad gestacional y sexo de los recién nacidos y peso de la placenta; ²edad, paridad, nivel educativo, hábito tabáquico, IMC pregestacional e incremento de peso de las madres y edad gestacional y sexo de los recién nacidos. Diferencias estadísticamente significativas: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

IV. RESULTADOS

Tabla 14. Asociación entre el peso de los recién nacidos y la composición plasmática de ácidos grasos de las madres al final de la gestación y de los hijos al nacer según el estado nutricional pregestacional.

ÁCIDOS GRASOS (%)	PLASMA MATERNO			PLASMA CORDÓN UMBILICAL		
	Global (n=78)	Normopeso (n= 49)	SP y OB (n=29)	Global (n=58)	Normopeso (n=39)	SP y OB (n=19)
AGS						
C14:0	-0.311**	-0.306*	-0.348**	-0.041	-0.102	-0.084
C16:0	0.021	-0.037	0.011	0.182	0.191	0.287
C17:0	-0.129	-0.131	0.066	-0.195	-0.484*	-0.111
C18:0	-0.242*	-0.350*	-0.048	-0.072	0.010	-0.087
C20:0	-0.069	-0.184	0.081	-0.080	-0.032	-0.204
AGMI						
C16:1 n-7	0.049	-0.065	0.303	0.033	0.060	-0.258
C18:1 n-9	-0.094	-0.071	-0.217	0.040	-0.108	0.155
C20:1 n-9	-0.038	-0.101	0.153	-0.196	-0.206	-0.125
AGPI n-9						
C20:3 n-9	-0.210*	-0.162	-0.131	0.073	0.111	-0.146
AGPI n-6						
C18:2 n-6	0.204*	0.224	0.057	-0.207	-0.270	-0.116
C18:3 n-6	0.012	-0.026	0.035	0.041	-0.123	0.191
C20:2 n-6	-0.092	-0.177	-0.013	-0.250*	-0.286	-0.420*
C20:3 n-6	0.174	0.186	0.125	0.130	0.219	-0.097
C20:4 n-6	-0.039	-0.084	0.198	0.092	0.098	0.323
C22:4 n-6	0.068	0.042	0.120	-0.005	-0.040	-0.088
C22:5 n-6	-0.026	-0.059	0.075	0.178	0.182	-0.022
AGPI n-3						
C18:3 n-3	0.146	0.282	-0.050	-0.058	-0.057	-0.345
C20:5 n-3	0.052	0.025	0.031	-0.181	-0.146	-0.106
C22:5 n-3	-0.083	0.007	-0.253	-0.279*	-0.232	-0.371
C22:6 n-3	0.025	0.142	-0.138	-0.126	0.029	-0.377

Coefficientes de regresión estandarizados, ajustados por edad, paridad, nivel educativo, hábito tabáquico, índice de masa corporal pregestacional e incremento de peso de las madres, edad gestacional y sexo de los recién nacidos y peso de la placenta. Diferencia estadísticamente significativa: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (Modelo de regresión lineal). SP, sobrepeso; OB, obesidad; AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados.

IV. RESULTADOS

Tabla 15. Composición plasmática de ácidos grasos de los recién nacidos macrosómicos y de las madres al final del embarazo.

ÁCIDOS GRASOS (%)	PLASMA MATERNO		PLASMA CORDÓN UMBILICAL	
	Recién nacidos		Recién nacidos	
	Normales ¹	Macrosómicos ²	Normales ¹	Macrosómicos ²
C14:0	0.28 ± 0.07	0.25 ± 0.09	0.30 ± 0.09	0.30 ± 0.07
C18:0	9.76 ± 1.33	9.74 ± 0.76	14.33 ± 1.61	12.46 ± 1.74*
C20:3 n-9	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.09	0.23 ± 0.06	0.25 ± 0.04
C18:2 n-6	22.54 ± 3.19	22.81 ± 2.62	8.19 ± 2.16	7.27 ± 0.48
C20:2 n-6	0.42 ± 0.09	0.41 ± 0.08	0.42 ± 0.09	0.39 ± 0.09
C22:5 n-6	0.57 ± 0.20	0.55 ± 0.14	1.01 ± 0.35	1.21 ± 0.10
C22:5 n-3	0.39 ± 0.10	0.35 ± 0.08	0.39 ± 0.16	0.30 ± 0.09

¹Peso al nacer comprendido entre 2500 y 4000 g. ²Peso al nacer mayor a 4000 g. Resultados expresados en medias ± DE. Diferencias estadísticamente significativas: * $P < 0.05$ (Modelo lineal general, corregido por Bonferroni, ajustado por edad, nivel educativo, paridad, hábito tabáquico, índice de masa corporal pregestacional e incremento de peso de las madres, edad gestacional de los recién nacidos y peso de la placenta). Plasma materno: recién nacidos normales, n=72; recién nacidos macrosómicos, n=5. Plasma de cordón umbilical: recién nacidos normales, n=50; recién nacidos macrosómicos, n=4.

3. ADOLESCENCIA

3.1. Composición corporal y perfil cardiometabólico de los adolescentes

La media de edad e IMC de los participantes fue de 14.09 ± 1.21 años y 31.4 ± 0.49 kg/m², respectivamente, siendo un 46% de sexo masculino y un 54% femenino. Las características clínicas y bioquímicas de los adolescentes en condiciones basales y a los 2 y 6 meses de tratamiento son presentadas en la Tabla 16. Se ha encontrado que el peso y los indicadores antropométricos de adiposidad total (IMC, PDE-IMC, masa grasa e índice de masa grasa) y central (perímetro de la cintura) disminuyeron significativamente durante los 6 meses de intervención ($P < 0.001$), mientras que el porcentaje de masa libre de grasa (MLG) aumentó significativamente ($P < 0.001$). Tanto la tensión arterial diastólica ($P = 0.002$) como la sistólica ($P < 0.001$) mejoraron significativamente después de los 2 meses de tratamiento, permaneciendo sin cambios hasta el final del programa. La mayoría de los parámetros bioquímicos (glucosa, insulina, colesterol, HDL, LDL, apo A1, apo B y PCR) disminuyeron significativamente durante la fase intensiva de la intervención ($P < 0.05$). Sin embargo, TAG y apo B/apo A1 sólo cambiaron al final del programa ($P = 0.001$), mostrando valores menores que los medidos al inicio del tratamiento y a los 2 meses. Durante la fase extensiva de la intervención, algunos de los parámetros que habían disminuido durante el período intensivo, tales como colesterol, HDL y apo A1, se volvieron mayores con respecto a los 2 meses ($P < 0.001$), pero no recuperaron los valores basales.

IV. RESULTADOS

Tabla 16. Características clínicas y bioquímicas de los adolescentes, previas y durante el tratamiento de pérdida de peso.

PARÁMETROS	N	Basal	2 meses	6 meses	P
Clínicos					
Peso (kg)	106	85.7 ± 1.66 ^a	81.5 ± 1.57 ^b	80.2 ± 1.58 ^c	<0.001
IMC (kg/m ²)	106	31.4 ± 0.49 ^a	29.7 ± 0.47 ^b	28.8 ± 0.49 ^c	< 0.001
PDE-IMC	106	2.80 ± 0.05 ^a	2.55 ± 0.06 ^b	2.35 ± 0.07 ^c	< 0.001
Perímetro Cintura (cm)	97	99.0 ± 1.24 ^a	95.8 ± 1.16 ^b	90.8 ± 1.17 ^c	< 0.001
Masa grasa (%)	93	35.8 ± 0.47 ^a	34.3 ± 0.50 ^b	33.2 ± 0.60 ^c	< 0.001
Masa grasa (kg)	92	30.8 ± 0.80 ^a	28.1 ± 0.76 ^b	26.8 ± 0.82 ^c	< 0.001
IMG (kg/m ²)	90	11.2 ± 0.28 ^a	10.2 ± 0.28 ^b	9.6 ± 0.30 ^c	< 0.001
MLG (%)	93	64.2 ± 0.47 ^a	65.7 ± 0.50 ^b	66.8 ± 0.60 ^c	< 0.001
TAS (mm Hg)	80	123.4 ± 1.60 ^a	118.7 ± 1.45 ^b	118.0 ± 1.45 ^b	0.002
TAD (mm Hg)	80	72.6 ± 1.29 ^a	67.4 ± 1.23 ^b	67.1 ± 1.04 ^b	< 0.001
Bioquímicos					
Glicemia (mmol/L)	97	4.63 ± 0.04 ^a	4.51 ± 0.05 ^b	4.54 ± 0.05 ^{a,b}	0.012
Insulinemia (μUI/mL)	20	18.8 ± 3.00 ^a	14.5 ± 1.46 ^b	14.8 ± 1.58 ^b	0.047
Colesterolemia (mmol/L)	106	4.01 ± 0.06 ^a	3.67 ± 0.07 ^b	3.77 ± 0.07 ^c	< 0.001
HDL (mmol/L)	104	1.15 ± 0.03 ^a	1.05 ± 0.03 ^b	1.14 ± 0.03 ^c	< 0.001
LDL (mmol/L)	104	2.34 ± 0.06 ^a	2.14 ± 0.06 ^b	2.17 ± 0.06 ^b	< 0.001
Triacilglicerol (mmol/L)	106	1.01 ± 0.05 ^a	0.91 ± 0.05 ^a	0.86 ± 0.04 ^b	0.001
Apolipoproteína A1 (mg/dL)	73	117.14 ± 2.16 ^a	106.64 ± 1.86 ^b	112.79 ± 2.03 ^c	< 0.001
Apolipoproteína B (mg/dL)	73	69.93 ± 2.06 ^a	65.32 ± 2.04 ^b	65.09 ± 2.32 ^b	< 0.001
Relación apoB/apoA1	73	0.62 ± 0.19 ^{a,b}	0.63 ± 0.18 ^a	0.59 ± 0.19 ^b	0.002
Proteína C reactiva (mg/L)	58	3.26 ± 0.43 ^a	2.12 ± 0.23 ^b	2.12 ± 0.20 ^b	0.001

Resultados expresados en medias ± SEM. Las medias con diferente superíndice en las filas son significativamente diferentes, $P < 0.05$ (Modelo lineal general con corrección *post hoc* de Bonferroni). IMC, índice de masa corporal; PDE-IMC, puntuación de desviación estándar del índice de masa corporal; IMG, índice de masa grasa; MLG, masa libre de grasa; TAS, tensión arterial sistólica; TAD, tensión arterial diastólica; HDL, lipoproteína de alta densidad; LDL, lipoproteína de baja densidad; Relación apoB/apoA1, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1.

IV. RESULTADOS

Por otra parte, al comparar los valores basales con los obtenidos a los 6 meses de tratamiento en cada grupo (Figura 20), se ha encontrado que los parámetros clínicos (A) y bioquímicos (B) cambiaron significativamente en el grupo *descenso PDE-IMC > 0.5* ($P < 0.05$). En otras palabras, el grupo que presentó el mayor descenso de PDE-IMC sufrió cambios significativos en los parámetros. Además, los cambios ocurridos en los indicadores antropométricos de adiposidad, tensión arterial diastólica (TAD), colesterol, TAG, LDL e insulina del grupo *descenso PDE-IMC 0.25 – 0.5* fueron significativos ($P < 0.05$).

IV. RESULTADOS

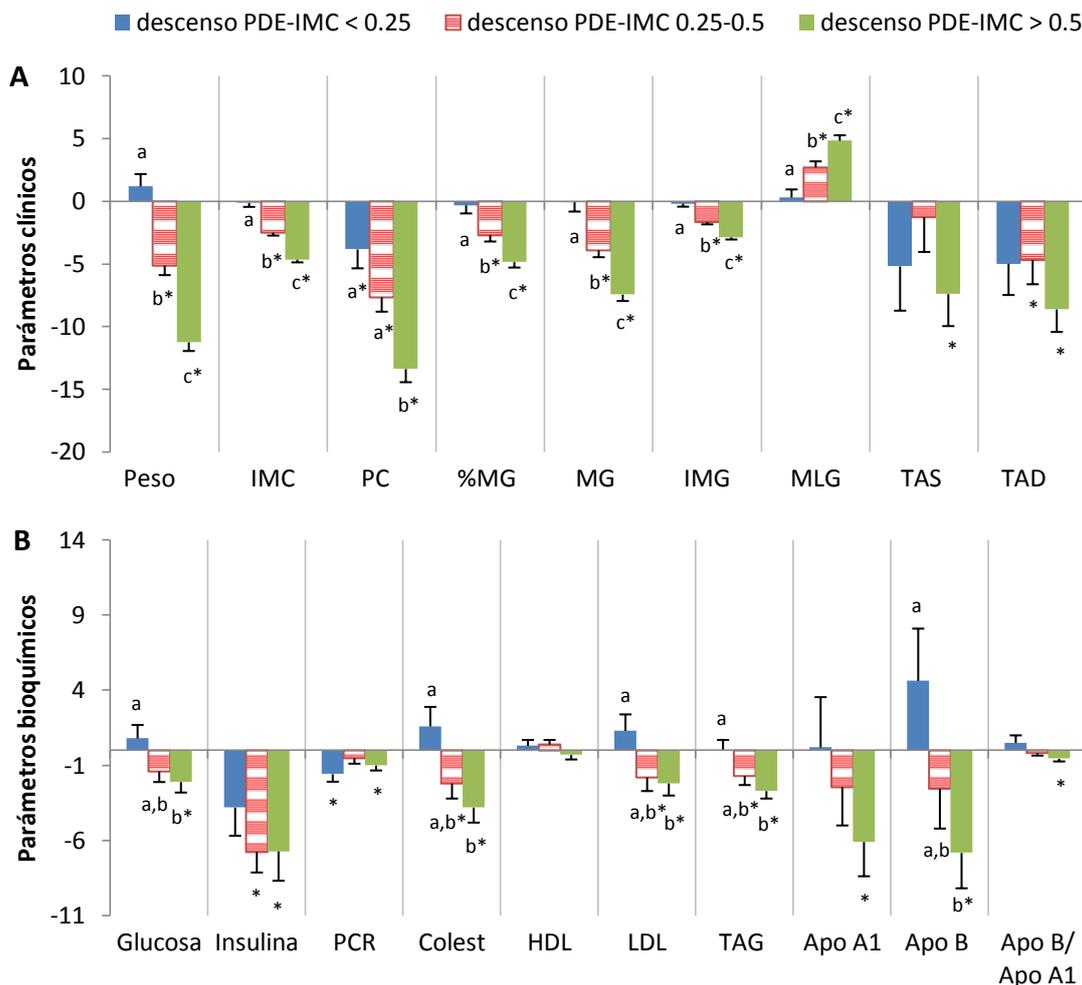


Figura 20. Cambios en los parámetros clínicos (A) y bioquímicos (B) según el grado de pérdida de peso.

Variaciones en los parámetros entre las condiciones basales y los 6 meses de tratamiento definidos por la reducción de la puntuación de desviación estándar del índice de masa corporal (PDE-IMC) a los 6 meses de seguimiento. Resultados expresados en medias \pm DE. Modelos ajustados por edad, sexo, PDE-IMC, estadios de Tanner y las variables correspondientes en condiciones basales. Medias con diferente superíndice en las variables son significativamente diferentes, *diferencias estadísticamente significativas en los cambios a los 6 meses de tratamiento en relación a las condiciones basales, $P < 0.05$ (Modelo lineal general con corrección *post hoc* de Bonferroni). Medias de glucosa, colest, HDL, LDL, TAG, apo B/apo A1 fueron multiplicados por 10. Peso, kg; IMC, índice de masa corporal, kg/m^2 ; PC, perímetro de la cintura, cm; %MG, porcentaje de masa grasa; MG, masa grasa absoluta, kg; IMG, índice de masa grasa, kg/m^2 ; MLG, masa libre de grasa, %; TAS, tensión arterial sistólica, mm Hg; TAD, tensión arterial diastólica, mm Hg; glucosa, mmol/L ; insulina, $\mu\text{UI}/\text{mL}$; PCR, proteína C reactiva, mg/L ; colest, colesterol, mmol/L ; HDL, lipoproteína de alta densidad, mmol/L ; LDL, lipoproteína de baja densidad, mmol/L ; TAG, triacilglicerol, mmol/L ; apo A1, apolipoproteína A1, mg/dL ; apo B, apolipoproteína B, mg/dL ; apo B/apo A1, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1. Antropometría, $n=16/28/34$ para descenso PDE-IMC < 0.25 , descenso PDE-IMC $0.25-0.5$ y descenso PDE-IMC > 0.5 , respectivamente; tensión arterial diastólica y sistólica, $n=15/23/29$; perfil lipídico y glucosa, $n=17/25/33$; insulina $n=6/9/5$; apolipoproteínas y PCR, $n=10/17/29$.

3.2. Ácidos grasos en la adolescencia

Los cambios en la composición plasmática de ácidos grasos durante la intervención son presentados en la Tabla 17. Durante la fase intensiva del tratamiento, los AGS, mirístico y esteárico, disminuyeron significativamente en comparación con los valores basales ($P<0.001$). En contrapartida, los AGMI totales aumentaron, manteniéndose constantes hasta el final de la terapia ($P<0.01$), lo cual coincide con el comportamiento del ácido oleico ($P<0.001$). Con respecto a los AGPI totales, se produjo un descenso, que se mantuvo hasta los 6 meses de intervención ($P<0.05$). Los AGPI n-6 sufrieron una reducción ($P<0.01$), salvo el ácido araquidónico que no experimentó cambios significativos, mientras que los AGPI n-3 (totales, EPA y DHA) aumentaron ($P<0.01$). Los índices empleados para estimar la actividad enzimática, muestran que la actividad de Elovl6 y D6D disminuyó significativamente ($P<0.001$), mientras que SCD-18 y D5D aumentaron ($P<0.001$). Cabe destacar que, en los ácidos grasos C16:0, C17:0 y palmitoleico y en la estimación de la actividad enzimática de SCD-16 no se constataron cambios significativos durante el tratamiento en relación a las condiciones basales.

Durante la etapa final del programa, el C20:1 n-9 aumentó significativamente con respecto a las condiciones iniciales ($P<0.001$). Los ácidos grasos, mirístico, C20:2 n-6, C22:5 n-6, AGPI n-3 totales, EPA, DHA y la actividad enzimática estimada de D5D recuperaron los valores mostrados antes de la aplicación del tratamiento. No obstante, los ácidos esteárico, oleico, C20:3 n-9, AGPI n-6 totales, linoleico, γ -linolénico, C22:4 n-6, la relación AGPI n-6/AGPI n-3 y la actividad enzimática de SCD-18 y D6D mantuvieron los cambios sufridos durante los 2 meses de intervención ($P<0.05$).

IV. RESULTADOS

Tabla 17. Composición plasmática de ácidos grasos de los adolescentes durante el tratamiento.

ÁCIDOS GRASOS	Basal (n = 127)	2 meses (n = 127)	6 meses (n = 50)	P
AGS (%)	29.96 ± 2.14	29.77 ± 1.99	29.52 ± 1.49	>0.05
C14:0	0.59 ± 0.25 ^a	0.47 ± 0.15 ^b	0.50 ± 0.19 ^{a,b}	<0.001
C15:0	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.03	>0.05
C16:0	22.06 ± 1.70 ^{a,b}	22.62 ± 1.52 ^a	22.21 ± 1.63 ^b	<0.05
C17:0	0.22 ± 0.36 ^{a,b}	0.21 ± 0.03 ^a	0.22 ± 0.03 ^b	<0.05
C18:0	6.96 ± 0.74 ^a	6.31 ± 0.66 ^b	6.45 ± 0.74 ^b	<0.001
AGMI (%)	23.30 ± 3.11 ^a	24.28 ± 2.91 ^b	24.28 ± 2.95 ^b	<0.01
C16:1 n-7	1.34 ± 0.43 ^{a,b}	1.37 ± 0.37 ^a	1.26 ± 0.40 ^b	<0.05
C18:1 n-9	21.85 ± 2.92 ^a	22.94 ± 2.84 ^b	22.89 ± 2.75 ^b	<0.001
C20:1 n-9	0.11 ± 0.03 ^a	0.11 ± 0.03 ^a	0.13 ± 0.03 ^b	<0.05
AGPI (%)	46.74 ± 4.04 ^a	45.96 ± 3.83 ^b	46.14 ± 3.56 ^b	<0.05
C20:3 n-9	0.09 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.02 ^b	0.09 ± 0.02 ^b	<0.01
n-6	43.80 ± 4.03 ^a	42.56 ± 3.88 ^b	43.03 ± 3.71 ^b	<0.01
C18:2 n-6	33.83 ± 3.86 ^a	32.97 ± 3.47 ^b	33.16 ± 3.56 ^b	<0.01
C18:3 n-6	0.34 ± 0.12 ^a	0.27 ± 0.11 ^b	0.29 ± 0.09 ^b	<0.01
C20:2 n-6	0.18 ± 0.05 ^a	0.16 ± 0.04 ^b	0.17 ± 0.04 ^{a,b}	<0.01
C20:3 n-6	1.60 ± 0.37 ^a	1.27 ± 0.32 ^b	1.41 ± 0.35 ^c	<0.05
C20:4 n-6	7.36 ± 1.42	7.51 ± 1.51	7.56 ± 1.38	>0.05
C22:4 n-6	0.34 ± 0.11 ^a	0.28 ± 0.24 ^b	0.25 ± 0.11 ^b	<0.01
C22:5 n-6	0.15 ± 0.06 ^a	0.13 ± 0.05 ^b	0.14 ± 0.05 ^{a,b}	<0.001
n-3	2.84 ± 0.89 ^a	3.33 ± 1.08 ^b	3.02 ± 0.96 ^{a,b}	<0.001
C18:3 n-3	0.21 ± 0.07	0.22 ± 0.08	0.21 ± 0.06	>0.05
C20:5 n-3	0.36 ± 0.32 ^a	0.47 ± 0.40 ^b	0.42 ± 0.36 ^{a,b}	<0.01
C22:5 n-3	0.33 ± 0.10	0.35 ± 0.09	0.35 ± 0.11	>0.05
C22:6 n-3	1.94 ± 0.58 ^a	2.28 ± 0.67 ^b	2.04 ± 0.62 ^{a,b}	<0.001
ÍNDICES				
n-6/n-3	16.82 ± 5.39 ^a	15.24 ± 5.17 ^b	15.71 ± 5.13 ^b	<0.05
Elovl6	0.32 ± 0.04 ^a	0.28 ± 0.04 ^b	0.29 ± 0.05 ^c	<0.05
SCD-16	0.06 ± 0.02 ^{a,b}	0.06 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^b	<0.05
SCD-18	3.19 ± 0.63 ^a	3.55 ± 0.70 ^b	3.62 ± 0.84 ^b	<0.001
D5D	4.85 ± 1.47 ^a	5.74 ± 1.85 ^b	5.68 ± 1.77 ^{a,b}	<0.001
D6D	0.01 ± 0.004 ^a	0.008 ± 0.003 ^b	0.009 ± 0.003 ^b	<0.05

Resultados expresados en medias ± DE. Medias con diferente superíndice en las filas son significativamente diferentes, $P < 0.05$ (Modelo lineal general con corrección *post hoc* de Bonferroni). AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados; Elovl6, elongasa-6 de ácidos grasos (C18:0/C16:0); SCD, esteroil-coenzima A desaturasa (SCD-16=C16:1n-7/C16:0 y SCD-18=C18:1n-9/C18:0); D5D, delta-5-desaturasa (C20:4n-6/C20:3n-6); D6D, delta-6-desaturasa (C18:3n-6/C18:2n-6).

IV. RESULTADOS

Al comparar la fase intensiva del tratamiento con la etapa extensiva, se observó que los ácidos palmítico y palmitoleico disminuyeron significativamente ($P<0.05$), y C17:0 y C20:1 n-9 aumentaron ($P<0.05$). Elov16 y C20:3 n-6 aumentaron pero continuaron siendo menores a los valores iniciales ($P<0.05$). La actividad enzimática de la SCD-16 no se vio afectada con respecto a las condiciones basales, sin embargo, se pudo observar una disminución significativa entre los 2 y 6 meses de terapia ($P<0.05$).

La Tabla 18 muestra la asociación entre los cambios de la composición plasmática de ácidos grasos y los cambios observados en la composición corporal y el perfil cardiometabólico de los adolescentes a los 2 meses de tratamiento con respecto a las condiciones iniciales, mientras que en la Tabla 19 se presentan las relaciones a los 6 meses de intervención. Dado que el análisis estadístico de las asociaciones entre variables se realizó empleando las diferencias entre los 2 o 6 meses de tratamiento y los valores basales, sólo se tendrán en cuenta los resultados de los ácidos grasos que experimentaron cambios significativos en dichos períodos. Entre éstos, los de menor importancia nutricional, que no experimentaron relaciones significativas con ninguno de los parámetros de estudio, no se incluyeron en las tablas mencionadas. Así, a los 2 meses de tratamiento, el descenso significativo del ácido mirístico se relacionó con la reducción del porcentaje de masa grasa ($P<0.05$), colesterol ($P<0.001$), TAG ($P<0.001$) y apo B ($P<0.01$), y con el aumento de MLG ($P<0.05$). El cambio significativo de los AGMI totales y del ác. oleico se asoció negativa e independientemente con el peso ($P<0.01$), el IMC ($P<0.05$), la masa grasa absoluta ($P<0.01$) y el índice de masa grasa (IMG) ($P<0.05$). Además, los AGMI se asociaron inversamente con las LDL ($P<0.05$). El descenso significativo sufrido por los AGPI n-6 totales y el ác. linoleico se asoció en forma directa con el peso, masa grasa absoluta ($P<0.01$ y $P<0.05$, respectivamente),

IV. RESULTADOS

IMG ($P<0.05$), HDL ($P<0.01$), LDL ($P<0.01$ y $P<0.05$, respectivamente) y apoA1 ($P<0.05$ y $P<0.01$, respectivamente), e inversamente con los TAG ($P<0.001$). Asimismo, los AGPI n-6 se relacionaron con el IMC ($P<0.05$). El ác. γ -linolénico se asoció fuerte y positivamente con el colesterol, TAG, apo A1 ($P<0.01$), así como con apo B ($P<0.05$).

Con respecto a los índices de ácidos grasos, la reducción significativa de la actividad enzimática estimada de Elovl6 se asoció con el descenso significativo del peso, HDL, LDL y apo A1 ($P<0.05$), mientras que la relación con el cambio de TAG fue inversa ($P<0.05$). El aumento significativo de SCD-18 se asoció a la disminución del peso ($P<0.01$), IMC, masa grasa y IMG ($P<0.05$). El incremento ocurrido en la actividad de la D5D se relacionó de forma negativa con el colesterol total ($P<0.01$) y PCR ($P<0.05$). Por último, el cambio de la actividad de la enzima D6D se asoció significativa y directamente con los cambios de colesterol ($P<0.05$) y los TAG ($P<0.001$).

A los 6 meses de tratamiento (Tabla 19) el cambio significativo ocurrido en el ác. linoleico, con respecto a los valores basales, se relacionó en forma positiva con los cambios de glicemia ($P<0.05$), insulinemia ($P<0.01$) y apo A1 ($P<0.05$). El descenso significativo del ác. γ -linolénico se asoció con la disminución de los TAG ($P<0.05$), mientras que la reducción de los AGPI n-6 totales se relacionó positivamente con la insulina ($P<0.05$) y negativamente con los TAG ($P<0.05$). En lo que respecta a los índices enzimáticos, el cambio de la actividad estimada de D6D se relacionó en forma directa con TAG ($P<0.05$).

Tabla 18. Asociación entre cambios de la composición plasmática de ácidos grasos y cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 2 meses de tratamiento.

COMPOSICIÓN ¹ PLASMÁTICA	Peso ¹	IMC ¹	PDE-IMC ¹	PC ¹	%MG ¹	MG ¹	IMG ¹	MLG ¹	TAS ¹	TAD ¹	GLIC ¹	INSUL ¹	COLEST ¹	HDL ¹	LDL ¹	TAG ¹	ApoA1 ¹	ApoB ¹	ApoB/ApoA ¹	PCR ¹
<i>Ácidos grasos (%)</i>																				
C14:0	0.085	0.081	0.087	0.149	0.272*	0.181	0.193	-0.272*	-0.020	0.124	-0.179	0.510	0.454***	0.225	0.208	0.478***	0.094	0.378**	0.169	-0.086
C18:0	0.115	0.113	0.099	-0.031	-0.009	0.088	0.081	0.009	-0.151	-0.130	-0.028	0.136	0.059	0.154	0.000	-0.050	0.199	0.271	0.093	-0.029
AGMI	-0.316**	-0.242*	-0.188	-0.024	-0.168	-0.336**	-0.293*	0.168	-0.066	0.089	-0.086	0.352	-0.143	-0.240	-0.219*	0.210	-0.234	-0.105	0.069	0.038
C18:1 n-9	-0.312**	-0.235*	-0.180	0.799	-0.167	-0.328**	-0.285*	0.167	-0.069	0.077	-0.074	0.356	-0.152	-0.237	-0.216	0.206	-0.242	-0.125	0.064	0.032
AGPI n-6	0.326**	0.242*	0.196	0.043	0.178	0.360**	0.313*	-0.178	0.058	-0.143	0.154	-0.313	0.159	0.304**	0.291**	-0.447***	0.329*	0.024	-0.131	-0.253
C18:2 n-6	0.276*	0.180	0.140	0.033	0.135	0.296*	0.248*	-0.135	0.047	-0.116	0.171	-0.248	0.189	0.359**	0.270*	-0.391***	0.390**	0.048	-0.156	-0.176
C18:3 n-6	0.139	0.132	0.053	-0.141	0.105	0.138	0.137	-0.105	0.138	0.146	-0.149	0.313	0.330**	0.219	0.148	0.362**	0.337**	0.275*	-0.021	0.080
AGPI n-3	0.075	0.074	0.033	-0.108	-0.063	0.005	-0.010	0.063	0.219	0.192	-0.085	-0.287	0.014	-0.162	0.092	-0.003	-0.173	-0.101	-0.005	-0.038
C20:5 n-3	0.065	0.079	0.004	-0.169	-0.079	-0.015	-0.012	0.079	0.232	0.230	-0.158	-0.202	0.006	-0.075	0.018	0.010	-0.079	-0.157	-0.089	0.109
C22:6 n-3	0.075	0.050	0.038	-0.030	-0.048	0.017	-0.018	0.048	0.209	0.117	0.014	-0.400	-0.010	-0.198	0.128	-0.067	-0.223	-0.068	0.060	-0.151
<i>Índices</i>																				
Elov6	0.225*	0.188	0.162	-0.057	-0.006	0.183	0.151	0.006	-0.080	-0.152	0.043	0.126	0.182	0.273*	0.229*	-0.254*	0.320*	0.156	-0.005	-0.052
SCD-18	-0.289**	-0.242*	-0.190	0.006	-0.125	-0.289*	-0.259*	0.125	0.036	0.115	-0.035	0.091	-0.168	-0.205	-0.168	0.203	-0.224	-0.226	-0.026	0.199
D5D	-0.167	-0.156	-0.123	0.012	-0.098	-0.152	-0.159	0.098	0.007	0.031	-0.066	-0.358	-0.354**	-0.169	-0.201	-0.206	-0.200	-0.262	-0.068	-0.274*
D6D	0.039	0.060	0.003	-0.143	0.052	0.034	0.050	-0.052	0.124	0.185	-0.181	0.363	0.247*	0.108	0.052	0.445***	0.226	0.252	0.015	0.109

Coefficientes de regresión estandarizados ajustados por edad, sexo, estadios de Tanner y PDE-IMC basales, grado de actividad física e ingesta energética; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). ¹Cambios en parámetros entre las condiciones basales y 2 meses de tratamiento. Peso, kg, n=72; IMC, índice de masa corporal, kg/m², n=71; PDE-IMC, puntuación de desviación estándar del IMC, n=71; PC, perímetro de la cintura, cm, n=73; %MG, porcentaje de masa grasa, n=72; MG, masa grasa absoluta, kg, n=71; IMG, índice de masa grasa, kg/m², n=70; MLG, masa libre de grasa, %, n=72; TAS, tensión arterial sistólica, mm Hg, n=62; TAD, tensión arterial diastólica, mm Hg, n=62; GLIC, glicemia, mmol/L, n=84; INSUL, insulinemia, μUI/mL, 19; COLEST, colesterolemia, mmol/L, n=84; HDL, lipoproteína de alta densidad, mmol/L, n=82; LDL, lipoproteína de baja densidad, mmol/L, n=83; TAG, triacilglicerol, mmol/L, n=84; ApoA1, apolipoproteína A1, mg/dL, n=55; ApoB, apolipoproteína B, mg/dL, n=55; ApoB/ApoA, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1, n=55; PCR, proteína C reactiva, mg/L, n=55; AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados; Elov6, elongasa-6 de ácidos grasos (C18:0/C16:0); SCD, estearoil-coenzima A desaturasa (SCD-16=C16:1n-7/C16:0 y SCD-18=C18:1n-9/C18:0); D5D, delta-5-desaturasa (C20:4n-6/C20:3n-6); D6D, delta-6-desaturasa (C18:3n-6/C18:2n-6).

IV. RESULTADOS

El grado de pérdida de peso sufrido por los adolescentes durante el programa propuesto, se ha determinado por medio de la reducción de PDE-IMC. En la Figura 21 se presentan los cambios en la composición de ácidos grasos y en la actividad enzimática estimada definidos en función del descenso de PDE-IMC a los 6 meses de tratamiento. Los adolescentes fueron divididos en 3 grupos (descenso PDE-IMC <0.25, descenso PDE-IMC 0.25-0.5 y descenso PDE-IMC >0.5) según los cambios de PDE-IMC ocurridos entre los 6 meses de intervención y las condiciones basales. En el grupo *descenso PDE-IMC >0.5* tuvieron lugar la mayoría de los cambios significativos de la composición plasmática de ácidos grasos y de los índices enzimáticos. Al comparar los tres grupos de pérdida de peso, se observó que el descenso de los ác. mirístico ($P=0.017$) y γ -linolénico ($P=0.047$) y de la actividad estimada de D6D ($P=0.039$) fue significativamente mayor en el grupo *descenso PDE-IMC >0.5* en comparación con el grupo *PDE-IMC 0.25-0.5*.

Por otra parte, al analizar los cambios ocurridos dentro de un mismo grupo (entre los 6 meses de tratamiento y las condiciones basales), se constató un aumento significativo del C15:0 en el grupo *PDE-IMC <0.25* ($P=0.006$), mientras que la mayor pérdida de peso ocurrida en los adolescentes (grupo *PDE-IMC >0.5*) se relacionó con un aumento significativo de los AGMI totales ($P=0.001$) y ác. oleico ($P=0.018$), y con el descenso del ác. esteárico ($P=0.001$) (Figura 21A), AGPI n-6 totales ($P=0.014$), ác. linoleico ($P=0.018$) y ác. γ -linolénico ($P=0.013$) (Figura 21B). En lo que respecta a la actividad enzimática (Figura 21C), en los grupos *PDE-IMC <0.25* y *PDE-IMC >0.5* se produjo un descenso significativo de la Elov16 ($P=0.041$ y $P<0.001$, respectivamente). Además, en el grupo *PDE-IMC >0.5* tuvo lugar un aumento significativo de SCD-18 ($P<0.001$), D5D ($P=0.034$) y una disminución significativa de D6D ($P=0.046$).

Tabla 19. Asociación entre cambios de la composición plasmática de ácidos grasos y cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 6 meses de tratamiento.

COMPOSICIÓN ¹ PLASMÁTICA	Peso ¹	IMC ¹	PDE-IMC ¹	PC ¹	%MG ¹	MG ¹	IMG ¹	MLG ¹	TAS ¹	TAD ¹	GLIC ¹	INSUL ¹	COLEST ¹	HDL ¹	LDL ¹	TAG ¹	ApoA1 ¹	ApoB ¹	ApoB/ApoA ¹	PCR ¹
<i>Ácidos grasos (%)</i>																				
C18:0	-0.098	-0.068	0.021	0.002	0.003	-0.084	-0.061	-0.003	-0.067	-0.209	-0.118	0.251	0.088	0.299	0.060	-0.055	-0.104	-0.130	-0.012	-0.358
AGMI	-0.005	0.009	-0.081	-0.126	-0.075	-0.016	0.011	0.075	0.088	-0.084	-0.147	-0.520	-0.138	-0.114	-0.312	0.300	0.097	-0.233	-0.255	0.143
C18:1 n-9	-0.049	-0.030	-0.117	-0.167	-0.105	-0.061	-0.031	0.105	0.089	-0.098	-0.111	-0.507	-0.145	-0.093	-0.300	0.234	0.131	-0.251	-0.287	0.141
AGPI n-6	0.059	0.076	0.074	0.136	0.171	0.120	0.122	-0.171	-0.031	0.160	0.253	0.686*	0.167	0.175	0.322	-0.369*	0.305	0.198	-0.002	-0.215
C18:2 n-6	0.123	0.132	0.097	0.160	0.241	0.202	0.205	-0.241	-0.031	0.127	0.340*	0.836**	0.220	0.300	0.323	-0.321	0.488*	0.101	-0.188	-0.231
C18:3 n-6	0.036	0.078	0.052	-0.017	0.078	0.066	0.092	-0.078	0.231	0.160	-0.191	0.409	0.208	0.128	0.028	0.338*	-0.027	0.064	0.039	-0.356
<i>Índices</i>																				
Elovl6	-0.122	-0.063	0.001	-0.060	0.041	-0.081	-0.040	-0.041	0.027	-0.044	-0.072	0.589	0.093	0.243	0.087	-0.158	0.116	-0.095	-0.093	-0.158
SCD-18	0.019	-0.004	-0.087	-0.088	-0.075	-0.002	-0.008	0.075	0.114	0.043	0.024	-0.527	-0.121	-0.134	-0.193	0.144	0.166	-0.100	-0.189	0.298
D6D	-0.009	0.035	0.027	-0.047	0.020	0.006	0.035	-0.020	0.236	0.130	-0.063	0.304	0.129	0.050	-0.054	0.345*	-0.120	0.024	0.060	-0.309

Coeficientes de regresión estandarizados ajustados por edad, sexo, estadios de Tanner y PDE-IMC basales, grado de actividad física e ingesta energética, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Modelo de regresión lineal). ¹Cambios en parámetros entre las condiciones basales y 6 meses de tratamiento. Peso, kg, n=41; IMC, índice de masa corporal, kg/m², n=40; PDE-IMC, puntuación de desviación estándar del IMC, n=40; PC, perímetro de la cintura, cm, n=41; %MG, porcentaje de masa grasa, n=41; MG, masa grasa absoluta, kg, n=39; IMG, índice de masa grasa, kg/m², n=39; MLG, masa libre de grasa, %, n=41; TAS, tensión arterial sistólica, mm Hg, n=39; TAD, tensión arterial diastólica, mm Hg, n=39; GLIC, glicemia, mmol/L, n=41; INSUL, insulinemia, μU/ml, n=41; COLEST, colesterolemia, mmol/L, n=41; HDL, lipoproteína de alta densidad, mmol/L, n=40; LDL, lipoproteína de baja densidad, mmol/L, n=40; TAG, triacilglicerol, mmol/L, n=41; ApoA1, apolipoproteína A1, mg/dL, n=29; ApoB, apolipoproteína B, mg/dL, n=29; ApoB/ApoA, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1, n=29; PCR, proteína C reactiva, mg/L, n=29; AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados; Elovl6, elongasa-6 de ácidos grasos (C18:0/C16:0); SCD, esteroil-coenzima A desaturasa (SCD-16=C16:1n-7/C16:0 y SCD-18=C18:1n-9/C18:0); D5D, delta-5-desaturasa (C20:4n-6/C20:3n-6); D6D, delta-6-desaturasa (C18:3n-6/C18:2n-6).

IV. RESULTADOS

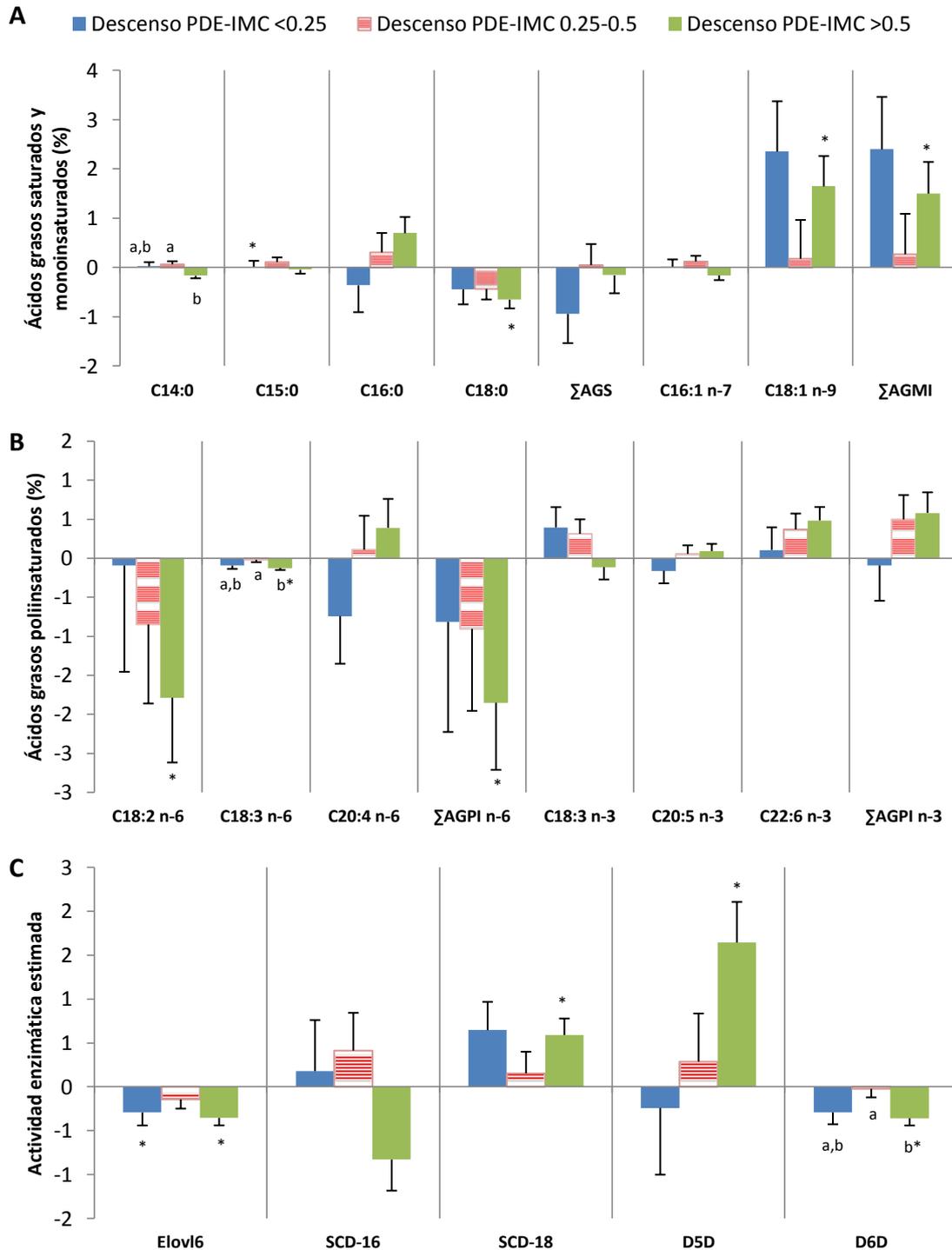


Figura 21. Cambios de la composición plasmática de ácidos grasos (A, B) y de la actividad enzimática estimada (C) según grado de pérdida de peso.

Variaciones en los parámetros entre las condiciones basales y los 6 meses de tratamiento definidos por la reducción de la puntuación de desviación estándar del índice de masa corporal (PDE-IMC) a los 6 meses de seguimiento. Resultados expresados en medias \pm DE. Modelos ajustados por edad, sexo, PDE-IMC, estadios de Tanner y las variables correspondientes en condiciones basales, grado de actividad física e ingesta energética. Medias con diferente superíndice (letras) en las variables son significativamente diferentes (indican las diferencias entre los tres grupos de pérdida de peso en una misma variable), *diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones basales y los valores a los 6 meses de tratamiento dentro de cada grupo de pérdida de peso, $P < 0.05$ (Modelo lineal general con corrección *post hoc* de Bonferroni). Medias de C15:0, C18:3 n-3 y Elov6 fueron multiplicadas por 10, y medias de SCD-16 y D6D por 100. AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados; Elov6, elongasa-6 de ácidos grasos (C18:0/C16:0); SCD, esteroil-coenzima A desaturasa (SCD-16=C16:1n-7/C16:0 y SCD-18=C18:1n-9/C18:0); D5D, delta-5-desaturasa (C20:4n-6/C20:3n-6); D6D, delta-6-desaturasa (C18:3n-6/C18:2n-6). N = 7/11/22 para descenso PDE-IMC <math><0.25</math>, descenso PDE-IMC 0.25-0.5 y descenso PDE-IMC >0.5, respectivamente.

3.3. Vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides en la adolescencia

Los cambios de α -tocoferol, retinol, β -caroteno y licopeno plasmáticos ocurridos durante el programa son presentados en la Figura 22. Los valores de α -tocoferol, retinol, β -caroteno y licopeno han sido expresados con y sin corrección por los lípidos plasmáticos, dividiendo la concentración por la suma de colesterol y TAG. Se ha observado que el retinol corregido por lípidos (CL) aumentó significativamente a los 2 meses de la intervención ($P<0.05$) (Figura 22B), mientras que β -caroteno CL ($P=0.001$) (Figura 22D) y α -tocoferol CL ($P<0.001$) (Figura 22A) fueron significativamente mayores en la etapa final del tratamiento. Los cambios plasmáticos de retinol CL ocurridos durante la fase intensiva de la intervención, fueron acompañados por la subsecuente recuperación de los valores iniciales. En contrapartida, el licopeno CL no sufrió cambios significativos durante la terapia.

La Tabla 20 muestra las asociaciones entre los cambios en la concentración, corregida por lípidos, de vitaminas antioxidantes y carotenoides y los cambios de los parámetros clínicos y bioquímicos a los 2 meses de tratamiento en relación a los valores iniciales, mientras que la Tabla 21 corresponde a los 6 meses del programa. Como se ha observado en la Figura 22B, los cambios en el retinol CL fueron significativos a los 2 meses de intervención. Así, el aumento en el retinol CL se asoció fuertemente con los cambios de peso ($P<0.01$), IMC ($P<0.01$), PDE-IMC ($P<0.01$), colesterol ($P<0.001$), TAG ($P<0.001$), LDL ($P<0.01$) y apo B ($P<0.01$). A los 6 meses de tratamiento (Tabla 21), cuando los cambios en dicho nutriente no fueron significativos, se observó que el retinol CL también se asoció negativamente con el IMG ($P<0.05$).

IV. RESULTADOS

Como se ha mostrado, los cambios en la concentración de α -tocoferol CL y β -caroteno CL fueron significativos a los 6 meses de intervención (Figura 22A y D, respectivamente). Así, en la Tabla 21 se observa que el aumento ocurrido en el α -tocoferol CL se relacionó en forma independiente e inversa con el peso ($P<0.05$), IMC ($P<0.05$), PDE-IMC ($P<0.05$), masa grasa ($P<0.01$), IMG ($P<0.05$), colesterol ($P<0.001$), LDL ($P<0.05$), TAG ($P<0.001$) y apo B ($P<0.05$). Contrariamente, la relación observada con la MLG fue positiva ($P<0.01$). La concentración de β -caroteno CL mostró una asociación negativa con insulina ($P<0.01$), HDL ($P<0.05$) y colesterol ($P<0.05$). A los 2 meses, cuando los cambios sufridos por el β -caroteno durante el programa no fueron significativos, no se observó relación con ninguna de las variables de estudio.

En la Figura 23 se presentan los cambios ocurridos en las vitaminas liposolubles y carotenoides de acuerdo al grado de pérdida de peso de los adolescentes. Se observó que la concentración CL de retinol fue mayor en el grupo *descenso PDE-IMC > 0.5* ($P<0.05$) en comparación con el grupo de menor pérdida de peso. Por otra parte, al analizar en forma independiente los cambios ocurridos, entre las condiciones basales y finales (6 meses), dentro de cada grupo, se constató que el β -caroteno CL aumentó significativamente en el grupo *descenso PDE-IMC > 0.5* ($P<0.05$). Asimismo, el α -tocoferol CL aumentó en dicho grupo y en el de pérdida de peso intermedia (*descenso PDE-IMC 0.25-0.5*).

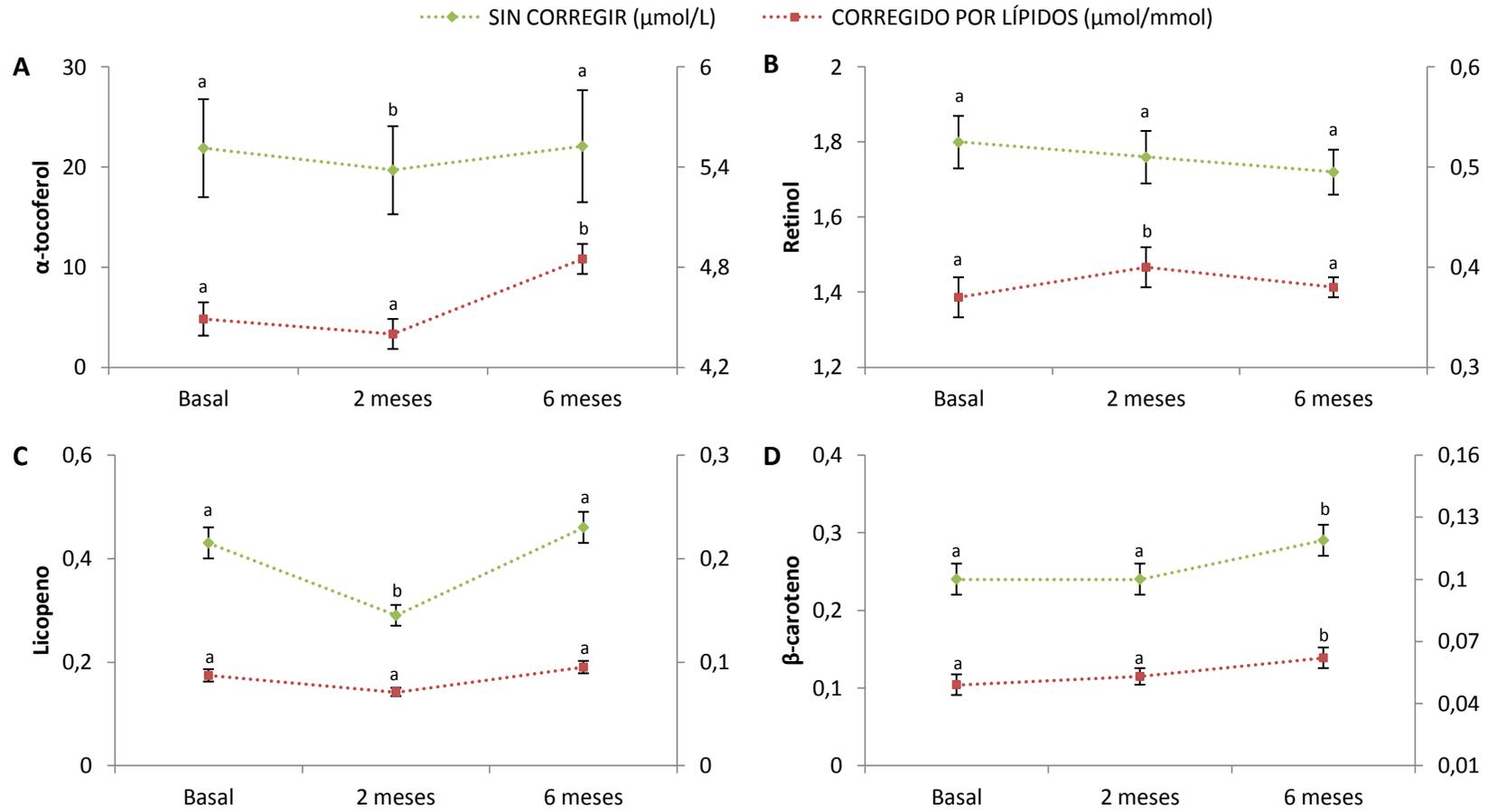


Figura 22. Cambios en vitaminas liposolubles antioxidantes (A, B) y carotenoides (C, D) plasmáticos durante el tratamiento.

Resultados expresados en medias \pm DE. Las escalas utilizadas para los diferentes parámetros son: α -tocoferol 0-30, α -tocoferol corregido por lípidos 4-6, retinol 1.2-2, retinol corregido por lípidos 0.3-0.6, licopeno 0-0.6, licopeno corregido por lípidos 0-0.3, β -caroteno 0-0.4 y β -caroteno corregido por lípidos 0.01-0.16. Las medias con diferente superíndice en una fila son significativamente diferentes, $P < 0.05$ (Modelo general lineal con corrección post hoc de Bonferroni). α -tocoferol, $n=103$; α -tocoferol corregido por lípidos, $n=85$; retinol, $n=103$; retinol corregido por lípidos, $n=85$; licopeno, $n=102$; licopeno corregido por lípidos, $n=84$; β -caroteno, $n=101$; β -caroteno corregido por lípidos, $n=83$.

IV. RESULTADOS

Tabla 20. Asociación entre los cambios plasmáticos de la concentración corregida por lípidos de vitaminas antioxidantes y carotenoides y los cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 2 meses de tratamiento.

PARÁMETROS ¹	α -tocoferol ¹	Retinol ¹	β -caroteno ¹
<i>Clínicos</i>			
Peso (kg)	-0.146	-0.285**	0.005
IMC (kg/m ²)	-0.158	-0.302**	0.027
PDE-IMC	-0.139	-0.249**	-0.008
PC (cm)	0.055	0.010	-0.025
Masa grasa (%)	-0.251*	-0.019	-0.116
Masa grasa (kg)	-0.219	-0.103	-0.015
IMG (kg/m ²)	-0.245*	-0.133	-0.047
MLG (%)	0.251*	0.019	0.116
TAS (mm Hg)	-0.001	0.188	0.002
TAD (mm Hg)	0.202	0.074	-0.100
<i>Bioquímicos</i>			
Glucosa (mmol/L)	0.149	0.004	0.015
Insulina (μ UI/mL)	0.015	0.335	-0.290
Colesterol (mmol/L)	-0.254*	-0.440***	-0.043
HDL (mmol/L)	0.022	0.029	-0.192
LDL (mmol/L)	-0.181	-0.322**	0.042
TAG (mmol/L)	-0.245*	-0.404***	-0.009
ApoA1 (mg/dL)	-0.098	-0.070	0.005
ApoB (mg/dL)	-0.131	-0.367**	0.027
ApoB/apoA1	-0.042	0.006	0.018
PCR (mg/L)	0.232	-0.094	-0.042

Coefficientes de regresión estandarizados, ajustados por edad, sexo, PDE-IMC y estadíos de Tanner basales, ingesta energética y grado de actividad física; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (modelo de regresión lineal). ¹ Cambios en los parámetros entre las condiciones basales y los 2 meses de tratamiento. IMC, índice de masa corporal, n=83; PDE-IMC, puntuación de desviación estándar del IMC, n=85; PC, perímetro de la cintura, n=87; IMG, índice de masa grasa, n=78; MLG, masa libre de grasa, n=80; TAS, tensión arterial sistólica, n=74; TAD, tensión arterial diastólica, n=74; HDL, lipoproteína de alta densidad, n=96; LDL, lipoproteína de baja densidad, n=97; TAG, triacilglicerol, n=98; ApoA1, apolipoproteína A1, n=65; ApoB, apolipoproteína B, n=65; ApoB/ApoA1, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1, n=64; PCR, proteína C reactiva, n=65. Peso, n=86; porcentaje de masa grasa, n=80; kg de masa grasa, n=79; glucosa, n=98; colesterol, n=98; insulina, n=20.

IV. RESULTADOS

Tabla 21. Asociación entre los cambios plasmáticos de la concentración corregida por lípidos de vitaminas antioxidantes y carotenoides y los cambios de parámetros clínicos y bioquímicos a los 6 meses de tratamiento.

PARÁMETROS ¹	α -tocoferol ¹	Retinol ¹	β -caroteno ¹
Clínicos			
Peso (kg)	-0.227*	-0.277*	-0.057
IMC (kg/m ²)	-0.240*	-0.336**	-0.088
PDE-IMC	-0.255*	-0.280**	-0.089
PC (cm)	-0.150	-0.056	0.045
Masa grasa (%)	-0.321**	-0.154	-0.198
Masa grasa (kg)	-0.290*	-0.192	-0.115
IMG (kg/m ²)	-0.289*	-0.241*	-0.160
MLG (%)	0.321**	0.154	0.198
TAS (mm Hg)	0.035	0.149	0.170
TAD (mm Hg)	0.083	-0.013	0.218
Bioquímicos			
Glucosa (mmol/L)	0.035	0.045	-0.062
Insulina (μ UI/mL)	-0.029	0.029	-0.483*
Colesterol (mmol/L)	-0.359***	-0.359***	-0.251*
HDL (mmol/L)	-0.045	-0.129	-0.331**
LDL (mmol/L)	-0.271*	-0.299**	-0.204
TAG (mmol/L)	-0.393***	-0.266*	0.028
ApoA1 (mg/dL)	-0.050	-0.057	-0.193
ApoB (mg/dL)	-0.328*	-0.242	-0.163
ApoB/apoA1	0.054	0.131	0.040
PCR (mg/L)	0.075	0.044	-0.025

Coefficientes de regresión estandarizados ajustados por edad, sexo, PDE-IMC y estadios de Tanner basales, ingesta energética y grado de actividad física; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (modelo de regresión lineal). ¹Cambios en los parámetros entre las condiciones basales y los 6 meses de tratamiento. IMC, índice de masa corporal, n=79; PDE-IMC, puntuación de desviación estándar del IMC, n=79; PC, perímetro de la cintura, n=83; IMG, índice de masa grasa, n=76; MLG, masa libre de grasa, n=79; TAS, tensión arterial sistólica, n=71; TAD, tensión arterial diastólica, n=70; HDL, lipoproteína de alta densidad, n=81; LDL, lipoproteína de baja densidad, n=81; TAG, triacilglicerol, n=83; ApoA1, apolipoproteína A1, n=62; ApoB, apolipoproteína B, n=62; ApoB/ApoA1, relación apolipoproteína B/apolipoproteína A1, n=61; PCR, proteína C reactiva, n=62. Peso, n=80; porcentaje de masa grasa, n=79; kg de masa grasa, n=76; glucosa, n=83; colesterol, n=83; insulina, n=20.

IV. RESULTADOS

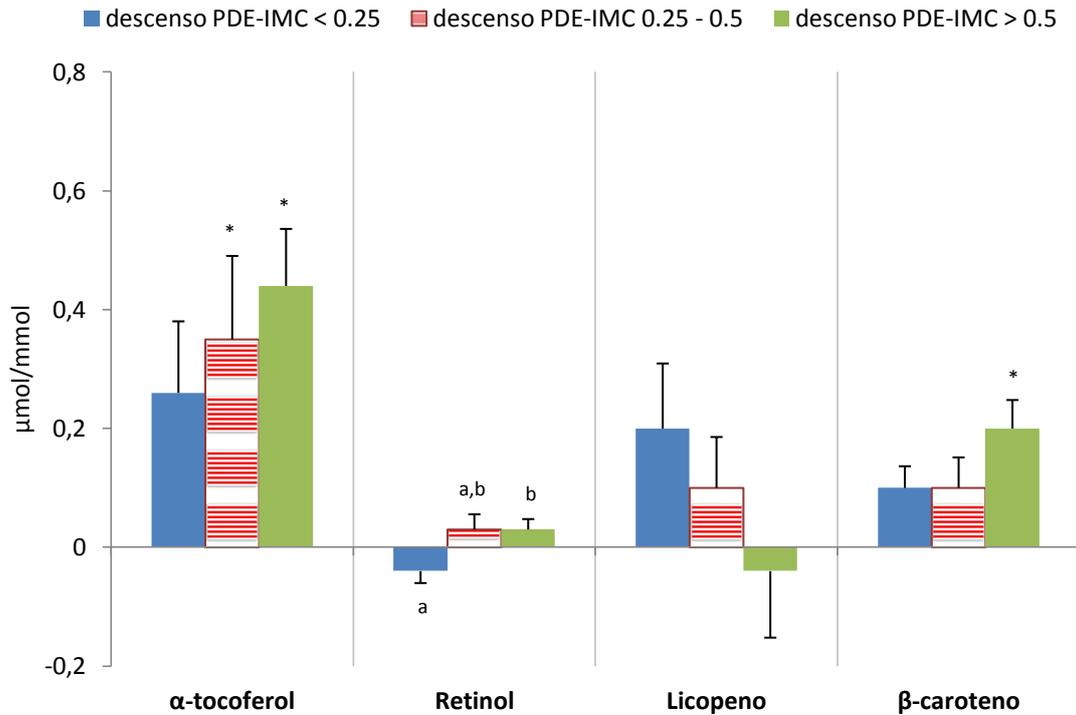


Figura 23. Cambios en la concentración corregida por lípidos de vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides según el grado de pérdida de peso.

Variaciones en los parámetros entre las condiciones basales y los 6 meses de tratamiento definidos por la reducción de la puntuación de desviación estándar del índice de masa corporal (PDE-IMC) a los 6 meses de seguimiento. Resultados expresados en medias \pm DE. Los modelos fueron ajustados por edad, sexo, PDE-IMC, estadios de Tanner y las vitaminas o carotenoides correspondientes en condiciones basales, ingesta energética y grado de actividad física. Medias con diferente superíndice en las variables indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de PDE-IMC, *diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones basales y los valores a los 6 meses de tratamiento (en un mismo grupo), $P < 0.05$ (Modelo lineal general con corrección *post hoc* de Bonferroni). Medias de licopeno y β -caroteno fueron multiplicadas por 10. α -tocoferol y retinol, $n=17/26/34$ (para descenso PDE-IMC <0.25, descenso PDE-IMC 0.25-0.5 y descenso PDE-IMC >0.5, respectivamente); licopeno, $n=17/26/33$; β -caroteno, $n=15/26/34$.

DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

1. MÉTODO UHPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES Y CAROTENOIDES

El disponer de métodos analíticos adecuados, a los objetivos de una investigación, es un requisito indispensable para el éxito de la misma. Por ello, el primer paso, para llevar a cabo esta tesis, fue desarrollar y validar un método cromatográfico para la determinación de vitamina E, vitamina A, β -caroteno y licopeno.

A tales efectos, la meta planteada fue obtener un método práctico, que proporcionara resultados fiables y, por tanto, repetitivos y reproducibles, siempre de la forma más sencilla y rápida posible. Se procuró que se pudiera aplicar a un número elevado de muestras, con tiempos reducidos de análisis cromatográfico y de preparación experimental, y que permitiera determinar en forma simultánea tanto vitaminas antioxidantes como carotenoides plasmáticos, con la aplicación de un único método de detección. Todo ello, con la finalidad de que sea adecuado para la aplicación en la rutina clínica.

El método UHPLC que se ha puesto a punto se basa en el propuesto por Gimeno et al. [232] para la determinación simultánea de retinol, α -tocoferol y β -caroteno en plasma humano y lipoproteínas de baja densidad por HPLC. Este último, es un método directo, que no requiere la saponificación previa de las muestras de plasma, en el que se realiza la desproteinización de las mismas utilizando etanol, que contiene los patrones internos, y posteriormente se procede a la extracción con hexano, el cual se evapora,

V. DISCUSIÓN

redisolviéndose el extracto en metanol. Para la separación cromatográfica se utiliza una columna de HPLC (150 cm, 5 μm de tamaño de partícula) de fase reversa con un gradiente lineal de metanol-agua-butanol a una temperatura de 45°C. La detección y cuantificación simultánea, de las vitaminas y β -caroteno, se realiza con PDA a las longitudes óptimas de absorción de cada analito, siendo el tiempo total de análisis de 15 minutos.

Para adaptar dicho método al finalmente puesto a punto y validado, que fue utilizado para el análisis de todas las muestras de plasma de esta tesis doctoral, se realizaron diversas modificaciones. Por un lado, se procedió a la optimización de la preparación de la muestra y, por otro lado, se optimizaron las condiciones cromatográficas.

El método validado en la presente tesis, parte de una preparación de muestra que evita la etapa de saponificación, utilizada en varios estudios [138], lo que previene las subsecuentes pérdidas de los analitos por oxidación y calor, y aporta comodidad, sencillez y ahorro de tiempo. Durante la optimización, se estudiaron el tipo y cantidad de disolventes a emplear para la desproteización de las muestras. Dado que, en nuestro grupo de investigación ya se había demostrado que etanol y acetonitrilo tienen la misma capacidad precipitando proteínas [207], se escogió el primero por ser el más económico. Al igual que Gimeno et al. [232], la extracción fue efectuada con hexano, el cual es el solvente comúnmente utilizado en diversos estudios [198,199,201]. También se probaron distintos disolventes para la redisolución final de la muestra, previa a su inyección, siendo la mezcla DCM:MeOH (2:1) la más adecuada. Asimismo, se logró disminuir el volumen del disolvente de reconstitución de 150 μL a 50 μL , lo que representa una reducción del 67%.

V. DISCUSIÓN

Desde el punto de vista cromatográfico, la puesta a punto del método, consistió fundamentalmente en pasar de las condiciones de HPLC a UHPLC. Se empleó una columna, también de fase reversa, pero con tamaño de partícula de 1.7 μm y 50 mm de longitud, la cual requiere la utilización de un sistema cromatográfico UHPLC que permita soportar las altas presiones de la misma. En cuanto a la fase móvil, se probaron distintos disolventes y sus mezclas, con y sin gradiente, eligiéndose, finalmente, el metanol como único solvente. Las pruebas efectuadas con acetonitrilo (es el solvente de elección en UHPLC) y sus mezclas, aunque generaban menores presiones, retrasaban demasiado el tiempo de elución de los carotenoides. A diferencia de Gimeno et al. [232], se utilizó un método isocrático, lo cual constituyó una ventaja, ya que no requiere estabilización de la columna antes de cada inyección, permitiendo acortar el tiempo de análisis y obtener tiempos de retención muy estables. También se optimizó el flujo de la fase móvil y la temperatura de la columna. Con un flujo de 0.6 mL/min y una temperatura de 30°C, se logró alcanzar un buen compromiso entre la rapidez y la resolución cromatográfica de todos los picos de los analitos de interés. Por otra parte, 3 μL fue el volumen de inyección más adecuado a efectos de la detección y cuantificación de picos, y la capacidad de carga de la columna, siendo el tiempo de inyección de 3 minutos, lo que conlleva un descenso del 97% y 80%, respectivamente, en relación a los requeridos en el método anterior. Considerando el flujo de disolvente y el tiempo de inyección empleados, se pudo determinar que el método actual permite un ahorro del 91% de fase móvil por inyección.

En cuanto al sistema de detección, el detector de fotodiodos fue el escogido, ya que permite la identificación de varios compuestos en una misma inyección por medición

V. DISCUSIÓN

simultánea de la absorbancia a varias longitudes de onda. Si bien, los tocoferoles son identificados con mayor selectividad y sensibilidad por fluorescencia [207], el análisis de isómeros del α -tocoferol no está dentro de los objetivos de esta tesis, por lo que no se justifica el uso de ésta técnica. Debido a ello y teniendo en cuenta que con la detección espectrofotométrica todos los compuestos de interés son determinados con una selectividad y sensibilidad adecuadas, a diferencia de otros métodos [199,201], se optó por emplear una metodología más sencilla y práctica que sólo utilizara un método de detección.

El método ha sido validado en términos de linealidad, sensibilidad, precisión y exactitud. Dentro del rango de concentración examinado para todos los analitos, se observó una buena linealidad, con coeficientes de determinación elevados. Los resultados de recuperación obtenidos, coincidieron con los valores hallados por otros autores [208]. Además, el método demostró ser preciso, ya que los coeficientes de variación para la repetitividad, resultaron inferiores a 5% y, para la reproducibilidad, menores a 7%. Dados los bajos límites de detección y cuantificación obtenidos, el volumen de muestra se pudo rebajar de 1000 μ L a 300 μ L, lo que representó una reducción del 70%, empleándose 500 μ L en el caso de muestras de cordón umbilical (reducción del 50%). Los LOD y LOQ fueron menores para el retinol y similares para el α -tocoferol en comparación con otros métodos por UHPLC [195]. Mientras que en relación a aquellos que emplean un sistema HPLC, los valores de LOD indicados en esta tesis resultaron menores en todos los analitos [198] o similares en LOD y LOQ para β -caroteno y licopeno [201].

En suma, se considera que el método desarrollado proporciona una herramienta rápida y útil para la evaluación simultánea y rutinaria de las vitaminas liposolubles y carotenoides antioxidantes más relevantes en la salud humana. La preparación de la muestra es simple, ya que no requiere de técnicas sofisticadas, ni de gran variedad de reactivos o equipos. La técnica cromatográfica por UHPLC permite el ahorro de solventes y de tiempo, lo que repercute en un menor tiempo de espera de las muestras en el inyector, antes de ser analizadas, lo que ayudaría a evitar su degradación u oxidación.

2. ETAPA GESTACIONAL

2.1. Ácidos grasos en la etapa gestacional

Durante el embarazo, las madres experimentan cambios anatómicos y metabólicos orientados a apoyar el crecimiento y desarrollo fetal [76]. De la misma manera, los lípidos sufren modificaciones que dependen de la etapa gestacional a la que se refiera. En el tercer trimestre, aumenta la movilización de ácidos grasos desde las reservas grasas a la circulación materna [76] y los lípidos se acumulan rápidamente en el tejido adiposo y el cerebro fetal [103]. El depósito de grasas en el feto aumenta exponencialmente con la edad gestacional, alcanzando su tasa máxima justo antes del término [103]. En la presente tesis doctoral, se observó que la proporción de ácidos grasos maternos cambió durante el período de estudio, ocurriendo las principales modificaciones a las 34 semanas de gestación. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede pensar que durante el último trimestre de gestación se produce un incremento de la movilización de los ácidos palmítico, palmitoleico, oleico y C20:3 n-9,

V. DISCUSIÓN

lo cual coincide con los resultados descritos por Wadhvani et al. [233], salvo para el C20:3 n-9 que no fue estudiado por ellos. Esto era de esperar, ya que en el organismo, los lípidos son almacenados en el tejido adiposo, principalmente en las formas saturadas, como el ácido palmítico [4]. Además, el ácido palmitoleico ha sido vinculado a la adiposidad corporal [62], y el ácido oleico es un componente importante de los fosfolípidos de las membranas cerebrales [234]. Por otra parte, el hecho que los AGPI-CL n-3 no hayan variado significativamente sugiere que se requiere un aporte constante durante el final del segundo trimestre y todo el tercer trimestre para satisfacer las demandas fetales. Estos hallazgos también coinciden, para el EPA, con los mencionados por los citados autores [233]. En contrapartida, los ácidos grasos esenciales (LA y ALA) disminuyeron al final del embarazo. El descenso de la proporción plasmática de LA coincidió con el aumento de los AGPI-CL n-6, salvo para el C20:2 n-6. Esto concuerda con el hecho que, aparentemente, el feto posee una capacidad limitada en la síntesis de AGPI-CL a partir de ácidos grasos esenciales y que la placenta carece de las enzimas D6D y D5D requeridas para su conversión [103].

Al comparar la cantidad relativa de ácidos grasos entre embarazadas e hijos, se observó un menor contenido plasmático de ácido palmítico en los recién nacidos que en las madres, mientras que los AGS de cadena más larga, C17:0, ácido esteárico y C20:0, resultaron más elevados. En relación a los AGMI, se encontró que tanto la proporción plasmática de ácido oleico como de C20:1 n-9 fue menor en los hijos que en las madres, pero el ácido palmitoleico tuvo el comportamiento opuesto. Los resultados encontrados para los ácidos palmítico [104], esteárico [233,235], palmitoleico [233] y oleico [104,235] concuerdan con los hallazgos descritos anteriormente por otros autores. Como se sabe, en comparación con los AGPI, la

V. DISCUSIÓN

transferencia placentaria de los AGS y AGMI es inferior [104], por lo que nuestros hallazgos sustentan el concepto de una lipogénesis activa en el feto [236].

Al igual que en otros estudios, la cantidad relativa de AGE [104,233,235] y EPA [237] fue menor en los hijos que en la madres, mientras que los ácidos C20:3 n-6 [233,235,237], AA [233,235,237,238], C22:5 n-6 [235] y DHA [233,235] resultaron mayores. Asimismo el ácido C22:4 n-6 también era mayor en los hijos que en las madres. Las evidencias sustentan que AA y DHA son fundamentales para el óptimo desarrollo y funcionamiento del cerebro humano [239,240], y el C22:4 n-6 es un componente estructural de los fosfolípidos cerebrales [234]. La placenta puede responder a las demandas fetales a través de la regulación de la expresión de los sistemas de transporte placentario para mantener su crecimiento [100]. A través de la denominada *biomagnificación*, es decir, la transferencia placentaria selectiva de AGPI-CL [241], se asegura el aporte de éstos al feto. Por otra parte, la síntesis de dichos ácidos grasos por éste, debe ser tenida en cuenta como una contribución a la alta proporción de AA y DHA en el plasma fetal, ya que, estudios llevados a cabo con isótopos estables han demostrado que los bebés humanos prematuros son capaces de sintetizar tanto AA como DHA a partir de LA y ALA, a una edad en la que su desarrollo todavía dependería de la placenta [242].

Es un hecho conocido que, las personas obesas no gestantes tienen mayor cantidad plasmática de AGS que las normopeso [62,134], con mayor contenido de ácidos mirístico y palmítico [62], y éstos están relacionados positivamente con la adiposidad corporal [136]. No obstante, en este trabajo los resultados encontrados en el ácido mirístico y C17:0 han sido opuestos a los mencionados. La proporción de ácidos grasos

V. DISCUSIÓN

en el plasma materno refleja la ingesta, el metabolismo y las reservas corporales de éstos [243]. Por un lado, la menor ingesta de dichos AGS puede repercutir en un descenso de su concentración plasmática. Por otra parte, se debe considerar que, el embarazo comprende un período con una activa movilización de las reservas maternas [76], dirigidas a atender las demandas fetales, lo cual también puede incidir en la calidad de los ácidos grasos plasmáticos. En cuanto al ácido palmítico, los resultados de la presente tesis concuerdan con las evidencias mencionadas en población no gestante, lo que desencadena cuestiones vinculadas a la salud fetal a largo plazo. Este es un aspecto importante a considerar teniendo en cuenta que el ácido palmítico está relacionado con una mayor adiposidad corporal [136] y que, justamente, el tercer trimestre de embarazo es un período crítico en el desarrollo del tejido adiposo fetal [29]. Los primeros depósitos de grasa tienen una elevada capacidad de diferenciación y proliferación, lo cual puede contribuir a definir la posterior expansión del tejido adiposo [26]. Una nutrición inadecuada durante este período causa adaptaciones importantes, como cambios en las reservas lipídicas y alteraciones metabólicas en el feto, que determinan un incremento del riesgo de desarrollar síndrome metabólico en la vida adulta [27]. Así, en ratas preñadas, alimentadas con una dieta rica en grasas saturadas, se observó hipertrigliceridemia e hiperleptinemia, tanto en las madres como en el feto, sobreacumulación de lípidos en el hígado fetal, aumento de la expresión placentaria de receptores de insulina y LPL y descenso de los receptores de leptina [244].

En general, el interés en el estudio de los AGMI radica en su relación con la menor prevalencia de obesidad, diabetes tipo 2 y eventos cardiovasculares [140]. En el presente trabajo, a las 34 semanas de gestación se produjeron las mayores diferencias

V. DISCUSIÓN

en la proporción de AGMI entre las embarazadas del grupo control y las que presentaban exceso de peso. Al igual que en adolescentes no gestantes [138], las embarazadas obesas presentaron menor cantidad de ácido oleico que las madres normopeso o con sobrepeso. Además, se encontró una relación inversa entre los ácidos oleico y C20:1 n-9 y el IMC pregestacional y al final de la gestación. Esto sugiere que las diferencias observadas en la composición plasmática de AGMI en poblaciones no gestantes se mantienen durante la gravidez, lo cual podría tener repercusiones a corto y largo plazo en la salud fetal y materna. Se ha documentado que dichos ácidos grasos disminuyen la lipogénesis [107] y mejoran la sensibilidad a la insulina [143] y el perfil lipídico [133,139]. Por otra parte, llama la atención que, a las 34 semanas, las madres obesas tuvieron un menor contenido plasmático de ácido palmitoleico, ya que, en adultos no gestantes la relación descrita entre éste y el IMC y la adiposidad abdominal es directa [136]. En este mismo período, los valores del ácido oleico y del C20:1 n-9 de las madres con sobrepeso pasaron a ser inferiores al grupo control, aunque al final de la gestación volvieron a ser similares a los registrados para las embarazadas normales.

Con respecto a los AGPI, se observó una mayor proporción de C20:3 n-6 y AA en las gestantes obesas y, en consecuencia, una relación directa con el IMC corporal pregestacional, que se mantuvo para el IMC observado al final del embarazo. Por su parte, el C22:4 n-6 sólo se asoció con el IMC previo al embarazo. Esto coincide con el hecho que los AGPI n-6 están relacionados con el incremento de la adiposidad corporal [145]. Se ha sugerido que el aumento en la ingesta de AGPI n-6, ocurrido en las últimas décadas, puede ser un factor importante en la actual epidemia de obesidad [112]. Por otra parte, resulta interesante que, las diferencias encontradas en la proporción de

V. DISCUSIÓN

dichos ácidos grasos, entre los grupos de madres, tendieron a desaparecer en el tercer trimestre, siendo nulas al final de la gestación. Esto indicaría que en los períodos en que ocurre el mayor depósito de ácidos grasos en el feto [103], la cantidad relativa de AGPI n-6 en plasma materno se equipara independientemente de su estado nutricional, lo cual se refleja en la composición plasmática de ácidos grasos de los hijos, ya que no se observaron diferencias a pesar del estado nutricional de las madres.

Aparentemente, de acuerdo a los hallazgos realizados en esta tesis doctoral, el estado nutricional de las madres previo al embarazo podría incidir sobre la proporción plasmática de ácidos grasos durante el final del segundo trimestre y el tercer trimestre de gestación, en especial entre las 24 y 34 semanas, y, a su vez, el contenido de éstos estaría vinculado con el IMC que tendrán las madres al final del embarazo.

Resulta interesante que, en contraste con los hallazgos en plasma materno, la composición plasmática de AGPI n-6 fue diferente entre los hijos de madres con sobrepeso y el grupo control. Aquellos con cadena más larga, es decir, C22:4 n-6 y C22:5 n-6, resultaron más elevados en los hijos de madres con sobrepeso. Sin embargo, en las madres, el contenido plasmático de estos ácidos grasos fue igual en los tres grupos. El hecho que existan diferencias entre los hijos, a pesar de que las madres presentan la misma proporción de los ácidos grasos, sugiere que la placenta podría jugar un papel importante en tal cuestión. Como se sabe, el exceso de peso afecta funciones placentarias como la expresión génica de las proteínas transportadoras de ácidos grasos [245,246]. También se ha demostrado que puede repercutir en la captación de los ácidos oleico y AA [245]. No obstante, se esperaría

V. DISCUSIÓN

que los resultados encontrados, en la presente tesis, se dieran también en los hijos de madres obesas.

Estudios efectuados en modelos animales han permitido establecer que los AGPI n-3 pueden afectar la composición corporal, disminuyendo la masa grasa [247], lo cual también ha sido descrito en humanos [133]. En adolescentes, se ha mostrado que aquellos que poseen sobrepeso tienen una menor concentración plasmática de DHA y de AGPI n-3 totales que los normopeso [134]. En concordancia con los hallazgos mencionados, en la presente investigación, se encontró que las madres obesas presentaban menor cantidad de ALA, EPA y C22:5 n-3 a las 24 semanas de gestación. No obstante, en el tercer trimestre de embarazo, tales diferencias sólo se mantuvieron para el ácido α -linolénico. En los hijos de mujeres obesas, se observó una menor proporción plasmática de EPA, a pesar de que en las madres el contenido fue igual para los tres grupos de estado nutricional. Las evidencias existentes en relación a este ácido graso sugieren que los resultados encontrados podrían ser perjudiciales a largo plazo. Como ya se ha mencionado, la vida fetal constituye un período crítico para el desarrollo del tejido adiposo [26]. Así, la concentración plasmática de EPA+DHA en cordón umbilical se ha relacionado con menor adiposidad y riesgo de obesidad durante la infancia [128]. En ratas, se ha observado que una dieta rica en EPA y DHA y baja en LA aumenta la concentración de neuropéptidos hipotalámicos anorexigénicos [118]. Consistente con esto, se ha descrito que la deficiencia de AGPI n-3, acompañado de un elevado aporte de LA durante la gestación, es importante en el desarrollo de la señalización del apetito [119].

V. DISCUSIÓN

La comparación de la proporción plasmática de ácidos grasos entre grupos de gestantes ha permitido establecer que, las madres obesas poseen una composición plasmática de ácidos grasos que se podría considerar desfavorable para la salud materna y fetal.

Con respecto a la ganancia de peso materna, sólo se ha encontrado una publicación referente a la relación de los ácidos grasos plasmáticos con el incremento de peso durante el embarazo, la cual estudia el primer y segundo trimestre de gestación [248]. No obstante, comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con aquellos de estudios efectuados en poblaciones con diferente estado fisiológico al embarazo, se considera erróneo, ya que, en este caso, el incremento de peso no es utilizado para estimar variaciones de la adiposidad. Otra dificultad encontrada, al momento de interpretar los resultados, es que dicho parámetro antropométrico proporciona una información global que no discrimina entre sus componentes. Como se sabe, alrededor del 25 al 30% del aumento de peso de las gestantes se debe al feto, el 30 al 40% a los tejidos reproductores, la placenta, el líquido corporal y la sangre, y alrededor del 30% restante está constituido por los depósitos de grasa maternos [5].

El incremento de peso durante la gestación puede tener repercusiones en la salud inmediata y futura de la madre y el hijo [72]. Se ha documentado que un aumento ponderal excesivo durante la gravidez y el fracaso en la pérdida de peso después del embarazo son importantes predictores de la obesidad a largo plazo en las madres [78]. Por otra parte, la macrosomía [52,72] y los recién nacidos GEG [72,249] son complicaciones frecuentes en las gestantes con elevada ganancia de peso, mientras que, si el aumento es inferior al recomendado, se asocia con el riesgo de tener hijos

V. DISCUSIÓN

PEG [249]. Asimismo, un incremento de peso alto se ha relacionado con un mayor IMC de los hijos en la infancia, independientemente del peso al nacer [250]. En el presente trabajo, al clasificar a las embarazadas de acuerdo a las recomendaciones de ganancia de peso del IOM, se observó que aquellas que tuvieron un aumento ponderal excesivo presentaron una mayor proporción plasmática de ácido esteárico que los grupos control y de incremento de peso insuficiente, y una cantidad elevada de C20:3 n-6 en comparación con aquellas que experimentaron una ganancia inferior a la recomendada. Por otra parte, se constató una relación directa entre los ácidos palmitoleico, C20:3 n-9, C20:2 n-6 y C20:3 n-6 y el aumento ponderal. Estos hallazgos eran de esperar, ya que, como se mencionó anteriormente, el incremento de las reservas de grasa es uno de los componentes principales de la ganancia de peso materna [5], y los ácidos palmitoleico [62,136] y esteárico [138] están relacionados con el aumento de la adiposidad corporal. Además, los AGPI n-6 también están vinculados con la grasa corporal [138] y son considerados proadipogénicos y prolipogénicos [112].

Con respecto a los hijos, se observó que el aumento de peso de las madres se asoció positivamente con el contenido relativo plasmático de los ácidos C20:3 n-9, C20:2 n-6, C22:5 n-3 y DHA de los recién nacidos, y negativamente con el ácido palmítico y ALA. Además, las gestantes con un incremento ponderal insuficiente tuvieron hijos con una menor proporción de C22:5 n-6. Esto sugiere que, el incremento de peso de las embarazadas podría afectar la composición plasmática de ácidos grasos del feto, lo cual es muy importante, teniendo en cuenta que el aporte de los mismo durante la vida intrauterina influye sobre su acumulación y calidad en los tejidos fetales, incluyendo el cerebro, y puede contribuir a una programación metabólica [25]. Por ejemplo, la exposición al exceso de AGPI n-6 en la etapa prenatal puede predisponer a

V. DISCUSIÓN

la acumulación elevada de grasa corporal a largo plazo, ya que, aparentemente, promueven la formación de células adiposas a edades tempranas [113].

Con respecto a los resultados del embarazo, se observó que la proporción de AGS en plasma materno se relacionó negativamente con los indicadores antropométricos de los hijos. El ácido mirístico se asoció con el peso al nacer y el perímetro cefálico, y el ácido palmítico sólo con este último, mientras que el ácido esteárico lo hizo con el peso y la longitud de los recién nacidos. Esto sugiere que los AGS podrían estar vinculados a un menor crecimiento durante la vida intrauterina. En nuestro conocimiento, hasta el momento, las referencias bibliográficas sobre la relación de los AGS con los indicadores antropométricos de crecimiento fetal son escasas. En concordancia con nuestros hallazgos, en un estudio en el que se comparó la composición de ácidos grasos de niños AEG con pretérmino y PEG los autores observaron una mayor cantidad relativa de ácido láurico en los recién nacidos PEG que en los AEG, aunque la proporción de ácido esteárico fue menor [251]. Por otra parte, en esta tesis, se encontró que los recién nacidos macrosómicos presentaban una menor proporción de ácido esteárico que los neonatos con peso normal. Como se sabe, la macrosomía es una complicación frecuente en las embarazadas obesas y/o con ganancia ponderal excesiva [43,52], y los niños macrosómicos presentan mayor riesgo de desarrollar síndrome metabólico en la vida adulta [51]. Actualmente, se ha planteado que el ácido esteárico podría tener propiedades diferentes a los demás AGS, debido a que es particularmente sensible a la SCD-1 del hígado, que desatura AGS a AGMI [107]. Esto sugiere que dicho ácido graso podría ser beneficioso para la salud fetal y, en consecuencia, para la posterior vida adulta del individuo.

V. DISCUSIÓN

Con respecto a los AGPI, se observó que la cantidad relativa de LA en plasma materno se relacionó directamente con el peso, la longitud y el perímetro cefálico de los hijos al nacer, mientras que en los niños se constató una asociación negativa entre los ácidos C20:2 n-6 y el peso. Los AGPI n-6 son considerados indispensables para el crecimiento y desarrollo fetal, aunque no se ha podido establecer si el perfil individual de éstos en madres e hijos o en cualquiera de los dos está relacionado con el crecimiento fetal [252]. Las evidencias actuales sobre la relación de éstos con el crecimiento intrauterino son controvertidas. Por un lado, los estudios coinciden en que la proporción de C20:3 n-6 materno y/o fetal se relaciona positivamente con el peso al nacer [124,251,253]. Por otra parte, establecen que los niños GEG tienen una mayor concentración de C22:5 n-6 [253], que los neonatos PEG presentan una menor proporción de C18:3 n-6 [251] y que la concentración materna de AGPI n-6 se relaciona positivamente con el peso y la longitud al nacer [132]. Con respecto al AA, se han descrito tanto relaciones positivas [251] como negativas [124,253] con el peso al nacer, y se lo ha vinculado con una mayor longitud de los recién nacidos [132].

La relación constatada entre el ácido linoleico y el peso de los recién nacidos era de esperar dada la probable vinculación de los AGPI n-6 con la actual epidemia de obesidad [112]. Se ha planteado que el AA puede promover la diferenciación de preadipocitos en el tejido adiposo [125]. El ácido linoleico ha sido relacionado con el aumento en la expresión de genes lipogénicos, de la masa grasa y con un mayor tamaño y número en los adipocitos [126,127]. La exposición a AGPI n-6, durante los períodos críticos del desarrollo del tejido adiposo, podría resultar en un aumento permanente de su número y en la propensión a la acumulación de masa grasa [112].

V. DISCUSIÓN

Así, se ha constatado que una mayor concentración de AA se asocia con una mayor adiposidad en los hijos a los 3 años de edad [128].

En general, se sugiere que el incremento de la ingesta de AGPI- ω -3 puede causar un mayor peso al nacer [124,132,254]. Sin embargo, en la presente tesis, se ha observado que el contenido plasmático del ácido C22:5 ω -3 se relacionó inversamente con el peso de los recién nacidos. Similarmente, se ha mostrado que la concentración de C22:5 ω -3 y DHA es mayor en los recién nacidos de menor tamaño [253]. En un estudio realizado en 2109 embarazadas, se observó que la ingesta de EPA y DHA se relacionó en forma inversa con el peso al nacer en los tres trimestres de embarazo [255]. En otro estudio efectuado en 730 madres e hijos, se encontró una asociación negativa entre la concentración de DHA en los fosfolípidos plasmáticos y eritrocitos de cordón umbilical y dicho parámetro antropométrico [256]. Incluso, se ha constatado una relación inversa entre DHA y AGPI ω -3 totales y la longitud femoral fetal [257]. Además, en una revisión reciente, se ha planteado que es imposible establecer conclusiones sobre el efecto de la suplementación con AGPI ω -3 sobre el crecimiento fetal, dada la diversidad de resultados [144]. Por otra parte, se debe considerar que el mayor peso al nacer puede ser consecuencia del alargamiento de la gestación [257] y no necesariamente del incremento de dichos lípidos. La duración del embarazo está relacionada tanto con el peso al nacer como con la concentración de AGPI de los recién nacidos [254,258], por lo que, no emplear la edad gestacional para ajustar el análisis de los resultados puede conducir a la confusión en las asociaciones estudiadas.

2.2. Limitaciones del estudio

En el proyecto PREOBE la principal limitación fue el reducido número de individuos con que se contó para realizar el análisis estadístico de los ácidos grasos en los grupos de exceso de peso, mujeres embarazadas con sobrepeso (n=40) y obesidad (n=36), y especialmente en los hijos (grupo sobrepeso, n=40; grupo obesidad, n=33). Dicho factor no permitió establecer las diferencias en la composición plasmática de ácidos grasos en madres o hijos entre los grupos con sobrepeso u obesidad y el control en relación al tipo de incremento ponderal de las madres (ganancia de peso insuficiente, recomendada y excesiva; plasma materno, n=38/29/21 respectivamente; plasma hijos, n=31/22/10, respectivamente) y la macrosomía de los recién nacidos (plasma materno, n=5; plasma hijos, n=4).

Por otra parte, la escasa bibliografía existente sobre la composición plasmática en ácidos grasos saturados y monoinsaturados en embarazadas y neonatos constituyó una dificultad importante, debido a la falta de referencias con las que poder comparar los resultados obtenidos en la presente tesis.

3. ADOLESCENCIA

3.1. Ácidos grasos en la adolescencia

Durante la intervención propuesta, se ha observado una alteración de la composición plasmática de ácidos grasos de la población estudiada, que concuerda con cambios considerados beneficiosos para el tratamiento y/o prevención de la obesidad y patologías asociadas. Se produjo el descenso de los ácidos mirístico y esteárico, lo cual es un efecto deseable, teniendo en cuenta que los AGS conducen al desarrollo de obesidad y preservan la masa grasa incluso después de la pérdida de peso [259]. El aumento logrado de AGMI totales, ácido oleico y C20:1 n-9 es de gran relevancia para los objetivos del estudio, dada la implicación de este grupo de ácidos grasos en el descenso de la prevalencia de obesidad y patologías asociadas [140]. Por su parte, los AGPI n-6, salvo el AA, disminuyeron y los AGPI n-3, específicamente EPA y DHA, aumentaron, lo que se refleja en la reducción de la relación AGPI n-6/n-3. Dichos cambios resultan beneficiosos para la población, ya que LA está relacionado con el desarrollo de obesidad [145] y los AGPI n-3 han sido vinculados al descenso de factores de riesgo de ECV [107].

La recuperación de los valores basales de los ácidos grasos, mirístico, C20:2 n-6, C22:5 n-6, AGPI n-3 totales, EPA y DHA, y de la actividad enzimática estimada de D5D, ocurrida en la fase extensiva de la intervención, lleva a pensar que la menor frecuencia de los controles ha conducido a un menor cumplimiento de la terapia, con la consecuente tendencia a la restauración de los hábitos alimentarios tradicionales.

V. DISCUSIÓN

Recientemente, se ha puesto de manifiesto que la síntesis endógena de ácidos grasos es crucial para el metabolismo energético y la sensibilidad a la insulina [95]. Sin embargo, en nuestro conocimiento, hasta el momento no se ha investigado los cambios sufridos por la actividad enzimática estimada durante un tratamiento de pérdida de peso. Justamente, en el presente estudio, se ha indagado sobre el tema, observándose una disminución de la actividad de Elovl6 y D6D, así como un incremento del índice de SCD-18 y D5D. Esto estaría indicando un descenso de la biosíntesis de ácido esteárico y ácido γ -linolénico (C18:3 n-6), y el incremento de la formación de ácido oleico y AA. No obstante, los resultados deben ser interpretados de forma cautelosa, dado que el uso de la relación de ácidos grasos producto/sustrato como estimación de la actividad enzimática puede reflejar el metabolismo de los ácidos grasos pero también puede ser afectado por la ingesta de los mismos.

Los cambios ocurridos en la composición corporal de los adolescentes se han relacionado con la disminución de la proporción plasmática de AGS y AGPI n-6, así como al aumento de AGMI.

En función de las evidencias existentes, se ha postulado a los AGS como obesogénicos [259]. En un estudio previo efectuado por nuestro grupo de investigación en adultos con riesgo elevado de desarrollar ECV, se ha observado que, los ácidos mirístico y palmítico se relacionan positivamente con el IMC y la adiposidad abdominal [136]. Además, se ha indicado que los adolescentes con sobrepeso tienen una mayor concentración plasmática de AGS [62,134]. La ingesta de dietas ricas en dichos ácidos grasos desencadena lipogénesis *de novo* [107], hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos [6] y reduce la oxidación postprandial de lípidos y el gasto energético diario

V. DISCUSIÓN

[260], afectando la adiposidad corporal. En concordancia con esto, en esta tesis, la reducción del porcentaje de masa grasa y el aumento de la MLG se asociaron al descenso del ácido mirístico.

Estudios transversales y longitudinales han permitido establecer que, las dietas de tipo mediterráneo ejercen un efecto favorable sobre el mantenimiento del peso corporal [261]. El elevado consumo de ácido oleico ha sido relacionado con una menor prevalencia de obesidad [140]. Se ha demostrado que, los AGMI disminuyen la lipogénesis por medio del aumento de la oxidación de ácidos grasos [107] y que están relacionados con una mayor pérdida de peso corporal y masa grasa [141]. La diferente estructura química de los ácidos grasos determina el grado de oxidación de los mismos. Así, los AGMI incrementan la termogénesis inducida por la dieta, lo cual se traduce en cambios en el peso y la composición corporal [261]. La relación confirmada, en el presente trabajo, entre la reducción del peso, IMC, masa grasa absoluta e IMG y el aumento de los AGMI totales y ácido oleico, sugiere que dichos ácidos grasos podrían influir sobre la reducción de la adiposidad general.

Si bien, estudios efectuados en animales han mostrado que los AGPI n-3 tienen actividad antiadipogénica [247], en la presente investigación no se ha encontrado asociación entre el aumento de dichos ácidos grasos y los cambios ocurridos en los indicadores antropométricos de adiposidad general y abdominal. Estos resultados concuerdan con los indicados por DeFina et al. [262], donde la suplementación con AGPI-CL n-3 de adultos con exceso de peso durante una intervención, consistente en dieta y ejercicio, no produjo diferencias significativas en la pérdida de peso, ni en el descenso de IMC, perímetro de la cintura o masa grasa. Asimismo, en una revisión

V. DISCUSIÓN

efectuada recientemente, se plantea que no existen evidencias concluyentes para evaluar el efecto de éstos sobre el peso corporal [144].

La reducción plasmática de los AGPI n-6 totales y LA se asoció con el descenso del peso corporal, masa grasa absoluta e IMG. Asimismo, los primeros se relacionaron con la disminución del IMC. Este es un hallazgo esperado, dado que existen evidencias que sustentan la hipótesis de que los AGPI n-6 tienen propiedades proadipogénicas y prolipogénicas [112]. Estudios en animales han permitido establecer que la alimentación humana actual, rica en LA, aumenta el contenido de AA en los tejidos y subsecuentemente eleva los endocannabinoides [145], así como incrementa la expresión de genes lipogénicos [263], dando como resultado el desarrollo de obesidad. Además, se ha comprobado que, reduciendo el aporte de LA se logra contrarrestar el efecto obesogénico ejercido por el mismo [145].

A través de estudios realizados en ratones modificados genéticamente, se ha establecido que las enzimas involucradas en la lipogénesis *de novo* y la síntesis de AGMI juegan un papel importante en el control del metabolismo, expresión génica y en el desarrollo y expresión de obesidad [149]. Si bien, investigaciones realizadas en modelos animales muestran que la inhibición de SCD-1 protege contra las dietas que inducen obesidad [151], en el presente estudio, al igual que los resultados descritos por otros autores en adultos [153] y niños [264], se observó una relación inversa entre el aumento de la actividad estimada de SCD-18 y el cambio de IMC. La asociación constatada también se encontró para peso, masa grasa absoluta e IMG. Una posible interpretación de tal hallazgo es que, el incremento de la actividad de SCD-18, es decir,

V. DISCUSIÓN

el aumento de la biosíntesis de ácido oleico, podría contribuir al descenso de la adiposidad general.

Elovl6 es una enzima cuya actividad lipogénica ha sido identificada recientemente [265]. Las evidencias existentes hasta el momento, sobre la misma, son escasas, provienen de ensayos en animales y se centran en el estudio de la sensibilidad a la insulina [95]. En ratones a los que se indujo obesidad y hepatoesteatosis severa, se observó que la deficiencia de dicha enzima protege contra la insulinoresistencia a pesar de mantenerse ambas afecciones [266]. Se plantea que, la hepatoesteatosis y la obesidad se mantienen debido a la supresión, tanto de la síntesis, como de la degradación de ácidos grasos [95]. Además, se ha mostrado que la restricción crónica de alimentos aumenta la expresión de los genes de Elovl6, pudiendo favorecer el almacenamiento de grasa al culminar ésta [267]. No obstante, en el presente estudio, el descenso de la actividad estimada de Elovl6 se relacionó con la reducción del peso corporal. Uno de los factores que pudo incidir en el comportamiento de esta enzima es el aumento de SCD-18, dado que la deficiencia de SCD-1 estimula la actividad de Elovl6, lo que plantea que los AGMI podrían ofrecer un control de retroalimentación negativa sobre la expresión de esta última [268]. Además, EPA y DHA causan una profunda supresión de la expresión de Elovl6 [265], los cuales, justamente, han aumentado durante el tratamiento.

Como era de esperar, dadas las relaciones analizadas anteriormente, los cambios ocurridos en los ácidos grasos mirístico, oleico, LA, AGMI y AGPI n-6 totales, se asociaron con una mayor pérdida de peso corporal en los adolescentes. Resulta interesante que a pesar de no haber encontrado relación entre los ácidos grasos C15:0,

V. DISCUSIÓN

esteárico o γ -linolénico y los indicadores antropométricos de adiposidad general, éstos se asociaron al grado de pérdida de peso. Las relaciones encontradas y los antecedentes bibliográficos mencionados, sugieren que la menor reducción de peso ocurrida en los adolescentes podría estar vinculada al incremento del C15:0.

Asimismo, al comparar los grupos de PDE-IMC, se observó que la mayor pérdida de peso, lograda con el tratamiento, está relacionada con una mayor reducción del ácido mirístico, γ -linolénico y D6D.

Por otra parte, al analizar en forma independiente los cambios ocurridos dentro de cada grupo de PDE-IMC, entre las condiciones basales y finales (6 meses), se encontró que la mayor pérdida de peso sufrida por los adolescentes está vinculada con la reducción del ácido esteárico, LA, γ -linolénico, AGPI n-6 totales y de la actividad enzimática estimada de Elov16 y D6D, así como por el aumento del ácido oleico, AGMI totales y de la actividad estimada de SCD-18 y D5D.

Si bien, no se ha encontrado antecedentes bibliográficos sobre la relación de los ácidos grasos con el grado de pérdida de peso, los resultados obtenidos concuerdan con las evidencias existentes hasta el momento, referentes al papel obesogénico de los AGS [259] y AGPI n-6 [145], así como a la acción antiobesidad de los AGMI [141].

Estos hallazgos sugieren que la modificación de la calidad de los ácidos grasos de la dieta podría contribuir al cumplimiento de los objetivos en tratamientos de adelgazamiento dirigidos a adolescentes.

Al igual que en la etapa adulta, la obesidad en la adolescencia está vinculada con la dislipemia [2,269], la cual constituye un factor de riesgo de ECV [57]. Los AGS han sido

V. DISCUSIÓN

asociados a alteraciones del perfil lipídico que resultan deletéreas para la salud [107]. Se ha constatado que, el ácido mirístico está relacionado positivamente con la concentración de TAG [136] y la colesterolemia [133,270]. Consistente con dichos antecedentes, en el presente estudio, los cambios de colesterol y TAG se asociaron con el descenso del ácido mirístico. Por otra parte, si bien otros autores no han encontrado relación entre los AGS y las apolipoproteínas A o B [133], en este trabajo, se ha observado que la reducción del ácido mirístico se asoció con el descenso de apo B.

Las evidencias actuales referentes a la acción de los AGMI sobre el perfil lipídico son controvertidas. En un metaanálisis referente al efecto de los AGMI sobre factores de riesgo de ECV, no se ha constatado diferencias en los cambios de concentración de LDL, HDL o TAG entre dietas ricas o pobres en dichos ácidos grasos [141]. Aunque, otros autores han establecido que las dietas elevadas en AGMI disminuyen las LDL [139] e incrementan las HDL [133]. En la población objeto del presente trabajo, el aumento de los AGMI totales se asoció con el descenso de LDL, sin encontrarse relación con HDL o TAG.

De forma similar a estudios efectuados en adultos [136], se ha observado que la reducción de LA plasmático se asoció con la disminución de HDL, LDL y se relacionó inversamente con los TAG. Asimismo, dicho ácido graso se asoció con la concentración de apo A1. Sin embargo, en el ácido γ -linolénico, la relación encontrada con los TAG fue directa, lo cual ha sido constatado por otros autores en adolescentes [138]. Estos autores también han observado un comportamiento opuesto entre LA y el ácido γ -linolénico en lo que a TAG se refiere. A dichos resultados se les debe sumar una relación también positiva con la concentración de apo A1, apo B y colesterol total. De

V. DISCUSIÓN

estos hallazgos se deduce que los AGPI n-6 podrían comportarse de manera diferente dependiendo del parámetro de estudio, por lo que se debería actuar con suma cautela a la hora de establecer pautas de alimentación o restricciones dietéticas vinculadas a éstos.

Existen evidencias de que el aumento de la ingesta de AGPI n-6 puede afectar la composición de las membranas celulares y la sensibilidad a la insulina [271]. El aporte de una dieta rica en AGPI n-6 con una relación n-6/n-3 elevada a individuos adultos sanos durante 6 semanas, produjo una disminución del contenido de AGPI n-3 y de DHA en las membranas plaquetarias, así como un aumento en la relación AGPI n-6/n-3. Además, los autores indicaron un incremento de la concentración de insulina y de la insulinoresistencia. Así, en nuestro estudio, el descenso de LA a los 6 meses de tratamiento, se relacionó con la reducción tanto de la insulinemia como de la glicemia. Por otra parte, la disminución de los AGPI n-6 totales se asoció con el descenso de la concentración de insulina en ayunas. Esto sugiere que la reducción de los AGPI n-6 en la dieta de adolescentes con sobrepeso, podría contribuir a la prevención de desórdenes asociados a la hiperinsulinemia e insulinoresistencia, como la intolerancia a la glucosa y la diabetes tipo 2.

Con respecto a las enzimas, la actividad estimada de D5D ha sido relacionada inversamente con la colesterolemia en individuos adultos [136] y con la concentración de PCR en niños [264]. En cambio, el índice de D6D lo ha hecho en forma directa con la trigliceridemia [136]. Dichas asociaciones han sido constatadas en la presente tesis doctoral. Asimismo, se observó que la disminución de la actividad de D6D también se relacionó positivamente con los cambios de colesterol. Esto sugiere que las

alteraciones ocurridas en la actividad enzimática estimada durante el tratamiento podrían ser beneficiosas para el perfil cardiometabólico de los adolescentes.

3.2. Vitaminas liposolubles antioxidantes y carotenoides en la adolescencia

Debido a la fuerte relación existente entre exceso de peso y diabetes, dislipidemia o ECV [57,58], actualmente la epidemia de obesidad infantil se ha convertido en un problema importante de salud pública. Por ello, resulta crucial su estudio para poder establecer metas nutricionales que permitan prevenir y tratar la obesidad en etapas tempranas de la vida.

Los parámetros bioquímicos seleccionados en este trabajo, así como la tensión arterial, generalmente están elevados en niños obesos [2,58,269] y se relacionan con ECV [2,269]. Se sospecha que dichos parámetros podrían ser modulados por la acción de vitaminas antioxidantes y carotenoides [163,190]. Por esta razón, se considera relevante analizar las asociaciones existentes entre los cambios en esos parámetros, los indicadores antropométricos de adiposidad y la concentración de dichos antioxidantes.

Teniendo en cuenta que vitaminas liposolubles y carotenoides son transportados por lipoproteínas [156,158,177] y dada la relación detectada en el presente estudio entre los lípidos plasmáticos y los cambios en la concentración de éstos, las asociaciones de α -tocoferol, retinol, β -caroteno y licopeno con los parámetros clínicos y bioquímicos fueron analizados usando su concentración corregida por lípidos.

V. DISCUSIÓN

En relación a los indicadores antropométricos de obesidad, se obtuvieron resultados interesantes para retinol y α -tocoferol. De acuerdo con los modelos de regresión lineal, cuando la concentración de retinol CL cambió significativamente, se observó una relación inversa entre retinol plasmático CL y los cambios de peso, IMC y PDE-IMC, incluso después de ajustar por edad, sexo, PDE-IMC y estadíos de Tanner basales (Tabla 20). Además, los cambios de retinol CL se asociaron inversa e independientemente también con los cambios en IMG a los 6 meses de tratamiento. Estas interacciones eran de esperar, dado que se ha establecido que la vitamina A regula las reservas de grasa corporal a través de los derivados de retinoides metabólicamente activos. El rol de la vitamina A en la adipogénesis ha sido profundamente investigado debido a su abundante presencia en tejido adiposo [10]. Diversos estudios in vitro e in vivo han indicado que el tratamiento con ácido retinoico puede mejorar la sensibilidad a la insulina, inhibir la adipogénesis, estimular la lipólisis y aumentar la oxidación de ácidos grasos [10,168], conduciendo a pérdida de peso. También se ha indicado que el ácido retinoico tiene acción genómica, regulando el balance energético [10,168,170], así como efectos no genómicos, activando genes involucrados en la homeostasis de los lípidos y la respuesta a la insulina [168,170].

En línea con otros estudios [61], se ha encontrado una relación negativa entre α -tocoferol, peso y masa grasa. Asimismo, el aumento de la concentración CL de α -tocoferol se asoció en forma independiente con el descenso de peso, IMC, PDE-IMC, masa grasa e IMG y el aumento de MLG, al final de la intervención. Como se sabe, la vitamina E tiene una fuerte capacidad antioxidante [156,163,179]. La elevada oxidación de proteínas y peroxidación lipídica encontradas en adolescentes obesos [65,272] puede inducir la producción de eicosanoides inflamatorios y citocinas [163], lo

V. DISCUSIÓN

cual sugiere que la mejora de la concentración de α -tocoferol puede constituir un enfoque antiinflamatorio útil. Además, recientemente se ha descubierto el papel de la vitamina E como regulador de la actividad enzimática y génica [158]. Así, el α -tocoferol puede modular genes con una función importante en las señales endocrinas, específicamente en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos [158,159].

Los cambios ocurridos en la adiposidad central y general, en el perfil de los marcadores de riesgo cardiometabólico, en las vitaminas antioxidantes liposolubles y carotenoides en relación a la reducción de PDE-IMC, fueron analizados con el fin de establecer si los parámetros seleccionados están relacionados con el grado de pérdida de peso. En estudios previos, se ha observado que sólo aquellos niños y adolescentes que experimentan un descenso de PDE-IMC > 0.5 presentan una mejora en el perfil de factores de riesgo de ECV y en el espesor íntima-media [273], que es un marcador precoz de aterosclerosis. Del mismo modo, hemos encontrado que la reducción de glucosa y tensión arterial sistólica sólo ocurrió en este grupo. Sin embargo, se observó una reducción en los lípidos plasmáticos proaterogénicos, insulina en ayunas y TAD también en el grupo *descenso PDE-IMC 0.25-0.5*. Los indicadores antropométricos de adiposidad general decrecieron en los grupos *descenso PDE-IMC 0.25-0.5* y *descenso PDE-IMC > 0.5* . El perímetro de la cintura disminuyó en los tres grupos de pérdida de peso. Cabe destacar que, PCR sufrió una reducción significativa en los grupos de mayor y menor pérdida de peso. Esto sugiere que los indicadores de adiposidad, especialmente los de adiposidad central, TAD, insulina, PCR y los lípidos proaterogénicos están más influidos por la pérdida de peso que tensión arterial sistólica, glucosa y apo B. Además, como se esperaba, los cambios en los parámetros clínicos y bioquímicos fueron proporcionales al grado de pérdida de peso, ocurriendo

V. DISCUSIÓN

en el grupo *descenso PDE-IMC > 0.5* los mayores cambios y en el grupo *descenso PDE-IMC 0.25-0.5* los menores. Estos hallazgos podrían ser útiles para establecer metas de pérdida de peso en adolescentes obesos con o sin desórdenes asociados.

Por otra parte, resulta interesante que las pérdidas de peso mayores o iguales a 0.25 de PDE-IMC se relacionaron a un incremento en la concentración de α -tocoferol CL, y que las pérdidas de peso mayores a 0.5 se asociaron con un aumento en la concentración de β -caroteno CL. Asimismo, se ha observado que los cambios en retinol CL fueron diferentes en los grupos extremos, dado que la mayor concentración de retinol CL se observó en el grupo que ha alcanzado la pérdida de peso más grande. Al igual que para los ácidos grasos, en nuestro conocimiento, hasta la fecha no hay referencias con las cuales poder comparar los resultados encontrados sobre la asociación del grado de pérdida de peso y la concentración de vitaminas antioxidantes. No obstante, los hallazgos mencionados concuerdan con los antecedentes existentes, que establecen que la vitamina A [168], β -caroteno [181] y α -tocoferol [158] desempeñan un papel importante en la regulación de las reservas de grasa corporal, por medio de su acción genómica, actividad antioxidante y antiinflamatoria.

La reducción de la adiposidad, los parámetros bioquímicos y la tensión arterial observada en nuestra población está en línea con otros estudios efectuados en niños [87], mostrando que la pérdida de peso, determinada a través del descenso del IMC o PDE-IMC, conduce a una mejora del perfil de los factores de riesgo de ECV. Estos resultados son de gran importancia, ya que se ha demostrado que la aterosclerosis comienza en la infancia [274], por lo tanto, los cambios observados en el perfil cardiometabólico de los adolescentes del presente estudio podrían prevenir o retrasar

V. DISCUSIÓN

el comienzo de las ECV asociadas con la obesidad en la edad adulta. Con respecto a la composición corporal, se ha descrito que los tratamientos de adelgazamiento que incluyen dieta y ejercicio son más efectivos en el mantenimiento de la masa libre de grasa y logran una mayor pérdida adiposa [67]. En este sentido, en el presente trabajo se ha observado un incremento significativo de MLG y una reducción significativa de la masa grasa después de aplicar el citado programa.

En estudios previos se ha indicado que los niños obesos tienen mayor concentración de lípidos [21,61,65] y peroxidación lipídica [65] que los normopeso. Vitaminas antioxidantes y carotenoides reducen la peroxidación lipídica y mejoran la resistencia a la oxidación de las LDL [176,177]. A su vez, hay evidencias de que la concentración de β -caroteno [61] y α -tocoferol [20,61,65], tanto ajustada como sin ajustar por lípidos, es menor en niños obesos. La relación negativa, confirmada en este estudio, entre los cambios en la concentración de lípidos y los cambios en α -tocoferol, retinol y β -caroteno, ajustados por lípidos, sugiere que el incremento de vitaminas antioxidantes y carotenoides en plasma podría proteger a adolescentes con exceso de peso contra el estrés oxidativo.

Como ocurrió con las HDL, apo A1 disminuyó a los 2 meses de tratamiento pero aumentó nuevamente al final del mismo. Este fue un comportamiento esperado, ya que apo A1 es el principal componente de las HDL [275]. De acuerdo con otros estudios en que adultos [276] y adolescentes [277] obesos fueron sometidos a diferentes regímenes dietéticos, en el presente estudio se encontró que las HDL disminuyeron en la primera etapa del tratamiento. La subsecuente recuperación de ambos parámetros al final del programa fue esencial, dado que éstos juegan un papel

V. DISCUSIÓN

importante removiendo el exceso de colesterol de los tejidos, ejerciendo, consecuentemente, un efecto antiaterogénico [57,275]. El balance entre lipoproteínas proaterogénicas y antiaterogénicas puede ser determinado por la relación apo B/apo A1, y así se puede aumentar la predicción del riesgo de ECV. Estudios recientes han sugerido que la relación apo B/apo A1 predice mejor el riesgo de ECV que algunos índices de colesterol tradicionales, tales como colesterol total o LDL [278]. En el presente trabajo, la relación apo B/apo A1 disminuyó en la última etapa de la intervención, lo cual podría conducir también a una reducción en el riesgo de ECV.

Uno de los factores de riesgo cardiometabólico más importante en situaciones de obesidad es la inflamación [57,71], la cual, en este estudio, fue determinada por medio de la concentración de PCR. Como se sabe, la obesidad es un estado de bajo grado de inflamación caracterizado por la elevada concentración de marcadores circulantes de la misma [57,71], y los adolescentes obesos tienen mayor concentración de PCR en comparación con niños no obesos [20,21]. Las evidencias indican que retinoides, tocoferoles y carotenoides tienen propiedades antiinflamatorias [158,169,177] y acción antioxidante [156,169,177]. No obstante, en concordancia con los resultados descritos por Aeberly et al. [21] y Rydén et al. [183] para α -tocoferol y carotenoides, a pesar del incremento de retinol, α -tocoferol y β -caroteno, constatado en la presente tesis, no se encontró relación con dicho marcador inflamatorio. Sólo se observó asociación entre la concentración de vitamina A y los valores de PCR, tanto en los análisis en crudo como ajustados, pero al corregir por lípidos plasmáticos dicha relación desapareció.

Recientemente, insulinoresistencia e hiperinsulinemia han emergido como las principales preocupaciones en niños con exceso de peso [2,269], ya que ambas pueden conducir a intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2 [279,280]. Los niños con sobrepeso y los obesos tienen mayor concentración de insulina en ayunas [21] que aquellos con peso adecuado. Además de la obesidad por sí misma, la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina pueden jugar un papel importante como fuentes de estrés oxidativo [281,282] y están relacionadas con una reducida concentración de antioxidantes endógenos y exógenos en niños y adolescentes [61,64]. Así, en el presente estudio, el descenso de la insulina en ayunas se asoció con el incremento del β -caroteno a los 6 meses de tratamiento, lo cual coincide con los resultados indicados por otros autores [61,188].

3.3. Limitaciones del estudio

Se considera que la principal limitación del estudio EVASYON fue la ausencia de grupo control. Por esta razón, no ha sido posible determinar las diferencias existentes entre adolescentes con exceso de peso y normopeso o establecer si al final del tratamiento la concentración de vitaminas y carotenoides y la proporción de ácidos grasos se mantienen distintos o tienden a ser similares al grupo control. Sin embargo, como el objetivo inicial fue analizar la evolución de los distintos parámetros durante el curso del tratamiento y su relación con la pérdida de peso, se considera que el uso de los valores basales como control es aceptable.

La mayoría de los parámetros clínicos y bioquímicos estudiados mostraron un descenso durante la fase intensiva del tratamiento, pero, después de ésta, los valores resultaron estables o incluso experimentaron un inesperado incremento. Debido a

V. DISCUSIÓN

esto, se considera que sería interesante conducir el estudio a largo plazo con el fin de evaluar la estabilidad de las mejoras ocurridas y optimizar la duración e intensidad del programa. Los tiempos establecidos entre los controles médicos también deberían ser revisados, ya que los períodos cortos pueden favorecer el correcto cumplimiento de las indicaciones, especialmente cuando la población de estudio conlleva grandes cambios psicosomáticos, como ocurre en la adolescencia.

Las diferencias encontradas, con respecto a estudios previos referentes a pérdida de peso, como el tipo de tratamiento dietético, grupo etario, duración de la intervención y tamaño de la población, podrían estar determinando el comportamiento de las vitaminas antioxidantes, carotenoides y ácidos grasos plasmáticos. Esto puede constituir una dificultad al momento de comparar los cambios en la concentración plasmática de éstos con los resultados de otros autores.

En el estudio de ácidos grasos, el tamaño de la población se ha visto disminuido notoriamente a los 6 meses de tratamiento, lo que pudo haber condicionado las diferencias y asociaciones encontradas entre las variables. Esto adquiere especial relevancia al analizar las relaciones entre los ácidos grasos y el grado de pérdida de peso, ya que el número de individuos ha sido muy reducido (n=7 para el grupo de menor pérdida de peso, n=11 para el intermedio y n=22 para el de mayor pérdida de peso). Dicho inconveniente puede ser planteado como una posible causa de que sólo se encontraran cambios significativos en el grupo PDE-IMC>0.5.

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

Los resultados presentados en esta tesis permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- 1) Se ha desarrollado y validado un método analítico rápido, preciso y sensible, con linealidad y exactitud óptimas, que permite, en sólo tres minutos, la determinación simultánea de α -tocoferol, retinol, β -caroteno y licopeno en plasma por cromatografía líquida rápida de alta eficacia.

Etapas gestacionales

- 2) Las embarazadas obesas presentaron una menor proporción de los ácidos grasos oleico (C18:1 n-9), margárico (C17:0) y α -linolénico (C18:3 n-3) que las gestantes con un estado nutricional normal, en los tres períodos de estudio.
- 3) El índice de masa corporal pregestacional de las madres se asoció negativamente con la proporción plasmática de los ácidos oleico (C18:1 n-9) y α -linolénico (C18:3 n-3), en ambos trimestres, mientras que el ácido araquidónico (C20:4 n-6) lo hizo en forma positiva con el índice de masa corporal al final de la gestación.
- 4) Los hijos de embarazadas con sobrepeso tuvieron una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-6 (C22:4 n-6 y C22:5, n-6) que los recién nacidos de gestantes normopeso, mientras que la proporción de

VI. CONCLUSIONES

ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3) en los niños de embarazadas obesas fue menor que en el grupo control, constatándose una relación negativa entre éste y el índice de masa corporal de las madres.

- 5) En ambos trimestres, el incremento de peso total de las gestantes se relacionó positivamente con el contenido plasmático de ácido eicosatrienoico (C20:3 n-9) de madres e hijos, y con los ácidos eicosadienoico (C20:2 n-6), docosapentaenoico (C22:5 n-3) y docosahexaenoico (C22:6 n-3) de los hijos, mientras que la asociación con el ácido α -linolénico (C18:3 n-3) de los recién nacidos fue negativa.
- 6) La proporción plasmática materna de ácidos grasos saturados (C14:0, C16:0 y C18:0) y de ácidos grasos poliinsaturados n-9 (C20:3 n-9) y n-3 (C22:5 n-3) se asoció inversamente con los indicadores antropométricos de crecimiento fetal, y el ácido linoleico (C18:2 n-6) en forma directa.
- 7) En los niños, la cantidad plasmática de ácidos grasos poliinsaturados (C20:2 n-6 y C22:5 n-3) se asoció negativamente con el peso al nacer, y los neonatos macrosómicos tuvieron una menor proporción de ácido esteárico (C18:0).

Adolescencia

- 8) En adolescentes con sobrepeso y obesidad sometidos a un programa integral de adelgazamiento, se produjo el aumento de las concentraciones plasmáticas de α -tocoferol, retinol y β -caroteno.

VI. CONCLUSIONES

- 9)** El aumento de las concentraciones de α -tocoferol, retinol y β -caroteno se relacionó con la reducción de la adiposidad general, con una mayor pérdida de peso y con la mejora del perfil cardiometabólico de los adolescentes.
- 10)** Durante la intervención, los adolescentes presentaron un aumento en plasma de los ácidos grasos oleico (C18:1 n-9), gondoico (C20:1 n-9) y poliinsaturados n-3 (C20:5 n-3 y C22:6 n-3), así como un descenso de los ácidos grasos saturados (C14:0, C16:0 y C18:0), poliinsaturados n-6 (C18:2, C18:3, C20:2, C20:3, C22:4 y C22:5), palmitoleico (C16:1 n-7) y eicosatrienoico (C20:3 n-9).
- 11)** A lo largo del tratamiento, se produjo el aumento de la actividad estimada de delta-5-desaturasa y esteroil-coenzima A desaturasa-18, y el descenso de elongasa-6 de ácidos grasos, esteroil-coenzima A desaturasa-16 y delta-6-desaturasa.
- 12)** La reducción plasmática del ácido mirístico (C14:0) y del ácido linoleico (C18:2 n-6), y el incremento del ácido oleico (C18:1 n-9) y de la actividad enzimática estimada de esteroil-coenzima A desaturasa-18 se asociaron con el descenso de la adiposidad y con una mayor pérdida de peso.
- 13)** La disminución de los ácidos esteárico (C18:0) y γ -linolénico (C18:3 n-6) y de la actividad estimada de delta-6-desaturasa, y el aumento de la actividad de delta-5-desaturasa también se relacionaron con una mayor reducción ponderal.
- 14)** El descenso del ácido mirístico (C14:0) y de la actividad estimada de delta-6-desaturasa, y el incremento de delta-5-desaturasa se asociaron con una mejora del perfil cardiometabólico de los adolescentes.

BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Sabán Ruíz J, Cuesta Muñoz AL (2012) La obesidad como entidad pluripatológica. En: Sabán Ruíz J, editor. Control global del riesgo cardiometabólico. Madrid: Díaz de Santos. pp. 918.
2. Daniels SR, Arnett DK, Eckel RH, Gidding SS, Hayman LL, et al. (2005) Overweight in Children and Adolescents: Pathophysiology, Consequences, Prevention, and Treatment. *Circulation* 111: 1999-2012.
3. Gil A (2010) Tratado de nutrición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Madrid: Médica Panamericana. 963 p.
4. Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL (2012) Krause Dietoterapia. Barcelona: El Sevier, S.L. 1264 p.
5. IOM, NRC (2009) Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines; Rasmussen KM, Yaktine AL, editors. Washington (DC): The National Academies Press. 854 p.
6. Kennedy A, Martinez K, Chuang C-C, LaPoint K, McIntosh M (2009) Saturated Fatty Acid-Mediated Inflammation and Insulin Resistance in Adipose Tissue: Mechanisms of Action and Implications. *The Journal of Nutrition* 139: 1-4.
7. Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O (2007) Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nature Clinical Practice Rheumatology* 3: 716-724.
8. Bays HE, González-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, et al. (2008) Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 6: 343-368.
9. Guilherme A, Virbasius J, Puri V, Czech M (2008) Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology* 9: 367-377.
10. Yasmeen R, Jeyakumar SM, Reichert B, Yang F, Ziouzenkova O (2012) The contribution of vitamin A to autocrine regulation of fat depots. *Biochimica et Biophysica Acta* 1821: 190-197.
11. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K (2011) Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11: 85-97.
12. Schaffer J (2003) Lipotoxicity: when tissues overeat. *Current opinion in lipidology* 14: 281-287.
13. WHO (2006) Overweight and obesity. Geneva: World Health Organization.
14. WHO (2010) Population-based prevention strategies for childhood obesity: report of a WHO forum and technical meeting. Geneva: World Health Organization. 38p.
15. Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, Perez Rodrigo C, Saavedra Santana P, et al. (2003) [Childhood and adolescent obesity in Spain. Results of the enKid study (1998-2000)]. *Med Clin (Barc)* 121: 725-732.

VII. BIBLIOGRAFÍA

16. Garces C, de Oya M (2007) Cardiovascular risk factors in children. Main findings of the Four Provinces study. *Rev Esp Cardiol* 60: 517-524.
17. Martínez Vizcaino V, Salcedo Aguilar F, Franquelo Gutierrez R, Torrijos Regidor R, Morant Sanchez A, et al. (2006) Prevalence of obesity and trends in cardiovascular risk factors among Spanish school children, 1992-2004: the Cuenca (Spain) study. *Med Clin (Barc)* 126: 681-685.
18. (2011) Estudio de prevalencia de la obesidad infantil: Estudio ALADINO (Alimentación, Actividad física, Desarrollo Infantil y Obesidad). *Rev Pediatr Aten Primaria* 13: 493-495.
19. Shuldiner AR, Sabra M (2001) Trp64Arg beta3-adrenoceptor: when does a candidate gene become a disease-susceptibility gene? *Obes Res* 9: 806-809.
20. Youssef H, Groussard C, Pincemail J, Moussa E, Jacob C, et al. (2009) Exercise-induced oxidative stress in overweight adolescent girls: roles of basal insulin resistance and inflammation and oxygen overconsumption. *International Journal of Obesity* 33: 447-455.
21. Aeberli I, Molinari L, Spinaz G, Lehmann R, l'Allemand D, et al. (2006) Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84: 748-755.
22. Gómez Candela C, Loria Kohen V, Dassen C (2009) Elementos relevantes de la dieta en la prevención de la enfermedad cardiovascular. *Formación Médica Continuada en Atención Primaria* 16: 5-13.
23. Calañas-Continento A, Arrizabalaga JJ, Caixàs A, Cuatrecasas G, Díaz-Fernández MJ, et al. (2008) Estrategia terapéutica del exceso de peso en el adolescente y en su familia. *Endocrinol Nutr* 55: 60-77.
24. Regidor E, Gutiérrez FJ (2005) La salud de la población española en el contexto europeo y del Sistema Nacional de Salud. *Indicadores de Salud*. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 336 p.
25. Innis SM (2011) Metabolic programming of long-term outcomes due to fatty acid nutrition in early life. *Maternal & Child Nutrition* 7: 112-123.
26. Hauner H, Brunner S, Amann-Gassner U (2013) The role of dietary fatty acids for early human adipose tissue growth. *The American Journal of Clinical Nutrition* 98: 549S-555S.
27. Symonds ME, Sebert SP, Hyatt MA, Budge H (2009) Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nat Rev Endocrinol* 5: 604-610.
28. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, et al. (2008) Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 453: 783-787.
29. Poissonnet CM, Burdi AR, Bookstein FL (1983) Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Human Development* 8: 1-11.
30. McMillen IC, Robinson JS (2005) Developmental Origins of the Metabolic Syndrome: Prediction, Plasticity, and Programming. *Physiological Reviews* 85: 571-633.
31. Vickers MH, Ikenasio BA, Breier BH (2001) IGF-I treatment reduces hyperphagia, obesity, and hypertension in metabolic disorders induced by fetal programming. *Endocrinology* 142: 3964-3973.

VII. BIBLIOGRAFÍA

32. Sebert SP, Hyatt MA, Chan LL, Patel N, Bell RC, et al. (2009) Maternal nutrient restriction between early and midgestation and its impact upon appetite regulation after juvenile obesity. *Endocrinology* 150: 634-641.
33. Osmond C, Barker DJ (2000) Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. *Environ Health Perspect* 108 Suppl 3: 545-553.
34. Barker DJP, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, et al. (1993) Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341: 938-941.
35. Hattersley AT, Tooke JE (1999) The fetal insulin hypothesis: An alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet* 353: 1789-1792.
36. Labayen I, Ruiz JR, Vicente-Rodríguez G, Turck D, Rodríguez G, et al. (2009) Early Life Programming of Abdominal Adiposity in Adolescents: The HELENA Study. *Diabetes Care* 32: 2120-2122.
37. Bruce KD, Hanson MA (2010) The Developmental Origins, Mechanisms, and Implications of Metabolic Syndrome. *The Journal of Nutrition* 140: 648-652.
38. Heerwagen MJ, Miller MR, Barbour LA, Friedman JE (2010) Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative & Comparative Physiology* 299: R711-722.
39. Taylor PD, Poston L (2007) Developmental programming of obesity in mammals. *Experimental Physiology* 92: 287-298.
40. Rkhzay-Jaf J, O'Dowd JF, Stocker CJ (2012) Maternal Obesity and the Fetal Origins of the Metabolic Syndrome. *Current Cardiovascular Risk Reports* 6: 487-495.
41. Bouret SG (2010) Role of Early Hormonal and Nutritional Experiences in Shaping Feeding Behavior and Hypothalamic Development. *The Journal of Nutrition* 140: 653-657.
42. Dennedy MC, Dunne F (2010) The maternal and fetal impacts of obesity and gestational diabetes on pregnancy outcome. *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism* 24: 573-589.
43. Dennedy MC, Avalos G, O'Reilly MW, O'Sullivan EP, Gaffney G, et al. (2012) ATLANTIC-DIP: Raised Maternal Body Mass Index (BMI) Adversely Affects Maternal and Fetal Outcomes in Glucose-Tolerant Women According to International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) Criteria. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97: E608-E612.
44. Athukorala C, Rumbold AR, Willson KJ, Crowther CA (2010) The risk of adverse pregnancy outcomes in women who are overweight or obese. *BMC Pregnancy Childbirth* 10: 56.
45. Marshall NE, Guild C, Cheng YW, Caughey AB, Halloran DR (2012) Maternal superobesity and perinatal outcomes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 206: 417.e411-417.e416.
46. Jarvie E, Hauguel-de-Mouzon S, Nelson SM, Sattar N, Catalano PM, et al. (2010) Lipotoxicity in obese pregnancy and its potential role in adverse pregnancy outcome and obesity in the offspring. *Clin Sci (Lond)* 119: 123-129.
47. Friis CM, Paasche Roland MC, Godang K, Ueland T, Tanbo T, et al. (2013) Adiposity-related inflammation: Effects of pregnancy. *Obesity* 21: E124-E130.

VII. BIBLIOGRAFÍA

48. Kim Y-J, Hong Y-C, Lee K-H, Park HJ, Park EA, et al. (2005) Oxidative stress in pregnant women and birth weight reduction. *Reproductive Toxicology* 19: 487-492.
49. Stuebe AM, Landon MB, Lai Y, Spong CY, Carpenter MW, et al. (2012) Maternal BMI, glucose tolerance, and adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 207: 62.e61-62.e67.
50. Rooney K, Ozanne SE (2011) Maternal over-nutrition and offspring obesity predisposition: targets for preventative interventions. *Int J Obes* 35: 883-890.
51. Ornoy A (2011) Prenatal origin of obesity and their complications: Gestational diabetes, maternal overweight and the paradoxical effects of fetal growth restriction and macrosomia. *Reproductive Toxicology* 32: 205-212.
52. Clausen T, Burski TK, Oyen N, Godang K, Bollerslev J, et al. (2005) Maternal anthropometric and metabolic factors in the first half of pregnancy and risk of neonatal macrosomia in term pregnancies. A prospective study. *European Journal of Endocrinology* 153: 887-894.
53. Rajasingam D, Seed PT, Briley AL, Shennan AH, Poston L (2009) A prospective study of pregnancy outcome and biomarkers of oxidative stress in nulliparous obese women. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 200: 395.e391-395.e399.
54. Park E (2010) Birth weight was negatively correlated with plasma ghrelin, insulin resistance, and coenzyme Q10 levels in overweight children. *Nutr Res Pract* 4: 311-316.
55. Durmus B, Kruithof CJ, Gillman MH, Willemsen SP, Hofman A, et al. (2011) Parental smoking during pregnancy, early growth, and risk of obesity in preschool children: the Generation R Study. *Am J Clin Nutr* 94: 164-171.
56. Poston L, Harthoorn LF, Van Der Beek EM (2011) Obesity in pregnancy: implications for the mother and lifelong health of the child. A consensus statement. *Pediatr Res* 69: 175-180.
57. Mathieu P, Lemieux I, Després JP (2010) Obesity, inflammation, and cardiovascular risk. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 87: 407-416.
58. Zhang L, Zhang WH, Zhang L, Wang PY (2011) Prevalence of Overweight/Obesity and its Associations with Hypertension, Diabetes, Dyslipidemia, and Metabolic Syndrome: A Survey in the Suburban Area of Beijing, 2007. *Obesity Facts* 4: 284-289.
59. van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB (2006) The relationship between overweight in adolescence and premature death in women. *Ann Intern Med* 145: 91-97.
60. Aasheim ET, Hofsø D, Hjelmessaeth J, Birkeland KI, T B (2008) Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 87: 362-369.
61. Molnar D, Decsi T, Koletzko B (2004) Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *International Journal of Obesity* 28: 1197-1202.
62. Okada T, Furuhashi N, Kuromori Y, Miyashita M, Iwata F, et al. (2005) Plasma palmitoleic acid content and obesity in children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82: 747-750.
63. Chai W, Conroy SM, Maskarinec G, Franke AA, Pagano IS, et al. (2010) Associations between obesity and serum lipid-soluble micronutrients among premenopausal women. *Nutrition Research* 30: 227-232.

VII. BIBLIOGRAFÍA

64. Shin M-J, Park E (2006) Contribution of insulin resistance to reduced antioxidant enzymes and vitamins in nonobese Korean children. *Clinica Chimica Acta* 365: 200-205.
65. Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio M, et al. (2005) Increased Oxidative Stress in Prepubertal Severely Obese Children: Effect of a Dietary Restriction-Weight Loss Program. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90: 2653-2658.
66. Codoñer-Franch P, Valls-Bellés V, Arilla-Codoñer A, Alonso-Iglesias E (2011) Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research* 158: 369-384.
67. Santarpia L, Contaldo F, Pasanisi F (2013) Body composition changes after weight-loss interventions for overweight and obesity. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* 32: 157-161.
68. Baxheinrich A, Stratmann B, Lee-Barkey YH, Tschoepe D, Wahrburg U (2012) Effects of a rapeseed oil-enriched hypoenergetic diet with a high content of α -linolenic acid on body weight and cardiovascular risk profile in patients with the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition* 108: 682-691.
69. Noakes M, Foster PR, Keogh JB, Clifton PM (2004) Meal replacements are as effective as structured weight-loss diets for treating obesity in adults with features of metabolic syndrome. *Journal of Nutrition* 134: 1894-1899.
70. Devaraj S, Kasim-Karakas S, Jialal I (2006) The effect of weight loss and dietary fatty acids on inflammation. *Current Atherosclerosis Reports* 8: 477-486.
71. Tzotzas T, Evangelou P, Kiortsis DN (2011) Obesity, weight loss and conditional cardiovascular risk factors. *Obesity Reviews* 12: e282-e289.
72. Aviram A, Hod M, Yogev Y (2011) Maternal obesity: Implications for pregnancy outcome and long-term risks-a link to maternal nutrition. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 115, Supplement 1: S6-S10.
73. Taggart NR, Holliday RM, Billewicz WZ, Hytten FE, Thomson AM (1967) Changes in skinfolds during pregnancy. *Br J Nutr* 21: 439-451.
74. Ehrenberg HM, Huston-Presley L, Catalano PM (2003) The influence of obesity and gestational diabetes mellitus on accretion and the distribution of adipose tissue in pregnancy. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 189: 944-948.
75. Kinoshita T, Itoh M (2006) Longitudinal variance of fat mass deposition during pregnancy evaluated by ultrasonography: the ratio of visceral fat to subcutaneous fat in the abdomen. *Gynecologic & Obstetric Investigation* 61: 115-118.
76. Cabero L, Saldívar D, Cabrillo E (2007) *Obstetricia y medicina materno-fetal*. Madrid: Panamericana. 1390 p.
77. Pitkin RM (1976) Nutritional support in obstetrics and gynecology. *Clinical Obstetrics & Gynecology* 19: 489-513.
78. Rooney BL, Schauburger CW (2002) Excess Pregnancy Weight Gain and Long-Term Obesity: One Decade Later. *Obstetrics & Gynecology* 100: 245-252.
79. Vesco KK, Sharma AJ, Dietz PM, Rizzo JH, Callaghan WM, et al. (2011) Newborn size among obese women with weight gain outside the 2009 Institute of Medicine recommendation. *Obstetrics & Gynecology* 117: 812-818.

VII. BIBLIOGRAFÍA

80. Bodnar LM, Siega-Riz AM, Simhan HN, Himes KP, Abrams B (2010) Severe obesity, gestational weight gain, and adverse birth outcomes. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91: 1642-1648.
81. Blomberg M (2011) Maternal and Neonatal Outcomes Among Obese Women With Weight Gain Below the New Institute of Medicine Recommendations. *Obstetrics & Gynecology* 117: 1065-1070.
82. Gordon-Larsen P, Adair LS, Nelson MC, Popkin BM (2004) Five-year obesity incidence in the transition period between adolescence and adulthood: the National Longitudinal Study of Adolescent Health. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80: 569-575.
83. WHO (2006) WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development. Geneva: World Health Organization. 312 p.
84. Calañas-Continente A, Jose Arrizabalaga J, Caixas A, Cordido F (2010) Recomendaciones diagnósticas y terapéuticas en el sobrepeso y la obesidad durante la adolescencia. *Med Clin (Barc)* 135: 265-273.
85. Dalmau Serra J, Alonso Franch M, Gomez Lopez L, Martinez Costa C, Sierra Salinas C (2007) Obesidad infantil. Recomendaciones del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría, parte II. Diagnóstico, comorbilidades, tratamiento. *An Pediatr (Barc)* 66: 294-304.
86. Salas-Salvado J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B (2007) Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)* 128: 184-196.
87. Reinehr T, de Sousa G, Toschke AM, Andler W (2006) Long-term follow-up of cardiovascular disease risk factors in children after an obesity intervention. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84: 490-496.
88. Rowley KG, Su Q, Cincotta M, Skinner M, Skinner K, et al. (2001) Improvements in circulating cholesterol, antioxidants, and homocysteine after dietary intervention in an Australian Aboriginal community. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74: 442-448.
89. Simopoulos AP (2008) The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology & Medicine* 233: 674-688.
90. Mataix Verdú J (2002) Nutrición y alimentación humana: nutrientes y alimentos. Madrid: Ergón. 700 p.
91. Harnack K, Andersen G, Somoza V (2009) Quantitation of alpha-linolenic acid elongation to eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid as affected by the ratio of n6/n3 fatty acids. *Nutrition & Metabolism* 6: 8.
92. AOCS (2012) Fatty Acids and Eicosanoids. En <http://lipidlibrary.aocs.org>. The AOCS Lipid Library.
93. Tapiero H, Nguyen Ba G, Couvreur P, Tew KD (2002) Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56: 215-222.
94. Jehangir ND, David EN, Andrew DF (2004) Omega 3 fatty acids and cardiovascular diseases-fishing for a natural treatment. *BMJ* 328: 30-35.

VII. BIBLIOGRAFÍA

95. Shimano H (2012) Novel qualitative aspects of tissue fatty acids related to metabolic regulation: Lessons from Elovl6 knockout. *Progress in Lipid Research* 51: 267-271.
96. Jump DB, Depner CM, Tripathy S (2012) Omega-3 fatty acid supplementation and cardiovascular disease: Thematic Review Series: New Lipid and Lipoprotein Targets for the Treatment of Cardiometabolic Diseases. *Journal of Lipid Research* 53: 2525-2545.
97. Desforges M, Sibley CP (2010) Placental nutrient supply and fetal growth. *Int J Dev Biol* 54: 377-390.
98. Gil-Sánchez A, Koletzko B, Larqué E (2012) Current understanding of placental fatty acid transport. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 15: 265-272.
99. Lager S, Powell TL (2012) Regulation of nutrient transport across the placenta. *Journal of pregnancy* 2012: 1-14.
100. Constancia M, Angiolini E, Sandovici I, Smith P, Smith R, et al. (2005) Adaptation of nutrient supply to fetal demand in the mouse involves interaction between the *Igf2* gene and placental transporter systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 19219-19224.
101. Smerieri A, Petraroli M, Ziveri MA, Volta C, Bernasconi S, et al. (2011) Effects of cord serum insulin, IGF-II, IGFBP-2, IL-6 and cortisol concentrations on human birth weight and length: pilot study. *PLoS One* 6: e29562.
102. Christou H, Connors JM, Ziotopoulou M, Hatzidakis V, Papathanassoglou E, et al. (2001) Cord blood leptin and insulin-like growth factor levels are independent predictors of fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 935-938.
103. Haggarty P (2010) Fatty acid supply to the human fetus. *Annu Rev Nutr* 30: 237-255.
104. Gil-Sánchez A, Larqué E, Demmelmair H, Acien MI, Faber FL, et al. (2010) Maternal-fetal in vivo transfer of [¹³C]docosahexaenoic and other fatty acids across the human placenta 12 h after maternal oral intake. *The American Journal of Clinical Nutrition* 92: 115-122.
105. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA (2008) Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Progress in Lipid Research* 47: 348-380.
106. Puiggròs F, Solà R, Bladé C, Salvadó M-J, Arola L Nutritional biomarkers and foodomic methodologies for qualitative and quantitative analysis of bioactive ingredients in dietary intervention studies. *Journal of Chromatography A* 1218: 7399-7414.
107. Lottenberg AM, Afonso MdS, Lavrador MSF, Machado RM, Nakandakare ER (2012) The role of dietary fatty acids in the pathology of metabolic syndrome. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 23: 1027-1040.
108. Georgieff MK, Innis SM (2005) Controversial nutrients that potentially affect preterm neurodevelopment: essential fatty acids and iron. *Pediatr Res* 57: 99R-103R.
109. Rice D, Barone S, Jr. (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect* 108 Suppl 3: 511-533.

VII. BIBLIOGRAFÍA

110. Makrides M, Collins CT, Gibson RA (2011) Impact of fatty acid status on growth and neurobehavioural development in humans. *Maternal & Child Nutrition* 7 Suppl 2: 80-88.
111. Ailhaud G, Massiera F, Weill P, Legrand P, Alessandri JM, et al. (2006) Temporal changes in dietary fats: Role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Progress in Lipid Research* 45: 203-236.
112. Muhlhauser BS, Ailhaud GP (2013) Omega-6 polyunsaturated fatty acids and the early origins of obesity. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 20: 56-61.
113. Hauner H, Vollhardt C, Schneider KTM, Zimmermann A, Schuster T, et al. (2009) The impact of nutritional fatty acids during pregnancy and lactation on early human adipose tissue development. *Annals of Nutrition & Metabolism* 54: 97-103.
114. Tontonoz P, Spiegelman BM (2008) Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. *Annu Rev Biochem* 77: 289-312.
115. Massiera F, Barbry P, Guesnet P, Joly AI, Luquet S, et al. (2010) A Western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations. *Journal of Lipid Research* 51: 2352-2361.
116. Page KC, Malik RE, Ripple JA, Anday EK (2009) Maternal and postweaning diet interaction alters hypothalamic gene expression and modulates response to a high-fat diet in male offspring. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative & Comparative Physiology* 297: R1049-1057.
117. Grayson BE, Levasseur PR, Williams SM, Smith MS, Marks DL, et al. (2010) Changes in Melanocortin Expression and Inflammatory Pathways in Fetal Offspring of Nonhuman Primates Fed a High-Fat Diet. *Endocrinology* 151: 1622-1632.
118. Burghardt PR, Kemmerer ES, Buck BJ, Osetek AJ, Yan C, et al. (2010) Dietary n-3:n-6 fatty acid ratios differentially influence hormonal signature in a rodent model of metabolic syndrome relative to healthy controls. *Nutr Metab (Lond)* 7: 53.
119. Mathai ML, Soueid M, Chen N, Jayasooriya AP, Sinclair AJ, et al. (2004) Does perinatal omega-3 polyunsaturated fatty acid deficiency increase appetite signaling? *Obes Res* 12: 1886-1894.
120. Helland IB, Smith L, Blomen B, Saarem K, Saugstad OD, et al. (2008) Effect of supplementing pregnant and lactating mothers with n-3 very-long-chain fatty acids on children's IQ and body mass index at 7 years of age. *Pediatrics* 122: e472-479.
121. Lauritzen L, Hoppe C, Straarup EM, Michaelsen KF (2005) Maternal fish oil supplementation in lactation and growth during the first 2.5 years of life. *Pediatr Res* 58: 235-242.
122. Kennedy K, Ross S, Isaacs EB, Weaver LT, Singhal A, et al. (2010) The 10-year follow-up of a randomised trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants: effects on growth and blood pressure. *Archives of Disease in Childhood* 95: 588-595.
123. Donahue SM, Rifas-Shiman SL, Olsen SF, Gold DR, Gillman MW, et al. (2009) Associations of maternal prenatal dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids with

VII. BIBLIOGRAFÍA

- maternal and umbilical cord blood levels. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids* 80: 289-296.
124. van Eijsden M, Hornstra G, van der Wal MF, Vrijkotte TG, Bonsel GJ (2008) Maternal n-3, n-6, and trans fatty acid profile early in pregnancy and term birth weight: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr* 87: 887-895.
 125. Gaillard D, Negrel R, Lagarde M, Ailhaud G (1989) Requirement and role of arachidonic acid in the differentiation of pre-adipose cells. *Biochemical Journal* 257: 389-397.
 126. Javadi M, Everts H, Hovenier R, Kocsis S, Lankhorst E, et al. (2004) The effect of six different C18 fatty acids on body fat and energy metabolism in mice. *British Journal of Nutrition* 92: 391-399.
 127. Muhlhausler BS, Cook-Johnson R, James M, Miljkovic D, Duthoit E, et al. (2010) Opposing effects of omega-3 and omega-6 long chain polyunsaturated fatty acids on the expression of lipogenic genes in omental and retroperitoneal adipose depots in the rat. *Journal of Nutrition and Metabolism* 2010.
 128. Donahue SMA, Rifas-Shiman SL, Gold DR, Jouni ZE, Gillman MW, et al. (2011) Prenatal fatty acid status and child adiposity at age 3 y: results from a US pregnancy cohort. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93: 780-788.
 129. Rytter D, Bech BH, Christensen JH, Schmidt EB, Henriksen TB, et al. (2011) Intake of fish oil during pregnancy and adiposity in 19-y-old offspring: follow-up on a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition* 94: 701-708.
 130. Krauss-Etschmann S, Shadid R, Campoy C, Hoster E, Demmelmair H, et al. (2007) Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. *Am J Clin Nutr* 85: 1392-1400.
 131. Labayen I, Moreno LA, Ruiz JR, Ortega FB, Sjostrom M, et al. (2011) Associations of birth weight with serum long chain polyunsaturated fatty acids in adolescents; the HELENA study. *Atherosclerosis* 217: 286-291.
 132. Much D, Brunner S, Vollhardt C, Schmid D, Sedlmeier EM, et al. (2013) Effect of dietary intervention to reduce the n-6/n-3 fatty acid ratio on maternal and fetal fatty acid profile and its relation to offspring growth and body composition at 1 year of age. *Eur J Clin Nutr* 67: 282-288.
 133. Tierney AC, McMonagle J, Shaw DI, Gulseth HL, Helal O, et al. (2011) Effects of dietary fat modification on insulin sensitivity and on other risk factors of the metabolic syndrome-LIPGENE: a European randomized dietary intervention study. *International Journal of Obesity* 35: 800-809.
 134. Klein-Platat C, Draï J, Oujaa M, Schlienger J-L, Simon C (2005) Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82: 1178-1184.
 135. Gong J, Campos H, McGarvey S, Wu Z, Goldberg R, et al. (2011) Adipose tissue palmitoleic acid and obesity in humans: does it behave as a lipokine? *The American Journal of Clinical Nutrition* 93: 186-191.
 136. Mayneris-Perxachs J, Guerediain M, Castellote AI, Estruch R, Covas MI, et al. (2013) Plasma fatty acid composition, estimated desaturase activities, and their

VII. BIBLIOGRAFÍA

- relation with the metabolic syndrome in a population at high risk of cardiovascular disease. *Clinical Nutrition* doi: 10.1016/j.clnu.2013.03.001.
137. Shab-Bidar S, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P, Hosseinpour-Niazi S, Azizi F (2013) Metabolic syndrome profiles, obesity measures and intake of dietary fatty acids in adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *Journal of Human Nutrition & Dietetics*.
 138. Steffen LM, Vessby B, Jacobs DR, Jr., Steinberger J, Moran A, et al. (2008) Serum phospholipid and cholesteryl ester fatty acids and estimated desaturase activities are related to overweight and cardiovascular risk factors in adolescents. *Int J Obes (Lond)* 32: 1297-1304.
 139. van Dijk SJ, Feskens EJM, Bos MB, Hoelen DWM, Heijligenberg R, et al. (2009) A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene expression profile in adipose tissue of subjects at risk of metabolic syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition* 90: 1656-1664.
 140. Pérez-Martínez P, García-Ríos A, Delgado-Lista J, Pérez-Jimenez F, López-Miranda J (2011) Mediterranean diet rich in olive oil and obesity, metabolic syndrome and diabetes mellitus. *Current Pharmaceutical Design* 17: 769-777.
 141. Schwingshackl L, Strasser B, Hoffmann G (2011) Effects of Monounsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Risk Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Nutrition & Metabolism* 59: 176-186.
 142. Cao H, Gerhold K, Mayers JR, Wiest MM, Watkins SM, et al. (2008) Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism. *Cell* 134: 933-944.
 143. Abete I, Goyenechea E, Zulet MA, Martínez JA (2011) Obesity and metabolic syndrome: Potential benefit from specific nutritional components. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 21, Supplement 2: B1-B15.
 144. Martínez-Victoria E, Yago MD (2012) Omega 3 polyunsaturated fatty acids and body weight. *British Journal of Nutrition* 107: S107-S116.
 145. Alveheim AR, Malde MK, Osei-Hyiaman D, Hong YH, Pawlosky RJ, et al. (2012) Dietary Linoleic Acid Elevates Endogenous 2-AG and Anandamide and Induces Obesity. *Obesity* 20: 1984-1994.
 146. Hartwich J, Malec MM, Partyka L, Pérez-Martinez P, Marin C, et al. (2009) The effect of the plasma n-3/n-6 polyunsaturated fatty acid ratio on the dietary LDL phenotype transformation - Insights from the LIPGENE study. *Clinical Nutrition* 28: 510-515.
 147. Wong ATY, Chan DC, Barrett PHR, Adams LA, Watts GF (2013) Supplementation with n3 Fatty Acid Ethyl Esters Increases Large and Small Artery Elasticity in Obese Adults on a Weight Loss Diet. *The Journal of Nutrition* 143: 437-441.
 148. Rangel-Huerta OD, Aguilera CM, Mesa MD, Gil A (2012) Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: a systematic review of randomised clinical trials. *British Journal of Nutrition* 107: S159-S170.
 149. Jump DB (2011) Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 14: 115-120.
 150. Kotronen A, Seppänen-Laakso T, Westerbacka J, Kiviluoto T, Arola J, et al. (2010) Comparison of Lipid and Fatty Acid Composition of the Liver, Subcutaneous and Intra-abdominal Adipose Tissue, and Serum. *Obesity* 18: 937-944.

VII. BIBLIOGRAFÍA

151. Brown JM, Chung S, Sawyer JK, Degirolamo C, Alger HM, et al. (2008) Inhibition of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase 1 Dissociates Insulin Resistance and Obesity From Atherosclerosis. *Circulation* 118: 1467-1475.
152. Saito E, Okada T, Abe Y, Kuromori Y, Miyashita M, et al. (2011) Docosahexaenoic Acid Content in Plasma Phospholipids and Desaturase Indices in Obese Children. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 18: 345-350.
153. Warensjo E, Rosell M, Hellenius M-L, Vessby B, De Faire U, et al. (2009) Associations between estimated fatty acid desaturase activities in serum lipids and adipose tissue in humans: links to obesity and insulin resistance. *Lipids in Health & Disease* 8: 37.
154. Obermuller-Jevic UC, Packer L, Editors-in-Chief: William JL, Lane MD (2004) Vitamin E. *Encyclopedia of Biological Chemistry*. New York: Elsevier. pp. 384-388.
155. Colombo ML (2010) An Update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol- Perspectives. *Molecules* 15: 2103-2113.
156. Traber MG, Stevens JF (2011) Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology & Medicine* 51: 1000-1013.
157. Brigelius-Flohé R, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg J-M, et al. (2002) The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76: 703-716.
158. Brigelius-Flohé R (2009) Vitamin E: The shrew waiting to be tamed. *Free Radical Biology & Medicine* 46: 543-554.
159. Zillikens MC, van Meurs JBJ, Rivadeneira F, Hofman A, Oostra BA, et al. (2010) Interactions between dietary vitamin E intake and SIRT1 genetic variation influence body mass index. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91: 1387-1393.
160. Wallström P, Wirfält E, Lahmann PH, Gullberg B, Janzon L, et al. (2001) Serum concentrations of β -carotene and α -tocopherol are associated with diet, smoking, and general and central adiposity. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73: 777-785.
161. Duncan A, Talwar D, McMillan DC, Stefanowicz F, O'Reilly DSJ (2012) Quantitative data on the magnitude of the systemic inflammatory response and its effect on micronutrient status based on plasma measurements. *The American Journal of Clinical Nutrition* 95: 64-71.
162. Sun CH, Li Y, Zhang YB, Wang F, Zhou XL, et al. (2011) The effect of vitamin-mineral supplementation on CRP and IL-6: A systemic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 21: 576-583.
163. Calder PC, Albers R, Antoine JM, Blum S, Bourdet-Sicard R, et al. (2009) Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition. *British Journal of Nutrition* 101: 1-45.
164. Dwyer JH, Paul-Labrador MJ, Fan J, Shircore AM, Merz CNB, et al. (2004) Progression of Carotid Intima-Media Thickness and Plasma Antioxidants: The Los Angeles Atherosclerosis Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, & Vascular Biology* 24: 313-319.
165. Beydoun MA, Canas JA, Beydoun HA, Chen X, Shroff MR, et al. (2012) Serum Antioxidant Concentrations and Metabolic Syndrome Are Associated among

VII. BIBLIOGRAFÍA

- U.S. Adolescents in Recent National Surveys. *The Journal of Nutrition* 142: 1693-1704.
166. Buijsse B, Feskens EJM, Schlettwein-Gsell D, Ferry M, Kok FJ, et al. (2005) Plasma carotene and α -tocopherol in relation to 10-y all-cause and cause-specific mortality in European elderly: the Survey in Europe on Nutrition and the Elderly, a Concerted Action (SENECA). *The American Journal of Clinical Nutrition* 82: 879-886.
 167. Ross AC, Earl HH (2007) *Vitamin A. Handbook of Vitamins, Fourth Edition*: CRC Press.
 168. Bonet ML, Ribot J, Palou A (2011) Lipid metabolism in mammalian tissues and its control by retinoic acid. *Biochimica et Biophysica Acta* 1821: 177-189.
 169. Pipaliya H, Vaghasiya J (2012) Cardio Protective Effect of Vitamin A against Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction. *Journal of Nutritional Science & Vitaminology* 58: 402-407.
 170. Al Tanoury Z, Piskunov A, Rochette-Egly C (2013) Vitamin A and retinoid signaling: genomic and non-genomic effects. *Journal of Lipid Research* 54: 1761-1775.
 171. Wolf G (2010) Retinoic acid activation of peroxisome proliferation-activated receptor δ represses obesity and insulin resistance. *Nutrition Reviews* 68: 67-70.
 172. Berry DC, Noy N (2009) All-trans-Retinoic Acid Represses Obesity and Insulin Resistance by Activating both Peroxisome Proliferation-Activated Receptor beta/delta and Retinoic Acid Receptor. *Molecular & Cellular Biology* 29: 3286-3296.
 173. Gey KF, Ducimetière P, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, et al. (2010) Low plasma retinol predicts coronary events in healthy middle-aged men: The PRIME Study. *Atherosclerosis* 208: 270-274.
 174. Graça Dias Md (2012) *Hydrocarbon Carotenoids. Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*: CRC Press. pp. 243-266.
 175. Rao AV, Rao LG (2007) Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55: 207-216.
 176. Mordente A, Guantario B, Meucci E, Silvestrini A, Lombardi E, et al. (2011) Lycopene and Cardiovascular Diseases: An Update. *Current Medicinal Chemistry* 18: 1146-1163.
 177. Palozza P, Parrone N, Catalano A, Simone R (2010) Tomato Lycopene and Inflammatory Cascade: Basic Interactions and Clinical Implications. *Current Medicinal Chemistry* 17: 2547-2563.
 178. Richard MF, Susan S (2000) *Carotenoids, Metabolism and Disease. Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*: CRC Press.
 179. Stahl W, Junghans A, de Boer B, Driomina ES, Briviba K, et al. (1998) Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Letters* 427: 305-308.
 180. Wang L, Gaziano JM, Norkus EP, Buring JE, Sesso HD (2008) Associations of plasma carotenoids with risk factors and biomarkers related to cardiovascular disease in middle-aged and older women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 88: 747-754.
 181. Lobo GP, Amengual J, Li HNM, Golczak M, Bonet ML, et al. (2010) β,β -Carotene Decreases Peroxisome Proliferator Receptor γ Activity and Reduces Lipid

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Storage Capacity of Adipocytes in a β,β -Carotene Oxygenase 1-dependent Manner. *Journal of Biological Chemistry* 285: 27891-27899.
182. Sluijs I, Beulens JWJ, Grobbee DE, van der Schouw YT (2009) Dietary Carotenoid Intake Is Associated with Lower Prevalence of Metabolic Syndrome in Middle-Aged and Elderly Men. *The Journal of Nutrition* 139: 987-992.
 183. Rydén M, Garvin P, Kristenson M, Leanderson P, Ernerudh J, et al. (2012) Provitamin A carotenoids are independently associated with matrix metalloproteinase-9 in plasma samples from a general population. *Journal of Internal Medicine* 272: 371-384.
 184. Rock CL, Pakiz B, Flatt SW, Quintana EL (2007) Randomized trial of a multifaceted commercial weight loss program. *Obesity* 15: 939-949.
 185. Pennathur S, Maitra D, Byun J, Sliskovic I, Abdulhamid I, et al. (2010) Potent antioxidative activity of lycopene: A potential role in scavenging hypochlorous acid. *Free Radical Biology & Medicine* 49: 205-213.
 186. Karppi J, Nurmi T, Kurl S, Rissanen TH, Nyyssönen K (2010) Lycopene, lutein and β -carotene as determinants of LDL conjugated dienes in serum. *Atherosclerosis* 209: 565-572.
 187. Gouranton E, Thabuis C, Riollot C, Malezet-Desmoulins C, El Yazidi C, et al. (2011) Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 22: 642-648.
 188. Coyne T, Ibiebele TI, Baade PD, Dobson A, McClintock C, et al. (2005) Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82: 685-693.
 189. Jang Y, Lee JH, Cho EY, Chung NS, Topham D, et al. (2001) Differences in body fat distribution and antioxidant status in Korean men with cardiovascular disease with or without diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73: 68-74.
 190. Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, Gaziano JM (2004) Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 47-53.
 191. Rivera SM, Canela-Garayoa R (2012) Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. *J Chromatogr A* 1224: 1-10.
 192. Ye L, Eitenmiller R (2004) Analysis of fat-soluble vitamins in food. In: Nollet LML, editor. *Handbook of Food Analysis: Methods and instruments in applied food analysis*. New York: CRC PRESS. pp. 2226.
 193. Su Q, Rowley KG, Balazs ND (2002) Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 781: 393-418.
 194. Eder R (2004) Pigments. In: Nollet LML, editor. *Handbook of Food Analysis: Methods and instruments in applied food analysis*. New York: CRC PRESS. pp. 2226.
 195. Citova I, Havlikova L, Urbanek L, Solichova D, Novakova L, et al. (2007) Comparison of a novel ultra-performance liquid chromatographic method for determination of retinol and alpha-tocopherol in human serum with conventional HPLC using monolithic and particulate columns. *Anal Bioanal Chem* 388: 675-681.

VII. BIBLIOGRAFÍA

196. Lai JF, Franke AA (2013) Analysis of circulating lipid-phase micronutrients in humans by HPLC: Review and overview of new developments. *Journal of Chromatography B* 931: 23-41.
197. Abidi SL (2000) Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. *Journal of Chromatography A* 881: 197-216.
198. Karppi J, Nurmi T, Olmedilla-Alonso B, Granado-Lorencio F, Nyssönen K (2008) Simultaneous measurement of retinol, α -tocopherol and six carotenoids in human plasma by using an isocratic reversed-phase HPLC method. *Journal of Chromatography B* 867: 226-232.
199. Lee BL, Ong CN (2009) Comprehensive high-performance liquid chromatographic method for the measurements of lipophilic antioxidants in human plasma. *Journal of Chromatography A* 1216: 3131-3137.
200. Gentili A, Caretti F (2011) Evaluation of a method based on liquid chromatography-diode array detector-tandem mass spectrometry for a rapid and comprehensive characterization of the fat-soluble vitamin and carotenoid profile of selected plant foods. *Journal of Chromatography A* 1218: 684-697.
201. Thibeault D, Su H, MacNamara E, Schipper HM (2009) Isocratic rapid liquid chromatographic method for simultaneous determination of carotenoids, retinol, and tocopherols in human serum. *Journal of Chromatography B* 877: 1077-1083.
202. Welsch T, Michalke D (2003) (Micellar) electrokinetic chromatography: an interesting solution for the liquid phase separation dilemma. *J Chromatogr A* 1000: 935-951.
203. Gerber F, Krummen M, Potgeter H, Roth A, Siffrin C, et al. (2004) Practical aspects of fast reversed-phase high-performance liquid chromatography using 3 microm particle packed columns and monolithic columns in pharmaceutical development and production working under current good manufacturing practice. *Journal of Chromatography A* 1036: 127-133.
204. de Villiers A, Lestremau F, Szucs R, Gelebart S, David F, et al. (2006) Evaluation of ultra performance liquid chromatography. Part I. Possibilities and limitations. *Journal of Chromatography A* 1127: 60-69.
205. Waters (2013): <http://www.waters.com>
206. Nováková L, Matysová L, Solich P (2006) Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis. *Talanta* 68: 908-918.
207. Moltó-Puigmartí C, Castellote AI, López-Sabater MC (2009) Ultra-High-Pressure Liquid Chromatographic method for the analysis of tocopherols in human colostrum and milk. *Journal of Chromatography A* 1216: 4388-4394.
208. Granado-Lorencio F, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B (2010) Suitability of ultra-high performance liquid chromatography for the determination of fat-soluble nutritional status (vitamins A, E, D, and individual carotenoids). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397: 1389-1393.
209. Campoy C, Martín-Bautista E, García-Valdés L, Florido J, Agil A, et al. (2008) Estudio de la influencia de la nutrición y genética maternas sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo fetal (Estudio PREOBE). *Nutrición Hospitalaria* 23: 584-590.
210. Santacruz A, Collado MC, García-Valdés L, Segura MT, Martín-Lagos JA, et al. (2010) Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain

VII. BIBLIOGRAFÍA

- and biochemical parameters in pregnant women. *British Journal of Nutrition* 104: 83-92.
211. Farran A, Zamora R, Cervera P (2004) *Tablas de Composición de Alimentos CESNID*. Barcelona: Edicions Universitat de Barcelona-McGraw-Hill/Interamericana.
 212. Fanelli MT, Kuczmarski RJ, Hirsch M (1988) Estimation of body fat from ultrasound measures of subcutaneous fat and circumferences in obese women. *Int J Obes* 12: 125-132.
 213. Perin F, Pittet JC, Schnebert S, Perrier P, Tranquart F, et al. (2000) Ultrasonic assessment of variations in thickness of subcutaneous fat during the normal menstrual cycle. *Eur J Ultrasound* 11: 7-14.
 214. Tim JC, Mary CB, Katherine MF, William HD (2000) Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ* 320: 1240.
 215. Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Marti A, Martin-Matillas M, et al. (2009) Interplay Between Weight Loss and Gut Microbiota Composition in Overweight Adolescents. *Obesity* 17: 1906-1915.
 216. Martinez-Gomez D, Gomez-Martinez S, Puertollano MA, Nova E, Warnberg J, et al. (2009) Design and evaluation of a treatment programme for Spanish adolescents with overweight and obesity. The EVASYON Study. *BMC Public Health* 9: 414.
 217. Marqués M, Moleres A, Rendo-Urteaga T, Gómez-Martínez S, Zapatera B, et al. (2012) Design of the nutritional therapy for overweight and obese Spanish adolescents conducted by registered dietitians: the EVASYON study. *Nutrición Hospitalaria* 27: 165-176.
 218. Freedson P, Pober D, Janz KF (2005) Calibration of accelerometer output for children. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 37: S523-530.
 219. Martinez-Gomez D, Martinez-de-Haro V, Pozo T, Welk GJ, Villagra A, et al. (2009) Reliability and validity of the PAQ-A questionnaire to assess physical activity in Spanish adolescents. *Rev Esp Salud Publica* 83: 427-439.
 220. Moreno LA, Joyanes M, Mesana MI, Gonzalez-Gross M, Gil CM, et al. (2003) Harmonization of anthropometric measurements for a multicenter nutrition survey in Spanish adolescents. *Nutrition* 19: 481-486.
 221. Tanner JM, Whitehouse RH (1976) Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Archives of Disease in Childhood* 51: 170-179.
 222. Topouchian JA, El Assaad MA, Orobinskaia LV, El Feghali RN, Asmar RG (2006) Validation of two automatic devices for self-measurement of blood pressure according to the International Protocol of the European Society of Hypertension: the Omron M6 (HEM-7001-E) and the Omron R7 (HEM 637-IT). *Blood Pressure Monitoring* 11: 165-171
 223. Quiles Marcos Y, Terol Cantero MC (2009) Assesment of social support dimensions in patients with eating disorders. *Span J Psychol* 12: 226-235.
 224. Vandereycken W (1992) Validity and reliability of the Anorectic Behavior Observation Scale for parents. *Acta Psychiatr Scand* 85: 163-166.
 225. Schoemaker C, Verbraak M, Breteler R, van der Staak C (1997) The discriminant validity of the Eating Disorder Inventory--2. *Br J Clin Psychol* 36 (Pt 4): 627-629.

VII. BIBLIOGRAFÍA

226. Wallach J (2011) Interpretation of Diagnostic Tests. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1160 p.
227. Chisaguano AM, Lozano B, Molto-Puigmarti C, Castellote AI, Rafecas M, et al. (2013) Elaidic acid, vaccenic acid and rumenic acid (c9,t11-CLA) determination in human plasma phospholipids and human milk by fast gas chromatography. *Analytical Methods* 5: 1264-1272.
228. Bondia-Pons I, Castellote AI, Lopez-Sabater MC (2004) Comparison of conventional and fast gas chromatography in human plasma fatty acid determination. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Bio* 809: 339-344.
229. Guerendiain M, Mayneris-Perxachs J, López-Belmonte G, Martín-Matillas M, Castellote AI, et al. (2013) Relation between plasma antioxidant vitamin levels, adiposity and cardio-metabolic profile in adolescents: effects of a multidisciplinary obesity programme. Submitted to PLOS ONE.
230. Mack Publ. (1989) The United States Pharmacopeia (USP XXIII). Easton: Mack Printing, P.A. 1711 p.
231. Battaglia FC, Lubchenco LO (1967) A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 71: 159-163.
232. Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventos RM, de la Torre-Boronat MC, Lopez-Sabater MC (2001) Rapid high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in human plasma and low-density lipoproteins. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 758: 315-322.
233. Wadhvani NS, Pisal HR, Mehendale SS, Joshi SR (2013) A prospective study of maternal fatty acids, micronutrients and homocysteine and their association with birth outcome. *Maternal & Child Nutrition*.
234. Martinez M, Mougán I (1998) Fatty acid composition of human brain phospholipids during normal development. *J Neurochem* 71: 2528-2533.
235. Enke U, Jaudszus A, Schleussner E, Seyfarth L, Jahreis G, et al. (2011) Fatty acid distribution of cord and maternal blood in human pregnancy: special focus on individual trans fatty acids and conjugated linoleic acids. *Lipids in Health & Disease* 10: 247.
236. Herrera E, Amusquivar E (2000) Lipid metabolism in the fetus and the newborn. *Diabetes/Metabolism Research & Reviews* 16: 202-210.
237. Herrera E, Ortega H, Alvino G, Giovannini N, Amusquivar E, et al. (2004) Relationship between plasma fatty acid profile and antioxidant vitamins during normal pregnancy. *European Journal of Clinical Nutrition* 58: 1231-1238.
238. Kuipers RS, Luxwolda MF, Janneke Dijck-Brouwer DA, Muskiet FAJ (2011) Intrauterine, postpartum and adult relationships between arachidonic acid (AA) and docosahexaenoic acid (DHA). *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids* 85: 245-252.
239. Innis SM (2007) Dietary (n-3) Fatty Acids and Brain Development. *The Journal of Nutrition* 137: 855-859.
240. Hadders-Algra M (2010) Effect of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation on Neurodevelopmental Outcome in Full-Term Infants. *Nutrients* 2: 790-804.

VII. BIBLIOGRAFÍA

241. Larque E, Ruiz-Palacios M, Koletzko B (2013) Placental regulation of fetal nutrient supply. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 16: 292-297.
242. Carnielli VP, Wattimena DJ, Luijendijk IH, Boerlage A, Degenhart HJ, et al. (1996) The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexaenoic acids from linoleic and linolenic acids. *Pediatr Res* 40: 169-174.
243. Herrera E (2002) Implications of Dietary Fatty Acids During Pregnancy on Placental, Fetal and Postnatal Development-A Review. *Placenta* 23, Supplement A: S9-S19.
244. Mazzucco MB, Higa R, Capobianco E, Kurtz M, Jawerbaum A, et al. (2013) Saturated fat-rich diet increases fetal lipids and modulates LPL and leptin receptor expression in rat placentas. *Journal of Endocrinology* 217: 303-315.
245. Brass E, Hanson E, O'Tierney-Ginn PF (2013) Placental oleic acid uptake is lower in male offspring of obese women. *Placenta* 34: 503-509.
246. Dubé E, Gravel A, Martin C, Desparois G, Moussa I, et al. (2012) Modulation of Fatty Acid Transport and Metabolism by Maternal Obesity in the Human Full-Term Placenta. *Biology of Reproduction* 87: 14, 11-11.
247. Ruzickova J, Rossmeisl M, Prazak T, Flachs P, Sponarova J, et al. (2004) Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. *Lipids* 39: 1177-1185.
248. Scifres CM, Catov JM, Simhan HN (2013) The impact of maternal obesity and gestational weight gain on early and mid-pregnancy lipid profiles. *Obesity: n/a-n/a*.
249. Drehmer M, Duncan BB, Kac G, Schmidt MI (2013) Association of second and third trimester weight gain in pregnancy with maternal and fetal outcomes. *PLoS One* 8: e54704.
250. Ludwig DS, Rouse HL, Currie J (2013) Pregnancy weight gain and childhood body weight: a within-family comparison. *PLoS Med* 10: e1001521.
251. Bobinski R, Mikulska M, Mojska H, Simon M (2013) Comparison of the fatty acid composition of maternal blood and cord blood of mothers who delivered healthy full-term babies, preterm babies, and full-term small for gestational age infants. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 26: 96-102.
252. Delgado-Noguera MF, Calvache JA, Bonfill Cosp X (2010) Supplementation with long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) to breastfeeding mothers for improving child growth and development. *Cochrane Database Syst Rev*: CD007901.
253. Rump P, Mensink RP, Kester ADM, Hornstra G (2001) Essential fatty acid composition of plasma phospholipids and birth weight: a study in term neonates. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73: 797-806.
254. Carlson SE, Colombo J, Gajewski BJ, Gustafson KM, Mundy D, et al. (2013) DHA supplementation and pregnancy outcomes. *The American Journal of Clinical Nutrition* 97: 808-815.
255. Oken E, Kleinman KP, Olsen SF, Rich-Edwards JW, Gillman MW (2004) Associations of seafood and elongated n-3 fatty acid intake with fetal growth and length of gestation: results from a US pregnancy cohort. *Am J Epidemiol* 160: 774-783.

VII. BIBLIOGRAFÍA

256. Dirix CEH, Kester AD, Hornstra G (2009) Associations between term birth dimensions and prenatal exposure to essential and trans fatty acids. *Early Human Development* 85: 525-530.
257. Smuts CM, Huang M, Mundy D, Plasse T, Major S, et al. (2003) A randomized trial of docosahexaenoic acid supplementation during the third trimester of pregnancy. *Obstetrics & Gynecology* 101: 469-479.
258. van Houwelingen AC, Foreman-van Drongelen MM, Nicolini U, Nicolaides KH, Al MD, et al. (1996) Essential fatty acid status of fetal plasma phospholipids: similar to postnatal values obtained at comparable gestational ages. *Early Hum Dev* 46: 141-152.
259. Hariri N, Gougeon R, Thibault L (2010) A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content. *Nutr Res* 30: 632-643.
260. Kien CL, Bunn JY, Ugrasbul F (2005) Increasing dietary palmitic acid decreases fat oxidation and daily energy expenditure. *Am J Clin Nutr* 82: 320-326.
261. Bergouignan A, Momken I, Schoeller DA, Simon C, Blanc Sp (2009) Metabolic fate of saturated and monounsaturated dietary fats: The Mediterranean diet revisited from epidemiological evidence to cellular mechanisms. *Progress in Lipid Research* 48: 128-147.
262. DeFina LF, Marcoux LG, Devers SM, Cleaver JP, Willis BL (2011) Effects of omega-3 supplementation in combination with diet and exercise on weight loss and body composition. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93: 455-462.
263. Muhlhauser BS, Cook-Johnson R, James M, Miljkovic D, Duthoit E, et al. (2010) Opposing effects of omega-3 and omega-6 long chain polyunsaturated Fatty acids on the expression of lipogenic genes in omental and retroperitoneal adipose depots in the rat. *J Nutr Metab* 2010.
264. Saito E, Okada T, Abe Y, Odaka M, Kuromori Y, et al. (2013) Abdominal adiposity is associated with fatty acid desaturase activity in boys: Implications for C-reactive protein and insulin resistance. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids* 88: 307-311.
265. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Yoshikawa T, Amemiya-Kudo M, et al. (2002) Cloning and characterization of a mammalian fatty acyl-CoA elongase as a lipogenic enzyme regulated by SREBPs. *Journal of Lipid Research* 43: 911-920.
266. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Kato T, Atsumi A, et al. (2007) Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 13: 1193-1202.
267. Turyn J, Stojek M, Swierczynski J (2010) Up-regulation of stearoyl-CoA desaturase 1 and elongase 6 genes expression in rat lipogenic tissues by chronic food restriction and chronic food restriction/refeeding. *Molecular & Cellular Biochemistry* 345: 181-188.
268. Green CD, Ozguden-Akkoc CG, Wang Y, Jump DB, Olson LK (2010) Role of fatty acid elongases in determination of de novo synthesized monounsaturated fatty acid species. *Journal of Lipid Research* 51: 1871-1877.
269. L'Allemand-Jander D (2010) Clinical diagnosis of metabolic and cardiovascular risks in overweight children: Early development of chronic diseases in the obese child. *International Journal of Obesity* 34: S32-S36.
270. Kris-Etherton PM, Yu S (1997) Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 65: 1628S-1644S.

VII. BIBLIOGRAFÍA

271. Minihane AM, Brady LM, Lovegrove SS, Lesauvage SV, Williams CM, et al. (2005) Lack of effect of dietary n-6:n-3 PUFA ratio on plasma lipids and markers of insulin responses in Indian Asians living in the UK. *Eur J Nutr* 44: 26-32.
272. Codoñer-Franch P, Boix-García L, Simó-Jordá R, del Castillo-Villaescusa C, Maset-Maldonado J, et al. (2010) Is obesity associated with oxidative stress in children? *International Journal of Pediatric Obesity* 5: 56-63.
273. Wunsch R, de Sousa G, Toschke AM, Reinehr T (2006) Intima-Media Thickness in Obese Children Before and After Weight Loss. *Pediatrics* 118: 2334-2340.
274. McGill HC, McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, et al. (2000) Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72: 1307s-1315s.
275. Walldius G, Jungner I (2006) The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy – a review of the evidence. *Journal of Internal Medicine* 259: 493-519.
276. Hong K, Li Z, Wang HJ, Elashoff R, Heber D (2005) Analysis of weight loss outcomes using VLCD in black and white overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *International Journal of Obesity & Related Metabolic Disorders* 29: 436-442.
277. Codoner-Franch P, Lopez-Jaen AB, De La Mano-Hernandez A, Sentandreu E, Simo-Jorda R, et al. (2010) Oxidative markers in children with severe obesity following low-calorie diets supplemented with mandarin juice. *Acta Paediatr* 99: 1841-1846.
278. Walldius Gr, Jungner I, Aastveit Are H, Holme I, Furberg Curt D, et al. (2004) The apoB/apoA-I ratio is better than the cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine* 42: 1355-1363.
279. Weyer C, Hanson RL, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE (2000) A High Fasting Plasma Insulin Concentration Predicts Type 2 Diabetes Independent of Insulin Resistance: Evidence for a Pathogenic Role of Relative Hyperinsulinemia. *Diabetes* 49: 2094-2101.
280. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, et al. (2004) Population-Based Incidence Rates and Risk Factors for Type 2 Diabetes in White Individuals: The Bruneck Study. *Diabetes* 53: 1782-1789.
281. Othman EM, Kreissl MC, Kaiser FR, Arias-Loza P-A, Stopper H (2013) Insulin-Mediated Oxidative Stress and DNA Damage in LLC-PK1 Pig Kidney Cell Line, Female Rat Primary Kidney Cells, and Male ZDF Rat Kidneys in Vivo. *Endocrinology* 154: 1434-1443.
282. Jialal I, Devaraj S, Adams-Huet B, Chen X, Kaur H (2012) Increased Cellular and Circulating Biomarkers of Oxidative Stress in Nascent Metabolic Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97: E1844-E1850.

ANEXOS

VIII. ANEXOS

1. PUBLICACIONES

1.1. **Changes in plasma fatty acid composition of adolescents involved in a multidisciplinary weight loss programme: relation with adiposity and cardio-metabolic profile**

Cambios en la composición plasmática de ácidos grasos de adolescentes participantes en un programa multidisciplinario de pérdida de peso: relación con adiposidad y perfil cardiometabólico

AUTORES: M Guerendiain, R Montes, A I Castellote, G López-Belmonte, A M Chisaguano, M Martín-Matillas, MC Pérez-Ballesteros, A Martí, J Alfredo Martínez, L Moreno, J M^a Garagorri, A Marcos, J Caballero, M. Carmen López-Sabater, C Campoy and EVASYON Study Group.

REVISTA: PLOS ONE

EN REVISIÓN

1.2. Relation between plasma antioxidant vitamin levels, adiposity and cardio-metabolic profile in adolescents: effects of a multidisciplinary obesity programme

Relación entre la concentración de vitaminas antioxidantes plasmáticas, adiposidad y perfil cardiometabólico en adolescentes: efecto de un programa multidisciplinario antiobesidad.

AUTORES: M Guerendiain, J Mayneris-Perxachs, R Montes, G López-Belmonte, M Martín-Matillas, A I Castellote, MC Pérez-Ballesteros, A Martí, J Alfredo Martínez, L Moreno, J M^a Garagorri, A Marcos, J Caballero, M Carmen López-Sabater, C Campoy and EVASYON Study Group.

REVISTA: PLOS ONE

EN REVISIÓN

2. PARTICIPACIÓN EN OTRAS PUBLICACIONES

2.1. Gene expression of desaturase (FADS1 and FADS2) and elongase (ELOVL5) enzymes in peripheral blood: association with polyunsaturated fatty acid levels and atopic eczema in 4-year-old children

Expresión génica de enzimas desaturasas (FADS1 y FADS2) y elongasas (ELOVL5) en sangre periférica: asociación con ácidos grasos poliinsaturados y eczema atópico en niños de 4 años de edad.

AUTORES: Aida Maribel Chisaguano, Rosa Montes, Teresa Pérez-Berezo, Ana Isabel Castellote, Marcela Guerendiain, Mariona Bustamante, Eva Morales, Raquel García-Esteban, Jordi Sunyer, Angels Franch, M. Carmen López-Sabater.

REVISTA: PLOS ONE

AÑO: 2013

VOLUMEN: 8

PÁGINAS: e78245

3. COMUNICACIONES PRESENTADAS EN CONGRESOS

Plasma saturated fatty acids are associated with anthropometric indicators of adiposity in overweight and obese adolescents

AUTORES: Guerendiain Margni ME, Castellote Bargalló AI, Martín-Matillas M, López-Belmonte G, Pérez Ballesteros MC, Brandi P, Marcos A, Campoy C, López-Sabater MC.

CONGRESO: II Congreso Iberoamericano, Nutrición del Niño y del Adolescente, CINNA 2012, Granada, España.

TIPO DE PRESENTACIÓN: póster

PUBLICACIÓN: Nutr Hosp. 2012;(Supl. 3)27:55-56,
<http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6339.pdf>

Plasma polyunsaturated fatty acids profile in normal weight, overweight and obese pregnant women and offspring at birth.

AUTORES: Guerendiain Margni ME, Castellote Bargalló AI, Damm Díaz B, Segura MT, Rusanova I, Torres-Espínola FJ, Campoy C, López-Sabater MC

CONGRESO: 10th Euro Fed Lipid Congress, Fats, Oils and Lipids: From Science and Technology to Health, 2012, Cracovia, Polonia.

TIPO DE PRESENTACIÓN: póster

PUBLICACIÓN: Eur. J. Lipid Sci. Technol., 114: 370. doi: 10.1002/ejlt.201290034.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.201290034/pdf>

Evolution of plasma levels of fatty acids in obese adolescents during weight loss treatment

AUTORES: Guerendiain Margni ME, Castellote Bargalló AI, Campoy C, Martín-Matillas M, López-Belmonte G, Pérez Ballesteros MC, Martín-Lagos JA, Marcos A, López-Sabater MC.

CONGRESO: International Conference on Nutrition and Growth, 2012, París, Francia.

TIPO DE PRESENTACIÓN: póster

Analysis of vitamin C in plasma and human milk by ultra high-performance liquid chromatography

AUTORES: Lozano B, Guerendiain M, Castellote A, López-Sabater MC.

CONGRESO: 13as Jornadas de Análisis Instrumental, 2011, Barcelona, España.

TIPO DE PRESENTACIÓN: póster

The estrogen receptor alpha agonist ICI 182,780 partially blocked oleoyl-estrone slimming action in C57BL6 mice fed with cafeteria diet

AUTORES: Borrás M, Guerendiain M, Cabot C, Cederroth M, Esteve M, Remesar X, Grasa MM.

CONGRESO: ICO 2010 Estocolmo, Congreso Internacional sobre Obesidad, 2010, Estocolmo, Suecia.

TIPO DE PRESENTACIÓN: póster

PUBLICACIÓN: Obes Rev. 2010 Jul;11 Suppl 1:iii-iv, 158.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1467-789X.2010.00763_7.x/pdf

