



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES MÉDICO-QUIRÚRGICAS

**“VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR,
INFLAMACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN NIÑOS QUE
FUERON RECIÉN NACIDOS CON RETRASO DEL
CRECIMIENTO EXTRAUTERINO”**

MARÍA ORTIZ ESPEJO

TESIS DOCTORAL

CÓRDOBA 2011

TÍTULO: *Valoración del riesgo cardiovascular, inflamación y estrés oxidativo en niños que fueron recién nacidos con retraso del crecimiento extrauterino.*

AUTOR: *María Ortiz Espejo*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2012
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: “VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR, INFLAMACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN NIÑOS QUE FUERON RECIÉN NACIDOS CON RETRASO DEL CRECIMIENTO EXTRAUTERINO”

DOCTORANDO/A: María Ortiz Espejo

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

JUAN LUIS PEREZ NAVERO, DNI 30060508-Z, Profesor Titular de Pediatría de la Universidad de Córdoba y Jefe del Servicio de Pediatría, Críticos y Urgencias del Hospital Universitario Reina Sofía, como codirector de la tesis reseñada anteriormente, informo para su conocimiento y efectos oportunos que la doctoranda ha realizado un trabajo de gran calidad científica. De igual forma ha aprendido la metodología de la investigación así como ha trabajado exhaustivamente en los aspectos clínicos de revisión de los pacientes y en la elaboración de todos los apartados de este original trabajo, que no estaba recogido anteriormente en la literatura.

Es de destacar la redacción de un trabajo que se ha remitido para su publicación a una revista de impacto de reconocido prestigio, que esta actualmente en revisión así como otros tres trabajos que actualmente están en fase de redacción y que se enviarán próximamente para su publicación.

Una patente derivada de esta tesis esta en proceso de inscripción por la Junta de Andalucía. Se han conseguido varios premios por trabajos originales en relacion con el contenido de esta tesis por diferentes Sociedades Científicas, lo que muestra el índice de calidad del trabajo.

Solicito por tanto que la doctoranda Dña Maria Ortiz Espejo pueda optar al grado de Doctor por la Facultad de Medicina de la Universidad de Córdoba y tras haber revisado exhaustivamente el trabajo autorizo la presentación de la tesis y su defensa ante el tribunal correspondiente.

Córdoba, 26 de Septiembre de 2011

Firma del/de los director/es

Fdo.:Juan Luis Pérez Navero



TÍTULO DE LA TESIS: “VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR, INFLAMACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN NIÑOS QUE FUERON RECIÉN NACIDOS CON RETRASO DEL CRECIMIENTO EXTRAUTERINO”

DOCTORANDO/A: María Ortiz Espejo

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

MARIA MERCEDES GIL CAMPOS, con DNI 44286271-R, como directora de esta tesis, informo que se ha realizado un trabajo de tesis doctoral exhaustivo y de gran calidad. La doctoranda ha aprendido metodología de la investigación, y ha trabajado profundamente tanto en el aspecto clínico como técnico y en la redacción de las publicaciones que están en proceso. Los diferentes trabajos realizados a partir de esta Tesis, como varias comunicaciones, una publicación ya enviada y tres en proceso de redacción, una patente en proceso por la Junta de Andalucía, y varios premios recibidos se han expuesto para ser valorados como indicios de calidad así como para confirmar el excelente trabajo de investigación que se ha derivado de esta tesis. Por ello, solicito que la doctoranda María Ortiz Espejo pueda optar al grado de Doctor por la Universidad de Córdoba y autorizo la presentación de la tesis doctoral.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 28 de SEPTIEMBRE de 2011

Fdo: María Mercedes Gil Campos

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo es el resultado del esfuerzo y dedicación de un grupo de personas que han contribuido de forma generosa en el mismo, y por ello quería dedicarles unas palabras de agradecimiento.

Al doctor Juan Luís Pérez Navero, por todo, especialmente por el interés mostrado en este trabajo, su empeño en la calidad de esta tesis, sus conocimientos, su dedicación incondicional, su ilusión y compromiso con este trabajo. Por su motivación y ganas de trabajar, por tener siempre la puerta de su despacho abierta, por todo el tiempo que me ha dedicado...es un ejemplo a seguir. Nunca podré agradecerle todo lo que ha hecho por mí ya que sin el no se hubiese podido realizar este trabajo.

A la doctora Mercedes Gil Campos, por su gran calidad en el trabajo, por ser una investigadora excepcional, por transmitirme sus conocimientos cuando más lo necesitaba, por su paciencia y dedicación, por guiarme y ayudarme en todo momento. Ha sido mi pilar de apoyo y una de las personas más importantes en el desarrollo de esta tesis.

A la doctora Maria del Carmen Muñoz Villanueva, por su excepcional trabajo con el análisis estadístico y por su gran calidad en el trabajo.

Al personal del laboratorio del Instituto de Tecnología de los Alimentos de Granada, por su ayuda en el análisis de muestras y por su elevado grado de conocimiento metodológico, especialmente a los dres. Ángel Gil, Concepción Aguilera, María Dolores Mesa y Josune Olza.

A los miembros del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Reina Sofía y al personal de extracciones, por su ayuda en el análisis de muestras.

A Francisco Llorente, por su ayuda con la informática, su apoyo y comprensión.

A mis amigos, por sus ánimos continuos y comprensión.

A mis abuelos, por su cariño, por la enorme ilusión que me han mostrado siempre con la elaboración de este trabajo y por lo orgullosos que se han sentido de mí en todo momento.

A Lourdes, mi querida hermana, por la paciencia que ha tenido durante todo este tiempo, por su gran ayuda con la informática, por su cariño, por estar siempre conmigo y no fallarme nunca, por ser una de las personas más importantes de mi vida.

A Ricardo, por las horas de atención que le ha robado este trabajo (que han sido muchas), por los ánimos e ilusión transmitidos en los momentos de cansancio y debilidad. Por todo lo que me da cada día, por saber siempre lo que necesito y por caminar a mi lado.

A mis padres, porque lo que soy se lo debo a ellos, por su apoyo y ayuda incondicional a lo largo de toda mi vida, sin ellos nunca habría podido hacerlo.

A las familias y niños que han colaborado en esta tesis, quienes supieron comprender la importancia de este estudio, participando en el mismo, por ellos y su futuro hemos tratado de aportar nuestro granito de arena con este trabajo.

FINANCIACIÓN

Esta tesis doctoral ha sido desarrollada gracias a financiación privada y al Premio Nutribén de Investigación Pediátrica en el 59 Congreso Nacional de Pediatría celebrado en Gran Canaria en Junio de 2010.

PUBLICACIONES

Algunos de los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral han sido objeto de comunicaciones en diversos congresos y de artículos publicados en las siguientes revistas:

- **Comunicación:** Gil-Campos M, Ortiz-Espejo M, Olza Meneses J, Aguilera-García CM, Muñoz-Villanueva MC, Pérez-Navero JL. Niveles de adipocitoquinas en niños prepuperales con antecedentes de crecimiento extrauterino retardado. XXXIII Congreso Nacional de la Sociedad española de Endocrinología Pediátrica. 11-13 de Mayo 2011. Granada. Publicado en Rev Esp Endocrinol Pediatr 2011;2(Suppl)//doi:10.3266.
- **Comunicación oral:** Ortiz Espejo M, Pérez Navero JL, Aguilera García CA, Olza Meneses J, Muñoz Villanueva MC, Gil Campos M. Valoración del riesgo cardiovascular en niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado. 60 Congreso Nacional de la Asociación Española de Pediatría. 16 al 18 de Junio 2011. Valladolid. 2º PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN ORAL LIBRE. Publicado on line. Publicación oficial de la AEP. AEP 2011-60 Congreso de la AEP. Libro de comunicaciones. Pág 153-154. ISSN: 2171 9405.
- **Comunicación oral:** Gil-Campos M, Ortiz-Espejo M, Olza Meneses J, Aguilera-García CM, Muñoz-Villanueva MC, Pérez-Navero JL. Marcadores de inflamación en niños prepuperales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado. XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Investigación en Nutrición y Alimentación Pediátrica. 30 Septiembre- 1 Octubre 2011. Madrid. Comunicación oral aceptada.

- **Comunicación:** Ortiz Espejo M, Pérez Navero JL, Gil Campos M, Muñoz Villanueva MC, Mesa MD. Estrés oxidativo en niños que fueron prematuros con retraso del crecimiento extrauterino. V Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. 9-11 de Noviembre 2011. Málaga. Comunicación aceptada.

- **Comunicación:** Ortiz Espejo M, Gil Campos M, Pérez Navero JL, Muñoz Villanueva MC, Olza Meneses J, Aguilera García CM. Perfil de adipocitoquinas en niños prepúberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado. V Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. 9-11 de Noviembre 2011. Málaga. Comunicación aceptada.

- **Artículo internacional.** María Ortiz-Espejo, Juan Luis Pérez-Navero, Josune Olza-Meneses, María Carmen Muñoz-Villanueva, Concepción María Aguilera-García, Mercedes Gil-Campos. Blood pressure and circulating levels of inflammatory biomarkers in prepubertal children with a background of extrauterine growth restriction. Enviado a publicar a Circulation el 22 de Septiembre 2011.

PATENTES

Dada la novedad y relevancia de los resultados obtenidos en este trabajo, se está procesando una patente de los mismos a través de la Junta de Andalucía.

ÍNDICE	1
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	12
ÍNDICE DE FIGURAS	16
I) JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	21
I.1) Hipótesis de trabajo.....	23
I.2) Objetivo principal	23
I.3) Objetivos específicos	24
II) INTRODUCCIÓN	27
II.1) La prematuridad.....	29
II.2) Crecimiento intrauterino retrasado y recién nacido pequeño para su edad gestacional	33
II.2.1) Concepto de crecimiento intrauterino retrasado y de recién nacido pequeño para su edad gestacional	33
II.2.2) Incidencia de crecimiento intrauterino retrasado y de recién nacidos pequeños para su edad gestacional	35
II.2.3) Factores de riesgo y comorbilidades asociadas al crecimiento intrauterino retrasado y al recién nacido pequeño para su edad gestacional.....	36
II.2.4) Comorbilidades de niños con antecedentes de crecimiento intrauterino retrasado o ser pequeño para su edad gestacional	38
II.3) Crecimiento extrauterino retrasado	40
II.3.1) Concepto de crecimiento extrauterino retrasado	40
II.3.2) Valoración del crecimiento extrauterino en recién nacidos pretérmino...	41
II.3.3) Epidemiología del crecimiento extrauterino retrasado.....	43
II.3.4) Factores de riesgo y comorbilidades asociadas al crecimiento extrauterino retrasado en el neonato	45
II.3.5) Factores de riesgo y comorbilidades en niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	46
II.3.6) Tratamiento y prevención del crecimiento extrauterino retrasado	47
II.4) Tejido adiposo y adipoquinas	53
II.4.1) El tejido adiposo	53
II.4.2) Adipoquinas.....	59

II.4.2.1) Adiponectina.....	64
II.4.2.2) Resistina	70
II.4.2.3) Leptina	74
II.5) La inflamación y sus marcadores	79
II.5.1) La inflamación: generalidades	79
II.5.2) Biomarcadores de inflamación	81
II.5.2.1) Proteína C reactiva.....	81
II.5.2.2) Interleuquinas	83
II.5.2.3) Factores de crecimiento	86
II.5.2.4) Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1	87
II.5.2.5) Factor de necrosis tumoral alfa.....	89
II.5.2.6) Inhibidor del activador del plasminógeno 1 total	92
II.6) La enfermedad cardiovascular.....	94
II.6.1) Generalidades de la enfermedad cardiovascular	94
II.6.2) El síndrome metabólico	96
II.6.2.1) La resistencia a la insulina.....	102
II.6.2.2) La hipertensión	105
II.6.2.3) Dislipidemia	107
II.6.2.4) La inflamación.....	109
II.6.2.5) Adiposidad visceral y obesidad	109
II.6.3) Marcadores de riesgo cardiovascular	111
II.7) Estrés oxidativo. Biomarcadores de oxidación	113
II.7.1) El estrés oxidativo	113
II.7.2) El sistema de defensa antioxidante. Biomarcadores.....	122
II.7.2.1) Antioxidantes enzimáticos.....	124
II.7.2.2) Antioxidantes no enzimáticos.....	127
II.7.2.1) Antioxidantes no enzimáticos endógenos.....	127
II.7.2.2) Antioxidantes no enzimáticos exógenos.....	129
III) METODOLOGÍA	131
III.1) Diseño experimental.....	133
III.1.1) Sujetos	133
III.1.2) Criterios de inclusión y exclusión	134
III.1.3) Selección de los sujetos participantes en el estudio	134
III.2) Temporalización del estudio	136

III.3) Métodos.....	137
III.3.1) Historia Clínica	137
III.3.1.1) Historia clínica de la etapa perinatal	137
III.3.1.2) Historia clínica de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y grupo control	139
III.3.1.2.1). Antropometría y exploración física.....	140
III.3.1.2.2). Medida de tensión arterial	140
III.3.1.2.3). Maduración sexual	140
III.3.1.2.4). Valoración nutricional.....	141
III.3.2) Toma de muestras.....	142
III.4) Instrumentación.....	145
III.5) Parámetros bioquímicos generales	148
III.5.1) Bioquímica básica.....	148
III.5.2) Enzimas hepáticas	154
III.5.3) Perfil lipídico.....	155
III.5.4) Marcadores del metabolismo hidrocarbonado	158
III.6) Hematimetría.....	159
III.7) Adipoquinas	160
III.8) Biomarcadores de inflamación.....	161
III.9) Biomarcadores de oxidación	164
III.9.1) Antioxidantes enzimáticos	164
III.9.2) Antioxidantes no enzimáticos exógenos	166
III.10) Estudio estadístico.....	167
 IV) RESULTADOS.....	 169
IV.1) Antecedentes perinatales de los niños nacidos con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	 171
IV.1.1) Antecedentes relacionados con la gestación, el parto y la etapa perinatal	 171
IV.1.2) Antecedentes relacionados con la etapa neonatal	172
IV.2) Evaluación clínica de los niños en estado prepuberal.....	174
IV.2.1) Evaluación de antecedentes familiares, estado neurológico y desarrollo escolar, y actividad física.....	 174
IV.2.2) Características demográficas y antropometría	174

IV.2.3) Tensión arterial	176
IV.2.4) Valoración nutricional de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	178
IV.3) Parámetros bioquímicos generales y hematimetría.....	180
IV.3.1) Marcadores bioquímicos básicos, enzimas hepáticas y hematimetría....	180
IV.3.2) Perfil lipídico	181
IV.3.3) Marcadores del metabolismo hidrocarbonado.....	182
IV.4) Adipoquinas	183
IV.5) Biomarcadores de inflamación.....	185
IV.6) Biomarcadores de oxidación.....	187
IV.6.1) Enzimas del sistema de defensa antioxidante	187
IV.6.2) Parámetros exógenos del sistema de defensa antioxidante.....	187
IV.7) Análisis de correlación de las variables y biomarcadores estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	190
IV.7.1) Análisis de correlación entre los parámetros utilizados como criterio de la definición de crecimiento extrauterino retrasado y el resto de variables analizadas en el estudio	190
IV.7.2) Análisis de correlación de antropometría y tensión arterial.....	192
IV.7.3) Análisis de correlación de los marcadores bioquímicos generales.....	194
IV.7.4) Análisis de correlación de las adipoquinas con los biomarcadores de inflamación y de oxidación.....	198
IV.7.5) Correlaciones de los biomarcadores de inflamación	200
IV.7.6) Análisis de correlación de los biomarcadores de estrés oxidativo entre sí y con los biomarcadores de inflamación	203
IV.7.6.1) Antioxidantes enzimáticos	203
IV.7.6.2) Antioxidantes exógenos no enzimáticos.....	203
IV.8) Análisis factorial de las adipoquinas y biomarcadores de inflamación en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y en el grupo control.....	206
V) DISCUSIÓN.....	207
V.1) Valoración de los antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.....	209
V.1.1) Antecedentes relacionados con la gestación, el parto y la etapa perinatal	209

V.1.2) Antecedentes relacionados con la etapa neonatal.....	217
V.2) Valoración clínica de los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	227
V.2.1) Estado neurológico	227
V.2.2) Antropometría	228
V.2.3) Maduración sexual	231
V.3) Parámetros bioquímicos generales y hematimetría en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	233
V.4) El tejido adiposo y las adipoquinas en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	234
V.4.1) El tejido adiposo.....	234
V.4.2) Las adipoquinas.....	237
V.4.2.1) Adiponectina	238
V.4.2.2) Resistina	248
V.4.2.3) Leptina.....	251
V.5) La inflamación y sus biomarcadores en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.....	258
V.5.1) La inflamación	258
V.5.2) Biomarcadores de inflamación.....	262
V.5.2.1) Proteína Creativa	262
V.5.2.2) Las interleuquinas	264
V.5.2.3) Factores de crecimiento.....	267
V.5.2.4) Marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1	270
V.5.2.5) Factor de necrosis tumoral alfa	271
V.5.2.6) Inhibidos del factor activador del plasminógeno 1 total	273
V.6) Valoración del riesgo cardiovascular en niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	276
V.6.1) La enfermedad cardiovascular.....	276
V.6.2) El síndrome metabólico y sus componentes	285
V.6.2.1) Generalidades del síndrome metabólico	285
V.6.2.2) Componentes del síndrome metabólico	287
V.6.2.2.1) La resistencia a la insulina.....	287
V.6.2.2.2) La hipertensión arterial.....	293

V.6.2.2.3) Dislipidemia	297
V.7) El estrés oxidativo y sus biomarcadores en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	300
V.7.1) El estrés oxidativo	300
V.7.2) El sistema de defensa antioxidante	303
V.7.2.1) Antioxidantes enzimáticos	306
V.7.2.1.1) Catalasa	306
V.7.2.1.2) Glutación reductasa.....	307
V.7.2.1.3) Glutación peroxidasa	308
V.7.2.1.4) Superóxido dismutasa	310
V.7.2.2) Antioxidantes no enzimáticos	311
V.7.2.2.1) Tocoferol α (vitamina E).....	311
V.7.2.2.2) Retinol (vitamina A) y β caroteno.....	313
VI) CONCLUSIONES	317
VII) RESUMEN	321
VIII) BIBLIOGRAFÍA.....	327

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AAP: Academia Americana de Pediatría.

ADP: Difosfato de adenosina.

AEG: Adecuado para la edad gestacional.

AG: Ácidos grasos.

AGL: Ácidos grasos libres.

AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados.

AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados.

AGS: Ácidos grasos saturados.

ALT: Alanina aminotransferasa.

AMP: Adenosín monofosfato.

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico.

AMP-quinasa: Adenosín monofosfato cíclico quinasa.

APO A-1: Apoproteína A-1.

APO B: Apoproteína B.

APOE: Apoproteína E.

AST: Aspartato aminotransferasa.

ATG: Alteración de la tolerancia a la glucosa.

ATP: Trifosfato de adenosina.

BDP: Broncodisplasia pulmonar.

βcaroteno: Beta caroteno.

CC: Coeficiente de correlación.

CER: Crecimiento extrauterino retrasado o retraso del crecimiento extrauterino.

CETP: Proteína transportadora de ésteres de colesterol.

CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

CI: Coeficiente intelectual.

CIR: Crecimiento intrauterino retrasado o retraso del crecimiento intrauterino.

CMIA: Enzimoimmunoensayo en un paso de micropartículas con quimioluminiscencia.

CV: Coeficiente de variación.

DAP: Ductus arterioso permeable.

DS: Desviación típica o estándar.

ECN: Enterocolitis necrotizante.

ECV: Enfermedad cardiovascular.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

EEUU: Estados Unidos.
EG: Edad gestacional.
EGC: Edad gestacional corregida.
EGIR: Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina.
EIA: Enzimoimmunoensayo.
EMH: Enfermedad de membrana hialina.
EO: Estrés oxidativo.
EQO: Especies químicas oxidantes.
EROS: Especies químicas reactivas del oxígeno.
GGT: Gamma-glutamyl transferasa.
GH: hormona de crecimiento.
GLUT-4: transportador de glucosa tipo 4.
GOT: Glutamato oxalacetato transaminasa.
GPox: Glutación peroxidasa.
GPT: Glutamato piruvato transaminasa.
GSSG: Glutación oxidado.
GSH: Glutación reducido.
GR: Glutación reductasa.
Hb: Hemoglobina.
HCM: Hemoglobina corpuscular media.
HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad.
HGF: Factor de crecimiento hepatocitario.
HIV: Hemorragia intraventricular.
HOMA: Homeostasis model assessment; Índice de resistencia a insulina.
HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.
HTA: Hipertensión arterial.
HURS: Hospital Universitario Reina Sofía.
IAM: Infarto agudo de miocardio.
ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva.
IDF: Federación Internacional de Diabetes.
IFCC: Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio.
IG: Intolerancia a la glucosa.
Ig: Inmunoglobulina.
IGF-1: Factor de crecimiento insulínico tipo 1.

IGBP3: Proteína de unión 3 al factor de crecimiento insulínico.

IL: Interleuquina.

IL-1 β : Interleuquina 1 beta.

IL-6: Interleuquina 6.

IL-8: Interleuquina 8.

IMC: Índice de masa corporal.

IMT: Espesor de las capas íntima-media de la arteria carótida.

IMIBIC: Instituto Maimónides de investigación biomédica de Córdoba.

IRS-1: Sustrato del receptor de insulina tipo 1.

LC: Límite de cuantificación.

LD: Límite de detección.

LDLc: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad; siglas en Inglés.

LPL: lipoproteínlipasa.

M= Media.

MCP1: Marcador o factor quimioatractivo de los macrófagos tipo 1.

MDA: Malondialdehído.

MIN: Minuto.

mmHg: Milímetros de mercurio.

NAD: Adenina nicotinamida dinucleótido.

NADH: Adenina nicotinamida dinucleótido reducido.

NADPH: Adenina nicotinamida dinucleótido fosfato reducido.

NCEP-ATP III: Programa Nacional de Educación en Colesterol Panel III de Tratamiento en Adultos.

NE: Nutrición enteral.

NGF: Factor de crecimiento neural.

NM: Nanómetros.

NO: Óxido nítrico.

NP: Nutrición parenteral.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

p: Percentil.

P: Significación estadística.

PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total.

PC: Perímetro de cintura.

PCR: Proteína C reactiva.

PEG: Pequeño para su edad gestacional.

PPARs: Receptor activador de la proliferación de los peroxisomas gamma.

PT: Proteínas totales.

PETIA: Inmunoensayo turbidimétrico.

QM: Quilomicrones.

RDW: Índice de distribución de glóbulos rojos.

RHO: Coeficiente de correlación de Sperman.

RI: Resistencia a la insulina.

RIA: Radioinmunoensayo.

RL: Radicales libres.

RN: Recién nacido.

RPM: Revoluciones por minuto.

ROP: Retinopatía del prematuro.

SDA: Sistema de defensa antioxidante.

SENC: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria.

sICAM-1: Forma soluble de la molécula de adhesión intercelular de carácter inmunoglobulina tipo 1.

SM: Síndrome metabólico.

SNC: Sistema nervioso central.

SNS: Sistema nervioso simpático.

SOD: Superóxido dismutasa.

SRI: Síndrome de resistencia a la insulina.

sVCAM-1: Forma soluble de la molécula de adhesión celular de los vasos tipo 1.

TA: Tensión arterial.

TAD: Tensión arterial diastólica.

TAS: Tensión arterial sistólica.

TG: Triglicéridos.

TSH: Hormona estimulante del tiroides ó tirotropina.

TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

T4: T cuatro o tiroxina.

T3: Triyodotironina.

Tocoferol α : Tocoferol alfa.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

UCIP: Unidad de cuidados Intensivos Pediátricos.

ULR: Unidades relativas de luz.

VCM: Volumen corpuscular medio.

VLDLc: Colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad.

VM: Ventilación mecánica.

VPM: Volumen plaquetario medio.

XO: Xantina oxidasa.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Adipoquinas con función endocrina y receptores más importantes expresados en el tejido adiposo (Modificado de Kershaw et al, 2004).....	62
Tabla 2. Adipoquinas y marcadores de inflamación secretados por los adipocitos y células de la matriz tisular (Tomado de Martínez, 2010).....	63
Tabla 3. Mecanismos que relacionan las anormalidades metabólicas presentes en el síndrome metabólico con la enfermedad cardiovascular (Modificado de Qiao et al, 2007).....	99
Tabla 4. Parámetros y marcadores estudiados en este trabajo que pueden relacionarse con el incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular.....	111
Tabla 5. Datos relativos a la gestación, al parto y al nacimiento de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado	138
Tabla 6. Patología más frecuentemente asociada a la prematuridad y a la condición de presentar crecimiento extrauterino retrasado (CER) y principales intervenciones realizadas en los niños con antecedentes de CER	139
Tabla 7. Maduración sexual en los niños (arriba) y niñas (abajo). Modificado de Tanner (1962)	141
Tabla 8. Organización de laboratorios y tipo de muestra	142
Tabla 9. Esquema general de los distintos perfiles analíticos realizados en este estudio.....	144
Tabla 10. Datos antropométricos de los niños con crecimiento extrauterino retrasado en las etapas perinatal y neonatal	172

Tabla 11. Datos demográficos, antropométricos y de tensión arterial en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).....	175
Tabla 12. Energía diaria y composición de la dieta por macronutrientes de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado e ingesta recomendada de energía para la población española según la edad y objetivos nutricionales para la población española, consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), 2004	178
Tabla 13. Composición de la dieta por raciones de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y frecuencia recomendada para la población española, consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), 2004	179
Tabla 14. Parámetros bioquímicos tradicionales, enzimas hepáticas y hematimetría estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).....	181
Tabla 15. Marcadores del metabolismo hidrocarbonado en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control)	183
Tabla 16. Marcadores de inflamación en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control)	185
Tabla 17. Concentraciones de β caroteno y tocoferola expresadas por mililitro de plasma en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).....	187
Tabla 18. Correlaciones entre el peso en la semana 36 de edad gestacional corregida y el peso al alta de la Unidad de Neonatología, y los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.....	191

Tabla 19. Correlaciones del índice de masa corporal con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado participantes en el estudio..... 192

Tabla 20. Correlaciones entre la tensión arterial sistólica y diastólica con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en el total de los niños prepuberales participantes en este estudio 193

Tabla 21. Correlaciones del colesterol de lipoproteínas de alta densidad con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado participantes en el estudio..... 194

Tabla 22. Principales asociaciones de la glucosa con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado 196

Tabla 23. Principales asociaciones de la insulina con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado 196

Tabla 24. Principales asociaciones del índice HOMA con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado 197

Tabla 25. Principales asociaciones significativas de las adipoquinas con los biomarcadores de inflamación y con los parámetros de oxidación en el total de los niños participantes en el estudio..... 198

Tabla 26. Análisis de correlación entre los distintos biomarcadores de inflamación..201

Tabla 27. Principales asociaciones de los antioxidantes enzimáticos y enzimas del sistema de defensa antioxidante entre sí, así como con los antioxidantes marcadores

exógenos no enzimáticos del sistema de defensa antioxidante y con los biomarcadores de inflamación204

Tabla 28. Principales asociaciones de los antioxidantes marcadores exógenos del sistema de defensa antioxidante entre sí y con los biomarcadores de inflamación.....205

Tabla 29. Componentes del análisis factorial de los biomarcadores de inflamación y adipoquinas.....206

Tabla 30. Comparación de los principales parámetros estudiados en los neonatos con crecimiento extrauterino retrasado de los diferentes estudios publicados en la bibliografía y los obtenidos en este trabajo211

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales adipoquinas y factores de inflamación secretados por el adipocito que están relacionados con el control de la glucemia en el organismo	55
Figura 2. Representación de las curvas de crecimiento del tejido adiposo en niños nacidos pequeños para su edad gestacional (PEG; línea continua); en riesgo de presentar en etapas posteriores resistencia a insulina y con alteración del tejido adiposo, y en recién nacidos con peso adecuado a su edad gestacional (AEG). La gráfica muestra el crecimiento del tejido adiposo desde la mitad de la gestación hasta los 2 años de edad. (Modificado de Levy-Marchal et al, 2006)	57
Figura 3. Principales acciones de las adipoquinas.....	61
Figura 4. Representación de las principales acciones de la adipocitoquina.....	69
Figura 5. Estructura molecular de la leptina.....	75
Figura 6. Intervención del factor de necrosis tumoral alfa en la inflamación y su relación con las principales adipoquinas y parámetros proinflamatorios (Modificado de Martínez, 2010)	91
Figura 7. Relación del crecimiento intrauterino con la enfermedad cardiovascular y las distintas patologías que la representan. Actuación de los factores genéticos y ambientales en dicho proceso	95
Figura 8. Panorama fisiopatológico del síndrome metabólico. La obesidad, la resistencia a la insulina y la disfunción endotelial están vinculadas entre sí, y con el resto de los componentes clínicos del síndrome metabólico, en parte por la presencia de un ambiente lipídico desfavorable y de una inflamación crónica de bajo grado (Tomado de Rio et al, 2005)	98

Figura 9. Representación de los principales componentes del síndrome metabólico y su relación entre ellos.....	100
Figura 10. Dos posibles explicaciones para la asociación del crecimiento intrauterino retrasado con la resistencia a insulina, diabetes tipo 2 y la enfermedad cardiovascular: el ambiente intrauterino adverso (programación fetal) y la genética fetal. (Modificado de Saenger et al, 2007)	105
Figura 11. Mecanismo de hipertensión arterial en el síndrome metabólico (Modificado de Yanai et al, 2008).....	106
Figura 12. Mecanismo de dislipidemia en el síndrome metabólico (Modificado de Barnett, 2008).....	108
Figura 13. Las especies reactivas del oxígeno y su relación con distintas patologías.....	116
Figura 14. Mecanismos de aparición del estrés oxidativo y su papel en las principales patologías.....	116
Figura 15. Mecanismo de acción de los antioxidantes	122
Figura 16. Reacciones de reducción y de oxidación catalizadas por la enzima catalasa.....	125
Figura 17. Reacción de reducción de los hidroperóxidos catalizada por la glutatión peroxidasa y reacción de reducción del glutatión catalizado por la glutatión reductasa.	126
Figura 18. Reacción catalizada por la enzima superóxido dismutasa y eliminación de radicales libres por acción conjunta de las enzimas xantina oxidasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y/o catalasa.....	127
Figura 19. Selección de los sujetos participantes en el estudio	136

Figura 20. Autoanalizadores Architect c16000 (A) e i2000SR (B) de Abbott Diagnostics®, y equipo Advia 120 Hematology System (C) de Bayer®	146
Figura 21. Equipo Luminex® X MAP™	146
Figura 22. Esquema de la tecnología Luminex® X MAP™	147
Figura 23. Principales patologías asociadas a la prematuridad y al crecimiento extrauterino retrasado observadas en los niños participantes en el estudio.....	173
Figura 24. Percentiles de peso (A), talla (B) e índice de masa corporal (C) en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).....	176
Figura 25. Percentiles de tensión arterial sistólica (A) y diastólica (B) en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).....	177
Figura 26. Perfil lipídico en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control)	182
Figura 27. Concentración de adipoquinas en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) Adiponectina. B) Resitina. C) Leptina.....	184
Figura 28. Parámetros bioquímicos de inflamación en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) Proteína C reactiva. B) Interleuquina 8. C) Factor de crecimiento hepatocitario. D) Marcador quimioattractivo de los macrófagos tipo 1. E) Factor de necrosis tumoral alfa	186

- Figura 29.** Enzimas del sistema de defensa antioxidante en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) Catalasa. B) Glutatión peroxidasa. C) Glutatión reductasa. D) Superóxido dismutasa 188
- Figura 30.** Parámetros exógenos del sistema de defensa antioxidante en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) β Caroteno. B)Tocoferol α . C) Retinol 189
- Figura 31.** Correlaciones entre el peso en la semana 36 de edad gestacional corregida y el factor de necrosis tumoral alfa (izquierda) y entre el peso al alta de la unidad de neonatología y el factor de crecimiento hepatocitario (derecha)..... 191
- Figura 32.** Correlaciones de la tensión arterial sistólica con la adiponectina (izquierda) y con el factor de necrosis tumoral alfa (derecha) en el total de los niños estudiados 193
- Figura 33.** Correlación entre el colesterol de lipoproteínas de alta densidad con el factor de necrosis tumoral alfa en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (derecha) y en los controles (izquierda) 195
- Figura 34.** Análisis de correlación entre la insulina y la leptina en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (derecha) y en los sujetos del grupo control (izquierda)..... 197
- Figura 35.** Correlación entre la adiponectina y la resistina (arriba) y entre la resistina y la interleuquina 6 (abajo), en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (derecha) y en los niños control (izquierda) 199
- Figura 36.** Correlaciones de la adiponectina (izquierda) y de la resistina (derecha) con el factor de necrosis tumoral alfa en todos los sujetos participantes en el estudio..... 200
- Figura 37.** Correlación entre la interleuquina 8 y marcador quimioattractivo de macrófagos tipo 1 (arriba), y asociación entre el factor de crecimiento hepatocitario y el

factor de necrosis tumoral alfa (abajo) en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado202

Figura 38. Arriba: Representación de la velocidad de crecimiento normal desde el momento de la concepción hasta los 17 años de edad. La velocidad de crecimiento fetal es máxima en la mitad de la gestación (10 cm por mes), y desciende hasta llegar a 35 cm por año en el momento del nacimiento. Abajo: Crecimiento de un niño nacido a término con crecimiento intrauterino retrasado (línea discontinua) y de un niño con crecimiento extrauterino retrasado (línea continua). Las curvas de referencia son para el género masculino; las del crecimiento prenatal de Niklasson y las del postnatal de Fiedriks (Modificado de Wit et al, 2006)216

Figura 39. Interacciones entre la dieta temprana y los genes en los recién nacidos pretérmino y las posibles consecuencias a corto y largo plazo (Modificado de Sauer, 2007).....224

Figura 40. Relación entre el crecimiento intrauterino retrasado con la resistencia a la insulina y con la enfermedad cardiovascular en etapas posteriores de la vida.....289

Justificación y Objetivos

I) JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El crecimiento extrauterino retrasado (CER) es una problemática actual en los recién nacidos (RN) prematuros, no obstante, se desconoce el riesgo real y las consecuencias para la salud a largo plazo. Existen numerosas evidencias epidemiológicas y relaciones causales entre el crecimiento intrauterino retrasado (CIR) y la aparición temprana de obesidad y/o síndrome metabólico (SM) y aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV). Por ello, en los últimos años se ha sugerido que los niños prematuros con CER también podrían desarrollar posteriormente alteraciones metabólicas, que pudieran estar relacionadas con la nutrición recibida, el desarrollo antropométrico y cambios metabólicos en la etapa perinatal.

I.1) HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los RN con antecedentes de prematuridad y CER pueden presentar alteraciones metabólicas y signos tempranos de inflamación de bajo grado, así como de daño oxidativo, incluso en etapas tempranas de la vida como en la prepubertad. Esta situación implicaría un mayor riesgo de dislipidemia, resistencia a la insulina (RI), inflamación y daño oxidativo celular. Algunos biomarcadores relacionados con estos estados, podrían indicar un mayor riesgo de patología en el niño con antecedentes de prematuridad y CER.

I.2) OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la relación que existe entre niños que fueron prematuros, cuyo peso al nacimiento fue inferior a 1500 gramos y que tuvieron antecedentes de CER, y diferentes biomarcadores específicos de dislipidemia, inflamación, daño oxidativo y riesgo de ECV en la etapa prepuberal.

I.3) OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer datos perinatales de RN con antecedentes de prematuridad y CER sobre la gestación y parto, estado físico del RN y complicaciones, así como técnicas de soporte y tipo de alimentación administrada.
- Describir las principales características de los niños prepuberales con antecedentes de CER de tipo demográfico, antropométrico, nutricional, y hemodinámico, así como otros datos de antecedentes familiares de interés, secuelas, y hábitos de vida.
- Determinar los niveles séricos de los marcadores bioquímicos básicos, enzimas hepáticas, perfil lipídico y marcadores del metabolismo hidrocarbonado en niños con antecedentes de CER y compararlos con niños sanos de un grupo control.
- Determinar niveles plasmáticos de adipoquinas: adiponectina, resistina y leptina, para establecer diferencias entre el grupo con antecedentes de CER y el grupo control.
- Estudiar parámetros de inflamación sanguíneos como la proteína C reactiva (PCR), interleuquina 1 beta (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 8 (IL-8), factor de crecimiento hepatocitario (HGF), factor de crecimiento neural (NGF), marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1 (MCP1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total (PAI1t) en niños con antecedentes de CER y compararlos con niños de un grupo control.
- Evaluar el estrés oxidativo (EO) mediante la cuantificación de enzimas del sistema de defensa antioxidante (SDA): catalasa, glutatión reductasa (GR), glutatión peroxidasa (GPox) y superóxido dismutasa (SOD) en eritrocitos lisados, y la determinación de antioxidantes no enzimáticos exógenos en plasma: betacaroteno (β caroteno), tocoferol alfa (tocoferol α) y retinol.

- Establecer posibles asociaciones entre todos los parámetros estudiados, tanto en la bioquímica general, como con las adipoquinas, marcadores de inflamación y oxidación en niños con antecedentes de CER.

Introducción

II) INTRODUCCIÓN

II. 1) LA PREMATURIDAD

La mayor parte de las muertes neonatales ocurren en recién nacidos prematuros. La prematuridad es un factor de riesgo de deficiencia y discapacidad, con repercusiones familiares y sociales. Existe un aumento de la tasa de prematuridad en los países desarrollados, que refleja no sólo el aumento de la tasa de incidencia, sino también los cambios en la práctica asistencial a éstos, con avances de los cuidados obstétricos y neonatales, que permite la supervivencia de neonatos cada vez más inmaduros (Tucker et al, 2004). Un RN prematuro es aquél que nace antes de completar la semana 37 de gestación (Kimberly et al, 2005). La gestación es una variable fisiológica fijada en 280 ± 15 días. El concepto pretérmino no implica valoración de madurez, como lo hace el concepto de prematuro, aunque en la práctica ambos términos se usan indistintamente. La mayor parte de la morbilidad afecta a los RN “muy pretérminos”, cuya edad gestacional (EG) es inferior a 32 semanas y especialmente a los “pretérminos extremos” que son los nacidos antes de la semana 28 de EG. La dificultad de conocer inequívocamente la EG, justificó el uso del peso al nacimiento como parámetro de referencia, para clasificar al neonato como “bajo peso al nacimiento” el inferior a 2.500 gr. y los subgrupos de “muy bajo peso al nacimiento” a los de peso inferior a 1500 gr. y de “extremado bajo peso” al inferior a 1000 gr. Al establecer la relación entre los parámetros de peso y EG, podemos subdividir a la población de pretérminos, en peso elevado, peso adecuado y bajo peso para su EG; situación que condicionará la probabilidad de determinada morbilidad postnatal (Rellan et al, 2008).

Incidencia: En España la tasa de prematuridad ha aumentado en los últimos 20 años; en los últimos 10 años, varió entre 1996 y 2006 del 5,84% al 6,84%, aunque existen diferencias entre las Comunidades Autónomas y entre los diferentes hospitales (Pallás et al, 2006). En Estados Unidos (EEUU) en 2007, la prevalencia de prematuridad era del 12,7% (Wiedmeier et al, 2010); el 8,8%, corresponde a nacidos entre la 34-36 semanas de EG (Jain et al, 2006). El nacimiento de pretérminos con EG inferiores a 32 semanas se mantiene relativamente estable, variando entre el 1 y 2 % del total de los nacimientos, y el de los RN de peso inferior a 1.500 gr. se ha estimado en 0,75% en 2006 (Rellan et al, 2008).

Factores asociados a la prematuridad: La mayor parte de los prematuros nacen por un parto espontáneo o tras amniorrhexis prematura (>50%). Otros factores asociados son la existencia de partos pretérminos previos, situación socioeconómica desfavorable de la madre y el tabaquismo materno. La gestación múltiple también aumenta la tasa de prematuridad y representa aproximadamente el 75% de los nacidos pretérminos (Huddleston et al, 2003).

Patología asociada: Es derivada de la inmadurez y de la hipoxia (poca EG e ineficacia de la adaptación respiratoria postnatal tras la supresión de la oxigenación trasplacentaria). El test de Apgar, utilizado para evaluar el estado de salud del recién nacido, suele ser bajo en estos RN, precisando en muchas ocasiones, reanimación neonatal.

- **Patología respiratoria:** La función pulmonar del pretérmino está comprometida por diversos factores entre los que se encuentran la inmadurez neurológica central y la debilidad de la musculatura respiratoria, asociadas a un pulmón con escaso desarrollo alveolar, déficit en la síntesis de surfactante y aumento del grosor de la membrana alveolocapilar. La vascularización pulmonar tiene un desarrollo incompleto con una capa muscular arteriolar de menor grosor y una disminución del número de capilares alveolares. La patología respiratoria es la primera causa de morbimortalidad del pretérmino y viene representada por el distrés respiratorio por déficit de surfactante (enfermedad de Membrana Hialina; EMH) seguida de la apnea del pretérmino y la broncodisplasia broncopulmonar (BDP), en secuencia cronológica de su aparición. La administración de corticoides prenatales y el uso del surfactante exógeno de origen bovino o porcino son dos terapias eficaces para reducir los efectos negativos de estos problemas respiratorios (Lopez Maestro et al, 2006).

- **Patología neurológica:** El sistema nervioso central (SNC) del RN pretérmino es inmaduro y con menor capacidad de adaptación postnatal que el de un RN a término. La susceptibilidad a la hipoxia, a los cambios de la osmolaridad y tensionales, hacen que el sangrado a nivel subependimario sea frecuente; consecuentemente estos neonatos pueden presentar hemorragia intraventricular (HIV) (Rellan et al, 2008).

- *Consecuencias oftalmológicas*: Es muy frecuente la aparición de retinopatía del pretérmino (ROP); causada por la detención de la vascularización de la retina que se produce en el momento del nacimiento y el posterior crecimiento desordenado de los vasos. La tasa de ROP desciende conforme aumenta la EG (Perez Rodriguez et al, 2007).

- *Patología cardiovascular*: La hipotensión arterial precoz es más frecuente cuanto menor es el peso del RN. El tratamiento actual es controvertido e incluye el uso de drogas vasoactivas. El ductus arterioso permeable (DAP) es una patología prevalente en los pretérminos, debido a la insensibilidad que presentan al aumento de la oxigenación y a la caída anticipada de la presión pulmonar que hace que el shunt izquierda-derecha se establezca precozmente (Maisels et al, 2003).

- *Patología gastrointestinal*: La maduración de succión y de su coordinación con la deglución se completa entre las 32-34 semanas de EG. Existen trastornos de tolerancia alimentaria, por escasa capacidad gástrica y reflujo gastroesofágico. La motilidad intestinal es pobre y con frecuencia se observan retrasos de la evacuación y meteorismo. El tracto digestivo es susceptible de maduración subtrato inducida; se consigue la digestión eficaz de forma rápida, siendo el déficit más persistente el de la absorción de grasas y vitaminas liposolubles. Los pilares básicos de la alimentación del pretérmino son la alimentación trófica precoz, soportes nutricionales parenterales, y la utilización de leche materna fortificada. La prematuridad es el factor de riesgo individual más importante para la presentación de enterocolitis necrotizante (ECN), en cuya patogenia se mezclan factores madurativos, vasculares, hipoxémicos e infecciosos (Hernández González et al, 2005).

- *Metabolismo*: La termorregulación está afectada por un metabolismo basal bajo con escasa producción de calor, disminución de la reserva grasa corporal y el deficiente control vasomotor; que condicionan una mayor tendencia a la hipotermia que a la hipertermia. En cuanto al metabolismo hidrosalino, el agua representa más del 80% del peso corporal del pretérmino, y la inmadurez renal le impide la correcta reabsorción del sodio y del agua filtrada. Existe también un desequilibrio en la excreción de fósforo y calcio. Las necesidades hídricas del prematuro son elevadas y deben manejarse adecuadamente los aportes ya que las sobrecargas están relacionadas con la aparición de

DAP, ECN y BDP. Estos neonatos pueden presentar acidosis metabólica tardía si son alimentados con formulas adaptadas debido a la inmadurez renal. El metabolismo fosfocálcico debe estar regulado para conseguir una adecuada mineralización ósea y evitar la osteopenia del pretérmino. El metabolismo de los hidratos de carbono en el pretérmino se caracteriza por el escaso depósito de glucógeno que, junto con la interrupción de los aportes de glucosa umbilical, hace que se produzca un descenso de la glucemia. Los pretérminos más extremos tienen una mala capacidad de regulación de la insulina; que condiciona con frecuencia hiperglucemias y necesidad de administración de la misma (Rellan et al, 2008).

- *Problemas hematológicos e inmunológicos*: La serie roja del pretérmino tiene valores medios inferiores a los del RN a término, con un aumento de eritroblastos. La serie blanca es muy variable, sus alteraciones no son específicas y la serie plaquetaria del pretérmino está en rango de normalidad. El sistema inmune del pretérmino es incompetente respecto al del RN a término. La inmunidad inespecífica o general es ineficaz, con vulnerabilidad de la barrera cutánea, mucosa e intestinal, disminución de la reacción inflamatoria e incompleta fagocitosis y función bactericida de los neutrófilos y macrófagos. La inmunidad específica muestra una disminución de inmunoglobulina (Ig) G que es de transferencia materna, con práctica ausencia de IgA e IgM. La respuesta de la inmunidad celular es relativamente competente. La incapacidad de limitar la infección a un territorio orgánico, hace que la infección neonatal sea sinónimo de sepsis, con focos secundarios que comprometen severamente el pronóstico como es la meningitis neonatal. Si tenemos en cuenta las manipulaciones médicas que el pretermino precisa, con procedimientos invasivos múltiples asociados a la ecología hospitalaria donde es atendido, la posibilidad de adquirir una infección es alta, a las que se añade una respuesta limitada que compromete su pronóstico (Jiménez et al, 2006).

- *Alteraciones endocrinas*: Existe diferencias en los prematuros respecto a los RN a término en glándulas endocrinas como tiroides, hipófisis y suprarrenal, y en el desarrollo gonadal, ya que los prematuros se encuentran en estadios madurativos incompletos (Rellan et al, 2008).

II.2) CRECIMIENTO INTRAUTERINO RETRASADO Y RECIÉN NACIDO PEQUEÑO PARA SU EDAD GESTACIONAL

II.2.1) Concepto de crecimiento intrauterino retrasado y de recién nacido pequeño para su edad gestacional

El término CIR debería referirse únicamente a niños con escaso crecimiento en el transcurso del embarazo, siguiendo los diagramas del crecimiento intrauterino (Wit et al, 2006). No obstante, en muchas ocasiones se utiliza como sinónimo de pequeño para su edad gestacional (PEG) aunque el concepto CIR se debería utilizar para referirse al feto, mientras que PEG sería utilizado para hacer referencia al RN (Mandrizzato et al, 2008). Por ello, los niños con CIR serían un grupo importante dentro del total de niños nacidos PEG (Curtis et al, 2004). Para la definición de ambos términos, es de crucial importancia que la población de referencia sea la adecuada y que las medidas de peso, talla y la determinación de la EG se hagan con gran exactitud y en referencia al género (Lee et al, 2003; Ferdynus et al, 2009). Tras consenso entre diferentes autores, podría afirmarse que el término PEG describe a un RN cuyo peso al nacimiento y/o talla (medida cabeza-talón) se encuentran al menos a menos de dos desviaciones estándar (DS) de la media para su EG, basándose en datos obtenidos con una población de referencia (Curtis et al, 2004). Dentro de los niños PEG podría hacerse una subclasificación según el parámetro antropométrico valorado, obteniéndose así niños PEG para peso, talla y para ambos criterios. En las diferentes publicaciones revisadas se han considerado como límites de definición, distintos percentiles de medidas antropométricas: percentiles (p) 10, 5 o incluso 3. Se considera más apropiado definir CIR como la disminución del crecimiento por debajo de $-2DS$, por lo tanto, en percentiles, lo más correcto sería utilizar el percentil 3, que es el que corresponde aproximadamente a $-2DS$. Así, el término CIR indica que existe una velocidad de crecimiento fetal disminuida que se debe documentar al menos con dos medidas de crecimiento intrauterino (Lee et al, 2003).

El CIR indica la presencia de algún proceso fisiopatológico en el útero que podría inhibir el crecimiento fetal (Lee et al, 2003), que condicionaría una tasa de crecimiento fetal inferior al normal para la población general y para el crecimiento potencial específico del RN (Curtis et al, 2004). Por ello, el diagnóstico debe ser

prenatal, mediante estudios ecográficos durante el embarazo (Bie et al, 2010). El Colegio Americano de Ginecólogos definió CIR como la situación que se produce cuando un feto falla al alcanzar su crecimiento potencial (Mandrizzato et al, 2008). El CIR representa el grado de crecimiento corporal y de desarrollo y ha sido atribuido fundamentalmente a procesos genéticos y a la funcionalidad de la placenta (Shan et al, 2009).

Para el diagnóstico del CIR, el método de elección es la ecografía, ya que es muy seguro y altamente reproducible aunque es indispensable que la EG sea lo más precisa posible. Los parámetros biométricos más utilizados en el segundo trimestre tardío y en el tercero son el diámetro biparietal, circunferencia de la cabeza, circunferencia abdominal y longitud femoral. Con estas medidas se puede calcular el peso fetal estimado, con error de estimación máximo del 10% (Mandrizzato et al, 2008). Además, hay que prestar especial atención al diagnóstico de anomalías estructurales o cromosómicas que pueden estar relacionadas; disfunción placentaria, aneuploidias, síndromes genéticos e infecciones intrauterinas (Rizzo et al, 2009). Parece que diversos marcadores bioquímicos podrían ser de utilidad en el screening de CIR. Concentraciones disminuidas de proteína A y de gonadotropina coriónica humana en el primer trimestre de la gestación, y elevaciones de alfafetoproteína, inhibina A y gonadotropina en el segundo trimestre, están asociadas a un mayor riesgo de CIR (Figueras et al, 2011).

Existe una asociación entre los niños nacidos PEG y un incremento de morbilidad y mortalidad (Bie et al, 2010), y también entre el CIR y el incremento de la morbilidad y la mortalidad en los RN, aunque dicha relación parece controvertida (Ferdynus et al, 2009). Hay autores que defienden que la definición de CIR en la etapa prenatal mediante control ecográfico correlaciona mejor con las consecuencias clínicas de dicha situación neonatal, y que además dicha definición es más precisa (Lackman et al, 2001), aunque Garite y colaboradores (2004) sólo encontraron una correlación positiva entre la morbimortalidad con el CIR cuando el diagnóstico prenatal fue confirmado en la etapa perinatal. Evaluaron el impacto del diagnóstico prenatal o perinatal del CIR en la mortalidad y morbilidad, utilizando diferentes definiciones. Compararon RN con CIR que habían sido catalogados como tal en distintos momentos: en la etapa perinatal mediante controles ecográficos, al nacimiento con un peso en

dicho momento inferior al p10 para su EG según curvas de referencia, o con ambos criterios. Observaron una correlación entre la morbilidad y la gravedad, con los grados más severos de CIR. En todos los casos, el CIR se ha asociado a un incremento de mortalidad y morbilidad, indistintamente de la definición utilizada, correlacionando fuertemente ambos conceptos. Sin embargo, para la definición de CIR además de las curvas de referencia de crecimiento fetal, también podrían utilizarse datos obtenidos con RN sanos como población estándar (Mandrizzato et al, 2008; Ferdynus et al, 2009).

II.2.2) Incidencia de crecimiento intrauterino retrasado y de recién nacidos pequeños para su edad gestacional

En la actualidad el CIR es considerado un problema clínico relevante, con una prevalencia del 5-8% en la población general (Lee et al, 2003; Saenger et al, 2007; Mandrizzato et al, 2008). El 10% de la mortalidad perinatal es consecuencia del mismo, además, hasta el 72% de las muertes fetales inexplicables se asocian a niños PEG (Mandrizzato et al, 2008). Un hecho a tener en cuenta es que la incidencia de CIR varía según la población de referencia (existen mayores tasas del mismo en los países desarrollados y mayor en la población asiática) (Shan et al, 2009), y según el percentil utilizado en la definición (Sheridan, 2005). Existen muchos factores de causa materna, placentaria y fetal que podrían asociarse con un incremento en la incidencia de RN PEG. Se ha estimado que el 80-85% de los fetos que se consideran PEG son pequeños y sanos, el 10-15% de los mismos serían CIR y en el 5-10% existen anomalías o infección intrauterina crónica. El 75% de los fetos con riesgo de CIR no son reconocidos como tales hasta después del nacimiento, y la tasa de detección del mismo en las gestaciones de bajo riesgo se sitúa en torno al 15% (Figueras et al, 2011). La incidencia de CIR entre los niños nacidos de 23-34 semanas de EG es mayor, y en porcentajes muy elevados, los niños CIR presentan CER en la semana 36 de edad gestacional corregida (EGC) (Olsen et al, 2009).

II.2.3) Factores de riesgo y comorbilidades asociadas al crecimiento intrauterino retrasado y al recién nacido pequeño para su edad gestacional

Derivado del estudio de diferentes autores (Lee et al, 2003; Sheridan, 2005; Mandruzzato et al, 2008), los principales factores etiopatogénicos que se asocian con los RN PEG son los siguientes:

- Factores demográficos: edad materna (madres muy jóvenes o muy mayores), peso y talla materna, raza (tanto materna como paterna), madres primíparas o grandes múltiparas, hijo anterior con PEG.

- Factores maternos: patologías como hipertensión arterial (HTA), enfermedad renal, diabetes tipo 2, ECV y enfermedades vasculares del colágeno. Así como patología autoinmune, situaciones de hipoxia, anemia crónica y enfermedad pulmonar crónica. Otros factores de causa materna fueron las infecciones (toxoplasmosis, rubéola, infección por citomegalovirus, herpes simple, virus de la inmunodeficiencia humana, además de varicela, malaria y tripanosomiasis), el estado nutricional (bajo peso al inicio del embarazo, o escasa ganancia ponderal durante la gestación), los factores socioeconómicos, las drogas de abuso (tabaco, alcohol, cocaína y anfetaminas) y los fármacos (warfarina, esteroides, anticonvulsivantes, antineoplásicos). La obesidad materna se ha considerado un factor protector contra el CIR (Figueras et al, 2011).

La enfermedad materna, fundamentalmente preeclampsia y diabetes gestacional, está muy asociada a la condición del RN pretérmino y al parto, puesto que afecta al peso del feto. Así, los estándares utilizados para definir la población normal que incluyan neonatos cuyas madres sufren determinadas patologías no son adecuados ya que dichos RN no representan la trayectoria normal de crecimiento intrauterino de un feto sano (Ferdynus et al, 2009). Por otra parte, las mujeres con un hijo previo con CIR tienen hasta 50% más riesgo de tener en el siguiente embarazo un CIR severo.

Parece que el CIR está muy influenciado por la alimentación materna (la restricción calórica y la ganancia insuficiente de peso durante la gestación), tamaño de la placenta (está muy correlacionado con el peso al nacimiento, placentas pequeñas generarán niños pequeños), madres primíparas (tiene mayor probabilidad de RN con pesos menores), o hábito tabáquico de la madre (es una de las mayores causas de CIR y la madres fumadoras pasivas también tiene algún riesgo). Los factores genéticos

también pueden influir en que el peso del RN se haya fuertemente relacionado con el peso del nacimiento de la madre, por lo que podría ser una cualidad heredada. El género del feto también se ha relacionado; así, los niños suelen tener mayor peso y perímetro craneal que las niñas) (Saenger et al, 2007).

- Factores placentarios: son los más frecuentes; relacionados con la estructura (arteria umbilical única, hemangioma placentario) y la perfusión y falta de oxigenación (sitio de implantación no óptimo), fundamentalmente. En la gestación múltiple especialmente de gemelos monocigotos, suele haber comunicaciones arteriovenosas comunes placentarias.

- Factores fetales: anormalidades en el cariotipo, deleciones cromosómicas, enfermedades genéticas, infecciones, anormalidades congénitas. Otros factores que pueden influir serían la propia constitución pequeña del niño (Sheridan, 2005).

Los efectos del CIR en la morbimortalidad de los RN pretérmino parecen controvertidos, puesto que hay autores que sugieren que la condición de ser CIR acelera la maduración fetal, posiblemente a causa del estrés, y que mejora la incidencia de algunas comorbilidades como el síndrome de distrés respiratorio, así como que se asocia a una mayor supervivencia neonatal. Sin embargo, la mayoría de los autores indican que los RN PEG sufren mayor número de comorbilidades, como ECN, ROP, siendo estas patologías además más graves, precisando también mayor soporte cardiorespiratorio y con mayores tasas de mortalidad que los RN normales para su edad gestacional (Garite et al, 2004). Se ha relacionado el CIR con morbilidad metabólica (hipoglucemia, dislipemia), hematológica (aumento en el recuento de células blancas nucleadas) y riesgo de ECV (hipotensión), y además de con una depleción de grasa subcutánea (Mandrizzato et al, 2008). Otros autores asocian el CIR con enfermedades degenerativas, HTA, ECV y diabetes en la edad adulta (Sheridan, 2005).

Las morbilidades más frecuentes asociadas a los RN PEG son similares a las del prematuro: distrés respiratorio, BDP, HIV severa y ROP. Aunque cada una de ellas contribuye por sí misma a la morbilidad del RN, su asociación predeciría el riesgo de muerte tardía y de déficit neurosensorial. Por otra parte, se debería tener presente la importancia de la correcta nutrición de estos niños, ya que la desnutrición tanto fetal como durante el periodo neonatal afectaría al desarrollo del SNC, así como a la capacidad cognitiva y al comportamiento. Además, los RN con deterioro del estado

nutricional son más susceptibles a desarrollar BDP y sepsis tardía (Costas et al, 2005; Ferdynus et al, 2009).

Los RN con menor peso requieren mayor asistencia ventilatoria, mayor necesidad de nutrición parenteral (NP), presentan una recuperación del peso al nacimiento más lenta y mayor incidencia de comorbilidades asociadas. En concreto, la BDP y la sepsis son las patologías más frecuentemente asociadas a estos RN, existiendo una fuerte relación entre ambas. La frecuencia de infecciones y complicaciones asociadas se incrementa con el menor peso al nacimiento, estando esta también relacionada con el retraso madurativo y motor. La inmadurez de los sistemas orgánicos requiere intervenciones terapéuticas más agresivas y prolongadas, y mayor aparición de complicaciones. Diferentes autores han observado que aunque el RN recupere el peso al nacimiento, su velocidad de crecimiento es similar a las curvas de referencia para población normal siempre por debajo de 2DS.

En la actualidad, aún no se dispone de ningún método eficaz para la prevención y el tratamiento del CIR, debido a la naturaleza multifactorial del mismo, aunque han mejorado sustancialmente las medidas tras su diagnóstico (Mandrizzato et al, 2008; Figueras et al, 2011).

II.2.4) Comorbilidades de niños con antecedentes de crecimiento intrauterino retrasado o ser pequeño para su edad gestacional

Muchos de los niños nacidos PEG alcanzan espontáneamente en los años posteriores el crecimiento óptimo pero los sujetos que persisten con corta estatura a lo largo de los años suelen presentar mayor riesgo de desarrollar problemas de crecimiento, aprendizaje y de comportamiento (Curtis et al, 2004; Lee et al, 2004; Bie et al, 2010), y con un menor desarrollo neurológico (Olsen et al, 2009). Los RN PEG parece que poseen menor coeficiente intelectual (CI) y alteraciones en el área cognitiva, pudiendo existir diferencias en la forma y la funcionalidad del cerebro entre estos niños en relación con los nacidos con peso adecuado para su EG. Se ha descrito un menor peso del cerebro, un menor número de neuronas y una menor concentración de mielina en este colectivo. Todas estas apreciaciones varían ampliamente según la población estudiada y dependen de complejas interacciones entre muchos factores, tanto

intrauterinos como extrauterinos. Algunos de ellos son independientes de haber nacido PEG, sin embargo otros son dependientes, como la incidencia de morbilidades perinatales y el estado socioeconómico. Así, el menor volumen cerebral estaría relacionado con el perímetro craneal del RN. Incluso, aunque las diferencias no son significativas, parece que los adolescentes nacidos PEG poseen menor volumen cerebral cortical que los controles sanos. Aunque la prematuridad es un factor de riesgo independiente de un menor desarrollo cognitivo, cuanto menor sea el peso al nacimiento menor será este coeficiente y menor desarrollada estará el área cognitiva. El CI de los RN pretérmino PEG es menor que el de los pretérmino con peso adecuado a su EG, y éste a su vez menor que el de los RN a término (Bie et al, 2010).

Los niños que fueron RN PEG suelen ser más pequeños (Saenger et al, 2007) y tienen entre 5 y 7 veces más probabilidad de desarrollar talla baja en la infancia, que los RN con peso adecuado (Albertsson-Wikland et al, 1998). En los niños con antecedentes de CIR suele observarse retraso del crecimiento temprano, alteraciones del metabolismo y del desarrollo tanto después del nacimiento como en etapas posteriores de la vida. El fallo del crecimiento tan temprano puede programar efectos adversos a largo plazo; ya que estos sujetos tienen mayor riesgo de padecer alteraciones metabólicas con mayor riesgo de ECV, RI, diabetes tipo 2, dislipemia y enfermedad renal en la época de adulto (Curtis et al, 2004; Saenger et al, 2007). El aumento de enfermedad renal en estos individuos podría ser causado por una reducción de neuronas y por la aparición de hipertrofia glomerular secundaria a este hecho. En adultos que fueron RN PEG con una función renal normal se ha observado microalbuminuria y una reducción de la tasa de filtrado glomerular. Además, los niños PEG pueden presentar otras patologías a largo plazo como aumento de patología respiratoria (Costas et al, 2005) u osteoporosis precoz en edades tempranas de la vida (Tobias et al, 2004; Saenger et al, 2007).

II.3) CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

II.3.1) Concepto de crecimiento extrauterino retrasado

La adaptación del RN a la vida extrauterina es un proceso que consume gran cantidad de energía debido a la importante demanda energética necesaria para el mantenimiento de las funciones basales, fundamentalmente sistema cardiorrespiratorio, metabolismo, termorregulación y síntesis de tejidos, además de la energía necesaria para mantener todo tipo de actividad. Esta adaptación a la vida extrauterina está relacionada inversamente con el peso al nacimiento, ya que los RN con un peso extremadamente bajo para su EG pueden perder hasta el 15-20% del mismo durante el proceso adaptativo tras el nacimiento, y la recuperación del peso puede prolongarse en el tiempo dependiendo de múltiples factores (Ernst et al, 2003). En los primeros días tras el nacimiento, en un RN a término de peso adecuado tras una gestación normal se observa una pérdida ponderal máxima del 7% (Chantry et al, 2011). Esta situación está influenciada negativamente por la EG, ya que los RN de bajo peso al nacimiento tras una gestación normal (37-42 semanas), suelen experimentar un rápido crecimiento tras el nacimiento. Sin embargo, los grandes pretérmino están expuestos a la vida extrauterina en el momento en el que se produciría el pico máximo de crecimiento intrauterino, no pudiendo, en este caso completar su crecimiento de forma adecuada (Wit et al, 2006). Además, estos niños pretérmino, especialmente los nacidos muy pequeños para su EG no reciben la alimentación suficiente para alcanzar el equivalente al crecimiento fetal óptimo para su EG (Hay et al, 2008). Estas situaciones pueden derivar en un CER (Wit et al, 2006; Hay et al, 2008).

En la actualidad, el CER debería considerarse un problema clínico importante en los RN prematuros (Clark et al, 2003 a; Shan et al, 2007; Hay et al, 2008; Shan et al, 2009). El término CER se asocia a RN pretérmino que desarrollan un déficit nutricional severo en las primeras semanas tras el nacimiento y que continúan con un crecimiento escaso, y con valores en los parámetros antropométricos por debajo de la normalidad (Clark et al, 2003 a; Shan et al, 2009). En el momento actual existe falta de consenso por los diferentes autores en la propia definición del término, aunque se considera frecuentemente un niño con CER al RN con crecimiento inferior al p10 al alta de la Unidad de Neonatología (utilizando las tablas de crecimiento intrauterino en relación

con la EG estimada) (Clark et al, 2003 b; Martin et al, 2009; Olsen et al, 2009). Algunos autores definen al RN con CER cuando el crecimiento es inferior al p10 para los parámetros antropométricos de peso, talla y perímetro craneal, diferenciados por género y EG, independientemente del momento del alta (Sakurai et al, 2008; Shan et al, 2009). Otros autores, en cambio, consideran el CER como el crecimiento inferior al p3, por ser éste el equivalente a -2 DS (Curtis et al, 2004). Otros autores valoran en el concepto de CER los parámetros de crecimiento al nacimiento y en la 35 semana de EGC (Hasen-Pupp et al, 2011), o bien estudian el crecimiento en la semana 36 de EGC o al alta de Neonatología (Mestan et al, 2010). Debido a la controversia que existe, en este estudio, para ser lo más exhausto posible, se decidió considerar CER al RN pretérmino que en la semana 36 de EGC y al alta de Neonatología se encontrara con un peso inferior al p3 para su EG y género.

II.3.2) Valoración del crecimiento extrauterino en recién nacidos pretérmino

El crecimiento es un indicador del estado de salud; la mejoría de las condiciones de vida, la desaparición de muchas enfermedades infecciosas y la mayor disponibilidad de nutrientes han acarreado una aceleración secular del crecimiento en las poblaciones pediátricas de los países desarrollados junto con un aumento de las tasas de sobrepeso y obesidad (Carrascosa et al, 2008 a).

Para evaluar el crecimiento en la infancia, se utilizan parámetros antropométricos como el peso, la talla y el índice de masa corporal (IMC). En el RN, los parámetros antropométricos que se evalúan son peso, talla y perímetro craneal de acuerdo a la EG (Clark et al, 2003 b; Carrascosa et al, 2008 b; Olsen et al, 2009). Estas mediciones han permitido clasificar a los RN en aquéllos con peso adecuado, elevado o bajo para su EG, y de igual forma sirven para evaluar el crecimiento fetal respecto a su EG. Esta clasificación es útil porque permite identificar no sólo a aquellos RN con mayor morbilidad en el periodo intrauterino o perinatal, sino también a aquéllos con mayor riesgo para desarrollar trastornos de crecimiento, enfermedades metabólicas y/o cardiovasculares en edades medias de la vida (Carrascosa et al, 2008 b).

En las dos últimas décadas ha habido un incremento significativo en la tasa de supervivencia de los RN pretérmino, especialmente de los niños de muy bajo peso al

nacimiento, en los que la nutrición se ha convertido en el factor limitante más importante de la misma (Curtis et al, 2004). Han influido los avances en la intervención perinatal, como el uso de esteroides prenatales, las técnicas de soporte respiratorio y la administración de surfactante pulmonar exógeno (Costas et al, 2005). La pérdida ponderal en la primera semana de vida refleja la fluctuación del agua corporal total. Ello explica la pérdida ponderal habitual de todos los RN, mientras que los cambios producidos a partir de la primera semana de vida indicarían la situación del crecimiento del RN en respuesta al soporte nutricional y al manejo clínico (Costas et al, 2005).

La evaluación nutricional del RN inmediato al nacimiento aporta información útil acerca de la calidad en el espacio intrauterino y del crecimiento fetal. Estas medidas se utilizan para determinar si el RN presenta un peso adecuado para su EG (cuando el peso al nacimiento se encuentra entre los p10-90 o $\pm 2SD$), pequeño para su edad gestacional ($<p10$ ó $<2DS$) con respecto a la media de la población de referencia especificada por género, o si por el contrario, es grande para su edad gestacional ($>p90$). Aunque es el p3 el que equivale aproximadamente a 2DS de la media, siendo matemáticamente la medida más correcta para el valor mínimo, la mayoría de los trabajos publicados se expresan en los p 90, 50 y 10, siendo el p10 el límite inferior más comúnmente utilizado como límite de la normalidad (Curtis et al, 2004).

Las curvas de crecimiento intrauterino son fundamentales en la valoración del crecimiento extrauterino de los RN pretérmino en las Unidades de Neonatología, ya que ilustran el crecimiento fetal óptimo e ideal frente al que realmente desarrolla el RN. Se disponen de curvas de crecimiento para peso, talla y perímetro craneal, que además, se estiman en función de la EG del RN, del género, de la raza y del área geográfica. Existen diferencias epidemiológicas según las curvas utilizadas, fundamentalmente, en la selección de los RN pequeños y grandes para su EG. En la actualidad existen varias tablas de crecimiento que representan el crecimiento intrauterino fetal hasta llegar a una EG a término, ya que las recomendaciones de la Asociación Americana de Pediatría (AAP) están encaminadas a que los RN alcancen el peso equivalente al del ambiente intrauterino (Olsen et al, 2010). Se disponen de curvas internacionalmente reconocidas, como las de Lubchenco (Lubchenco et al, 1966) y las de Olsen; recientemente publicadas en 2010 con población de EEUU (Olsen et al, 2010).

Lo más comúnmente aceptado es que cada población disponga de sus propias curvas de crecimiento intrauterino, ya que así son más representativas del grupo estudiado (Olsen et al, 2010), debido a la elevada variabilidad que muestran los parámetros antropométricos neonatales en relación con factores raciales, genéticos, sociales, ambientales y de estilos de vida maternos. Dados los cambios somatométricos que se producen periódicamente en la población, es preciso actualizar las curvas de crecimiento frecuentemente. Las tablas españolas de Carrascosa publicadas en 2008, son las que más se asemejan a nuestra población y han sido recientemente revisadas. Estas curvas se realizaron tras un estudio de un total de 9.362 RN vivos de raza caucásica, 4.884 varones y 4.478 niñas, de 26-42 semanas de EG en hospitales de Barcelona y Zaragoza (Carrascosa et al, 2008 c) y utilizan datos para cada EG y género, ya que diferentes trabajos han confirmado dimorfismo sexual para los parámetros antropométricos así como un incremento gradual en sus valores para las EG evaluadas (Carrascosa et al, 2008 b, d).

II.3.3) Epidemiología del crecimiento extrauterino retrasado

Dado que los diferentes autores han empleado tablas de antropometría y poblaciones diferentes, así como criterios de inclusión variables (curvas utilizadas, percentiles usados en la definición o el parámetro antropométrico evaluado); la falta de uniformidad hace que la prevalencia del CER sea variable en los distintos estudios realizados. La incidencia de CER aumenta inversamente con el peso al nacimiento y con la EG (Yu, 2005). En un estudio con 24000 prematuros norteamericanos con 23-34 semanas de EG se obtuvo una incidencia de CER (considerando dicho término como todo aquel prematuro con crecimiento inferior al p10 en el momento del alta de Neonatología según las curvas de crecimiento intrauterino para su género y EG) del 20%, 34% y 43% para peso, talla y perímetro craneal, respectivamente (Clark et al, 2003 b). Otros autores indican que en el momento del alta de Neonatología la mayoría de los RN de 24 a 29 semanas de gestación no llega al peso medio de los RN en relación con la edad postmenstrual (Ehrenkranz et al, 1999).

La incidencia de CER parece ser mucho mayor en la población asiática que en la caucásica y de EEUU. Sakurai y colaboradores (2008) define el CER cuando el crecimiento es inferior al p10 para los parámetros antropométricos de peso, talla y

perímetro craneal, diferenciados por género y EG, independientemente del momento del alta. Observaron una incidencia de CER en los RN con 23-26 semanas de EG extremadamente alta; en torno al 90%. Esta incidencia disminuyó al 60% en los nacidos con 27-29 semanas de gestación y se situó en torno al 35% para los RN de más de 30 semanas de EG. Se observó que el 97% de los mismos se encontraban por debajo del p10 para los valores medios establecidos en la semana 36 de EG. Además, el 33% de los niños con CER participantes en su estudio presentaron CIR en la etapa prenatal. Cuando se evaluaron en función del peso, talla y perímetro craneal, y considerando exclusivamente a los niños nacidos con menos de 1500g, la incidencia de CER se situó en el 76%, 61% y 8%, en relación con los parámetros antropométricos indicados. En otro estudio con 1196 RN asiáticos, consideran CER a los RN prematuros con un peso inferior al p10 en el momento del alta de Neonatología según las tablas de crecimiento publicadas en 1986. También ponen de manifiesto que la incidencia de CER es mayor en esta población que en la de otros países y que está influenciada fundamentalmente por el soporte nutricional y por el bajo peso al nacimiento, siendo del 49,7% y situándose en el 79% para los niños nacidos con muy bajo peso (Shan et al, 2007). En un estudio posterior de los mismos autores con 2015 prematuros la incidencia se situó en un 57% (Shan et al, 2009).

En relación con RN con CIR que desarrollaron posteriormente CER, en un estudio realizado por “Pediatrics Medical Group” con 12323 prematuros con bajo peso al nacimiento (CIR) de menos de 32 semanas de EG, se observaron incidencias de CER para peso, longitud y perímetro craneal de 34%, 43% y 19%, respectivamente, mientras que en otro estudio realizado con 4438 RN pretérmino nacidos con CIR, e inferior a 1500g, se observó que el 97% de los RN se encontraban por debajo del p10 de peso en la semana 36 de EGC. Cuando se estudiaron los RN de menos de 1000 g, dicho porcentaje de CER ascendió al 99% (Sakurai et al, 2008).

En la revisión bibliográfica realizada no se ha encontrado información relativa a la prevalencia de CER, ya que los datos publicados hacen referencia a grupos estudiados de RN pretérmino o bien PEG y no se describen para la población general. Tampoco está descrita la incidencia de CER en España.

II.3.4) Factores de riesgo y comorbilidades asociadas al crecimiento extrauterino retrasado en el neonato

La EG, el peso y la talla al nacimiento, son factores relacionados con la morbilidad y mortalidad no sólo en el periodo neonatal, sino también en la etapa perinatal, y en la vida adulta (Carrascosa et al, 2008 c). Los factores más importantes que influyen en el crecimiento extrauterino son el peso y la EG al nacimiento (Ehrenkranz et al, 1999; Shan et al, 2009). Estos actúan de forma inversa, es decir, a menor peso al nacimiento y menor EG, mayor riesgo de padecer CER (Sakurai et al, 2008). Además, algunos autores han encontrado una relación positiva entre CER y el género masculino (Shan et al, 2009). La estancia hospitalaria también influye negativamente, ya que un mayor número de días ingresados en la Unidad de Neonatología origina una mayor probabilidad de desarrollar CER (Shan et al, 2009).

Existen factores negativos que resultan decisivos para el crecimiento de los RN, y que también se asocian al CER; destacan la severidad de alguna enfermedad concomitante como la presencia de distrés respiratorio neonatal que requiere ventilación mecánica (VM), enfermedad pulmonar crónica severa (Sakurai et al, 2008), ECN, ROP, HIV y la ingesta de esteroides postnatales (Ehrenkranz et al, 1999; Ernst et al, 2003; Clark et al, 2003 a; Costas et al, 2005). De hecho, parece que requieren un mayor tiempo de asistencia respiratoria y oxígeno que el resto de los RN prematuros, en cambio, precisan menos dosis de surfactante exógeno artificial. Son más propensos a presentar hipotensión y a los procesos sépticos (Radmacher et al, 2003).

En general, los RN prematuros con patología crítica son más propensos a presentar CER, ya que éstos tienen mayores demandas energéticas y frecuentemente, por su patología asociada reciben un soporte nutricional menor que el RN sano (Ehrenkranz et al, 1999). Otro factor a tener en cuenta es el soporte nutricional en los primeros días de vida, ya que cuanto más adecuado sea, menor será la incidencia de CER (Shan et al, 2009; Costas et al, 2005). También influye el tiempo que se tarde en instaurar la nutrición parenteral y enteral en estos RN (Sakurai et al, 2008), así como la tolerancia digestiva a determinados nutrientes (Ernst et al, 2003).

Las deficiencias energéticas así como las de micronutrientes pueden alterar el crecimiento a niveles celular y sistémico antes de que se vean afectadas las medidas antropométricas. En el cerebro, por ejemplo, es necesaria la energía para el crecimiento neuronal, de las células de la glía, y para la mielinización. Los neonatos con carencias nutricionales presentan frecuentemente, asociadas a un sistema inmune inmaduro, deficiencias inmunitarias que se ven reflejadas en el momento en que se observa una reserva proteica baja (Clark et al, 2003 a). Sin embargo, tratando de evitar un aporte deficitario, diversos estudios han propuesto aumentar el soporte nutricional de estos niños en la etapa perinatal, fundamentalmente proteico, para tratar de alcanzar un crecimiento adecuado en un tiempo determinado, asemejándose así a un niño a término. Recientemente, y dadas las alteraciones metabólicas conocidas en los niños con CIR en edades posteriores, se está revisando cuál debería ser el aporte nutricional de los recién nacidos, y si la administración de proteínas es excesiva (Sauer, 2007).

II.3.5) Factores de riesgo y comorbilidades en niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado

Los períodos críticos de nutrición en la etapa prenatal y en el periodo perinatal parecen influir en el riesgo de patología a lo largo de la vida (Clark et al, 2003 a). El CER podría tener un impacto potencialmente negativo en el posterior desarrollo y crecimiento del niño en otras etapas de la vida. El crecimiento es un indicador de un desarrollo nutricional adecuado y a su vez, la situación nutricional condiciona el desarrollo en los diferentes sistemas y aparatos del organismo, fundamentalmente durante los periodos críticos. De hecho, como se ha comentado, los RN pretérmino con muy bajo peso al nacimiento tienen mayor riesgo de desarrollar una amplia variedad de morbilidades a corto y largo plazo, como parálisis cerebral, retraso madurativo y motor, o mayor morbilidad respiratoria (Costas et al, 2005), en parte asociadas, no sólo a la propia prematuridad, sino a la nutrición recibida. El crecimiento postnatal de peso, talla y perímetro craneal se asocia con el desarrollo cognitivo posterior, y además, la nutrición temprana influye en la aparición de otras comorbilidades en etapas posteriores (Clark et al, 2003 a). Así, la malnutrición en los niños con antecedentes de CER, especialmente con déficit proteico, origina talla baja, así como problemas en el desarrollo de diferentes órganos, déficits neurosensoriales y de las conexiones dendríticas, y problemas

cognitivos y de comportamiento en etapas posteriores (Olsen et al 2002; Olsen et al, 2009).

Aunque se ha descrito que existe una fuerte asociación entre niños PEG y un mayor riesgo de padecer ECV y diabetes en etapas posteriores de la vida (Clark et al, 2003 a; Yu, 2005), no se han descrito relaciones entre los antecedentes de CER y patologías metabólicas y/o inflamatorias en la edad pediátrica, aunque podría haber una relación causal.

II.3.6) Tratamiento y prevención del crecimiento extrauterino retrasado

La AAP ha sugerido que para obtener un estado nutricional óptimo, el crecimiento postnatal del pretérmino debería ser aproximado al adquirido por un feto de la misma edad concepcional (AAP Committee on Nutrition, 1985). Un hecho importante a tener en cuenta es que los requerimientos nutricionales no se detienen en el momento del nacimiento, por lo que posponer la nutrición hasta que el neonato se encuentre estable no sería una medida de actuación adecuada. Si la alimentación no comienza de inmediato al nacimiento, el RN entrará en una situación hipercatabólica, que influye negativamente en el crecimiento y desarrollo, y en la aparición de otras comorbilidades (Hay, 2008). Desde que se instaura el soporte nutricional, se tarda un tiempo en alcanzar la ingesta diaria recomendada, además de ser difícil mantenerla a lo largo de la estancia hospitalaria, pero es fundamental que sea precoz.

Existen evidencias de que los cambios del soporte nutricional, como la temprana administración de lípidos y aminoácidos intravenosos, y la incorporación de leche materna suplementada, tienen una influencia positiva en el crecimiento (Yu, 2005). No obstante, parece que estas medidas no son suficientes, ya que estudios recientes (Embleton et al, 2001; Radmacher et al, 2003) sugieren que con las recomendaciones actuales de ingesta, es inevitable el desarrollo de malnutrición postnatal y el retraso del crecimiento extrauterino, sobre todo en los RN de menos de treinta semanas de gestación (Clark et al, 2003 a, Curtis et al, 2004). Otros autores afirman que los incrementos en la ingesta hasta llegar a los rangos recomendados, especialmente en relación con el aporte de proteínas, pueden aumentar el crecimiento de los prematuros

hasta alcanzar una situación óptima, igualándose al crecimiento intrauterino; de ahí la importancia de la indicación de NP precoz (Olsen et al, 2002).

Podría considerarse el “catch up” de crecimiento como la velocidad de crecimiento superior a la media (rango normal de peso para la población general) con el mismo género y edad cronológica. La mayoría de los RN PEG alcanzan el catch up con un peso superior a 2DS en los 2 primeros años de vida y en más del 80% de los mismos, dicho crecimiento óptimo se consigue en los 6 primeros meses (Saenger et al, 2007). En los pretérmino habría que tener en cuenta una serie de condiciones especiales; un gran número de ellos no coordinan la succión, carecen o tienen disminuida la motilidad intestinal y tienen inmaduras muchas rutas metabólicas. Así, estos neonatos podrían padecer una gran incidencia de complicaciones que interfieren con el estado nutricional. La BDP y la ECN pueden inducir a disminuir o eliminar la nutrición enteral (NE) en determinados momentos. Un hecho a tener en cuenta es que los neonatos pueden estar desnutridos las primeras semanas de vida, especialmente si reciben NP, ya que cuali y cuantitativamente el soporte, puede ser inferior a los requerimientos nutricionales de los pretérmino. Los suplementos de leche materna y las fórmulas adaptadas disponibles a veces no aportan los nutrientes necesarios para recuperar el déficit nutricional, especialmente de proteínas. Además, por sí mismos, los neonatos prematuros son incapaces de ingerir los nutrientes suficientes y de retener la cantidad de nitrógeno necesaria para igualar su crecimiento al de un feto de su misma EG, por lo que no alcanzarían el catch up y la retención mineral también sería menor (Curtis et al, 2004). Por todo ello se ha propuesto una nutrición más agresiva y temprana, de forma que los aportes nutricionales superen a los requerimientos con el fin de prevenir el estado catabólico de los primeros días de vida y asegurar el crecimiento posterior. Se comenzará la NE lo antes posible (Curtis et al, 2004; Enrenkranz et al, 2010). La NP se recomienda a los RN en los que la NE es imposible, inadecuada o difícil, y puede ser administrada de forma totalmente segura incluso a prematuros de peso <1000g (Yu, 2005), y debería comenzar desde el primer día de vida (Curtis et al, 2004).

Se conoce como programación fetal (“programming”) a la hipótesis de que diversas patologías en la infancia o en la etapa adulta están condicionadas por la adaptación y el desarrollo intrauterino. Aunque este concepto se centra en los

acontecimientos prenatales, incluyendo también la prematuridad, esta adaptación va acompañada de cambios en las características (cuali y cuantitativas) de los tejidos y en la expresión génica. A largo plazo puede originar morbilidades, especialmente enfermedades metabólicas (Barker et al, 2004). Por ello, un ambiente gestacional subóptimo, además de la deprivación nutricional, incrementa el riesgo de enfermedad en la etapa adulta. Esta situación podría ser el resultado de una insuficiente provisión de proteínas y de energía para satisfacer los requerimientos metabólicos del neonato. El uso de leche materna fortificada, fórmulas específicas para prematuros y preparaciones especiales de aminoácidos han mejorado el crecimiento postnatal del pretérmino así como el desarrollo neurológico y el crecimiento cerebral. Sin embargo, el uso de esta alimentación tan especializada se ha asociado también con un aumento de la adiposidad en el prematuro respecto a los RN a término con un crecimiento adecuado para la misma EG, así como con un mayor acúmulo de tejido adiposo visceral, y cambios en el adipocito (Wiedmeier et al, 2010). Por ello, la ganancia de peso postnatal se puede asociar con alteraciones metabólicas en etapas posteriores de la vida; y el rápido alcance del catch up puede influir en este desarrollo (Uthaya et al, 2005).

Aunque la nutrición en el periodo postnatal es un componente importante dentro de los cuidados de los pretérmino hospitalizados, tanto la escasa como la excesiva nutrición pueden tener efectos negativos para el neonato, incluyendo, como se ha comentado anteriormente, cambios en la programación del metabolismo, que den lugar a alteraciones a largo plazo. Las modificaciones en la dieta, el contenido en macro y micro nutrientes, y el crecimiento del niño influyen en etapas posteriores de la vida. La alimentación puede modular la expresión génica y la programación fetal, cambiando así la homeostasis metabólica. El ambiente postnatal temprano, incluyendo el soporte nutricional, es un factor determinante de enfermedad adulta; especialmente para los pretérmino, por lo que en su manejo, la nutrición es un factor muy importante. Es de vital importancia que los pretérmino ingresados en las Unidades de Neonatología reciban los aportes nutricionales necesarios para prevenir o tratar el CER, promoviendo también el desarrollo neurológico, a la vez que se minimiza la predisposición a la enfermedad metabólica en la edad adulta (Wiedmeier et al, 2010). Por ello, la condición de ser CER podría ser en sí misma un programming para algunas patologías en etapas posteriores de la vida, puesto que la alimentación que reciben estos neonatos con el fin

de alcanzar el catch up de crecimiento lo antes posible podría estar causando cambios en el tejido adiposo, que condicionaría enfermedad metabólica en el futuro.

Las recomendaciones actuales energéticas diarias para los pretérmino y los neonatos con CER se sitúan en 120 kcal/kg/d y las de proteína en 3 g/kg/d (Hay, 2008), aunque hay autores que anteriormente han defendido que dichos aportes no son suficientes por lo que sería mejor incrementar el soporte hasta 130-150 kcal/kg/d y 3,5-4 g proteína/kg/d (Olsen et al, 2002), al menos en los prematuros con peso menor de 1500g. Con ello, se buscaría obtener una ganancia de peso adecuada, y ésta debería igualarse a la de un feto en el tercer trimestre de gestación, es decir, la ganancia de peso (velocidad de crecimiento) debería ser de 15-20 g/kg/d (Embleton et al, 2001; Yu, 2005; Radmacher et al, 2003). No obstante, para los neonatos con CER esta recomendación parece que no es adecuada, ya que está elaborada con curvas de crecimiento intrauterino y no se han tenido en cuenta los factores extrauterinos (Martin et al, 2009).

El prematuro experimenta una pérdida transepidérmica de fluidos debido a la inmadurez de su piel; en ocasiones puede ser excesiva, con la consiguiente deshidratación e hipernatremia en los primeros días tras el nacimiento, por lo que mantener una humedad ambiental por encima del 80% y un aporte de fluidos de 80-100 mL/kg/d sería recomendable para prevenir la pérdida de peso. La ingesta energética de 50 kcal/kg/d es suficiente para los gastos del pretérmino la primera semana de vida, pero se necesitaría un aporte añadido de 70 kcal/kg/día para igualar el crecimiento al intrauterino (Yu, 2005), aunque algunos autores, como se ha comentado anteriormente, lo consideran insuficiente (Olsen et al, 2002). En general, la NP debería proporcionar entre 90 y 100 kcal/kg/d. Las necesidades energéticas son menores a las de los neonatos con nutrición enteral exclusiva (116-131 kcal/kg/día) ya que la termogénesis es menor y no se pierde energía por heces (Koletzko et al, 2005). Los requerimientos parenterales de proteínas, calculados mediante diversos métodos, son de 2 a 3 g/kg/d en el RN a término. Ensayos clínicos aleatorizados en prematuros enfermos han señalado que el aporte de 1-1,5 g/kg/día de aminoácidos desde el momento del nacimiento es suficiente para evitar el catabolismo proteico, si bien se precisan aportes superiores para el depósito de proteínas. No se recomiendan aportes superiores a 4 g/kg/día en RN pretérmino y a 3 g/kg/día en RN a término (Rosal et al, 2008). Se aconseja comenzar

con un aporte de aminoácidos de 1,5 g/kg/d los primeros 2 días de vida. La infusión de glucosa comienza en 6-8 g/kg/d para prevenir la hipoglucemia. La hipoglucemia se puede evitar aumentando progresivamente la cantidad de glucosa hasta 10-20 g/kg/d. También el contenido lipídico se puede empezar desde el primer día de vida, con un aporte de grasa de 1 g/kg/día (Yu, 2005); el aporte de ácidos grasos esenciales debe ser de 0,5g/kg/d, mayoritario de $\omega 6$ respecto a $\omega 3$ (Hay, 2008).

En cuanto a la NE mínima debería empezar el 1 o 2 día de vida para estimular el aparato digestivo (Curtis et al, 2004); esta nutrición es trófica (1 ml cada 1-4 horas), esencial para la adaptación a la nutrición extrauterina y reduce la estancia hospitalaria. Para los pretérmino la leche materna es más beneficiosa que las fórmulas adaptadas; contiene mayor contenido en taurina, cisteína, lipasa (que mejora la absorción), ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, nucleótidos y una gran variedad de elementos traza. La tolerancia alimentaria se produce más rápidamente con la leche materna, y le confiere al niño protección inmunológica y antimicrobiana, además de transferirle factores de crecimiento y hormonas, que ejercen un control metabólico. Según algunos autores, tras 30 días, parece que la leche materna puede ser insuficiente para alcanzar los requerimientos del lactante pretérmino, por lo que sería necesario suplementarla con leche materna fortificada para que el RN alcance un crecimiento óptimo. Si la ingesta de leche materna no fuese posible, la elección para la alimentación del neonato sería una fórmula específica para RN pretérminos, que contiene mayor aporte calórico, minerales, elementos traza y vitaminas que las fórmulas convencionales; además la mayoría de ellas están suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (Yu, 2005).

La variación en la tolerancia digestiva y los aportes nutricionales son los factores de mayor impacto en las diferencias de crecimiento entre los neonatos. Si desde el nacimiento, la nutrición del RN no es adecuada, aparecen déficits de crecimiento precoces, por lo que los niños en el momento del alta de Neonatología, podrían ser pequeños para su EGC. Como se ha comentado, el 97% de los RN con menos de 1500 gramos son dados de alta de las unidades de Neonatología con un peso inferior al percentil 10 para su EG (Olsen et al, 2002). Algunos autores defienden que es inevitable la aparición de déficits nutricionales importantes en las primeras semanas de vida, y que éstos no remiten al alcanzar la ingesta diaria recomendada; este déficit

está asociado directamente con el CER (Embleton et al, 2001). Es cierto que los déficits nutricionales pueden ser más frecuentes, debido a que se tarda un tiempo en alcanzar la ingesta diaria recomendada, y es complicado mantenerla a lo largo del tiempo, especialmente en RN con patología grave. Hay que tener en cuenta que las recomendaciones diarias están establecidas para conseguir un crecimiento adecuado y no para corregir los déficits. Esto debe considerarse en la programación del soporte nutricional que requieren estos RN (Bloom et al, 2003).

Por otra parte, los aportes pueden modificar, no sólo el crecimiento, sino otros factores asociados. Para los RN pretérmino resulta complicado alcanzar el crecimiento adecuado puesto que éste depende de multitud de factores, como sus propias características (EG, raza, sexo, la patología que presentan) y los tratamientos (necesidad de soporte cardiorrespiratorio, exposición a esteroides postnatales, aporte nutricional y otros). Además de estos factores, se suman las complicaciones clínicas como distrés respiratorio, infecciones y ECN, y otras patologías. Los mayores predictores de retraso del crecimiento son la severidad de la patología que presentan, así como la exposición a esteroides postnatales un mínimo de 15 días, y una ingesta proteica baja. Cada patología específica origina un impacto diferente en el crecimiento del RN (Olsen et al, 2002). La leche materna, así como la nutrición enteral trófica disminuyen el riesgo de ECN, que es un factor negativo fundamental en la incidencia de CER (Hay, 2008).

En la actualidad para la prevención del CER se considera esencial optimizar la nutrición en la etapa postnatal en las Unidades de Neonatología (Yu, 2005) y detectar precozmente los déficits nutricionales para su temprana corrección. Además, alcanzar un buen peso está asociado a una disminución de la estancia hospitalaria, lo que reduciría costes sanitarios (Olsen et al, 2002). No obstante, parece que la malnutrición postnatal y el crecimiento retardado son inevitables con las recomendaciones de ingesta diarias actuales (Clark et al, 2003 a), por lo que habrá que seguir estudiando qué aportes de macro y micronutrientes, y en qué cantidades, son los más adecuados para obtener un crecimiento más óptimo y prevenir el riesgo de comorbilidades asociadas, no sólo en la etapa perinatal, sino en etapas posteriores de la vida.

II.4) TEJIDO ADIPOSO Y ADIPOQUINAS

II.4.1) *El tejido adiposo*

El tejido adiposo es el principal órgano de reserva de grasa. Está formado por adipocitos (células adiposas) y un componente estromático /vascular en el que residen los preadipocitos, células endoteliales, fibroblastos, leucocitos y macrófagos (Tilg et al, 2006). Existen dos tipos de tejido adiposo, y por lo tanto dos tipos de adipocitos diferentes que los forman:

- El tejido adiposo blanco, es el más abundante del organismo humano adulto y por lo tanto es el mayor reservorio energético, en forma de triglicéridos (TG), proveniente éstos de los quilomicrones (QM) y del colesterol de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLc) circulantes. Este tejido adiposo blanco funciona como órgano productor de sustancias con acción endocrina, paracrina y autocrina. Está formado por distintos tipos de células; siendo el adipocito el más abundante, los macrófagos constituyen el 10%. El almacenamiento de TG y ácidos grasos en el tejido adiposo blanco está influenciado por la acción de la insulina, que interviene en el metabolismo de la glucosa y estimula la lipogénesis (Fantuzzi et al, 2005; Maiorana et al, 2007). En la actualidad es considerado el mayor órgano endocrino (Brochu-Gaudreau et al, 2009).

- El tejido adiposo pardo es el encargado de la termogénesis, su color se debe a la gran cantidad de mitocondrias que posee. Es el mayoritario en neonatos (Tilg et al, 2006).

En condiciones normales el 80% del tejido adiposo está localizado en el tejido celular subcutáneo, mientras que el tejido adiposo visceral representa menos del 20%. El tejido adiposo visceral está constituido por adipocitos de un tamaño más reducido y con menor capacidad de almacenamiento. Es un tejido más vascularizado, con una mayor inervación simpática y con gran número de receptores α 3-adrenérgicos, lo que facilita una mayor actividad metabólica. En el aumento de la cantidad tejido adiposo se hallan implicado dos procesos; por una lado está el aumento de tamaño de los adipocitos (hipertrofia) y por otro, el incremento en el número de adipocitos

(hiperplasia), este último se realiza a partir de los preadipocitos mesenquimáticos, lo cual supone un conjunto de pasos de diferenciación en el que participa una cascada de factores de transcripción específicos, uno de los cuales es el receptor activador de la proliferación de los peroxisomas gamma (PPARs). El tejido adiposo visceral crece mediante hiperplasia e hipertrofia celular, mientras que el tejido subcutáneo crece fundamentalmente mediante hiperplasia celular. Existen diferencias sustanciales entre el tejido adiposo visceral y el subcutáneo, fundamentalmente en cuanto a la producción de biomoléculas, la actividad de diferentes receptores y de procesos enzimáticos relacionados con el metabolismo lipídico, siendo el tejido adiposo visceral metabólicamente más activo que el subcutáneo y más proaterogénico (Meyers et al, 2007).

Cuando en 1994 se describió la secreción de leptina por parte del adipocito se llegó a la conclusión de que el tejido adiposo está involucrado en un gran número de procesos metabólicos y fisiológicos. Actualmente, el tejido adiposo es considerado como un órgano endocrino ya que segrega gran cantidad de hormonas y biomarcadores, principalmente por las células estromales presentes en el mismo (células endoteliales, fibroblastos, leucocitos y macrófagos) y por el adipocito. Estas moléculas son conocidas como adipocitoquinas, cuya función incluye los balances de energía y apetito, sensibilidad a la insulina y metabolismo lipídico. El término más aceptado para su denominación es el de adipoquinas ya que no todas las proteínas sintetizadas y segregadas son citoquinas (Fantuzzi et al, 2005). Por tanto, los adipocitos no sólo desempeñan un papel crucial en la regulación de la síntesis y degradación de los TG, sino que sintetizan una serie de hormonas y factores diversos que van desde la leptina, hormona reguladora de la ingesta dietética, a la adiponectina; hormona que aumenta la sensibilidad a la insulina, pasando por factores implicados en la hemodinámica vascular y citoquinas como el TNF α y la IL-1 β (Gil Campos et al, 2004 a).

Las citoquinas son importantes inmunorreguladoras que juegan un papel fundamental en la hematopoyesis, inflamación y cicatrización. También tienen efectos sistémicos que pueden manifestarse en procesos como fiebre, coagulación intravascular y shock. Las citoquinas también pueden estimular o inhibir la proliferación, diferenciación y maduración de una gran variedad de células del organismo. Sus efectos pueden ser pleiotrópicos o bien interdependientes de la acción de otra citoquina, por lo

que muchas de ellas pueden tener efectos sinérgicos o antagónicos. Estas características implican que la valoración de una sola citoquina aporta una información limitada; sería importante la medición de todas ellas para una correcta interpretación. La producción de citoquinas puede realizarse de una forma aguda o crónica por lo que las concentraciones de las mismas son muy variables, particularmente en la infección, inflamación y enfermedad neoplásica (Kellar et al, 2003).

Las adipoquinas más relevantes en el estudio metabólico son la adiponectina, resistina, leptina y visfatina. En la actualidad existen otras moléculas en fase de investigación, como vaspin (Wada, 2008) y la proteína transportadora del retinol-4. También son consideradas adipoquinas los biomarcadores inflamatorios $TNF\alpha$, IL-6, IL-8, MCP1, PAI1t, HGF y NGF (Chudek et al, 2006). Estas moléculas actúan en diferentes órganos como en el cerebro, hígado, músculo esquelético y sistema inmune. Modulan el balance energético, la sensibilidad a la insulina, el metabolismo hidrocarbonado y lipídico, así como la inflamación, la aterogénesis, la hemostasia, y la tensión arterial (TA), entre otras. Se requiere un tejido adiposo normofuncionante para la normal homeostasis lipídica y glucémica. En relación con la glucemia, existen adipoquinas que la favorecen y otras, por el contrario, la inhiben (Figura 1).

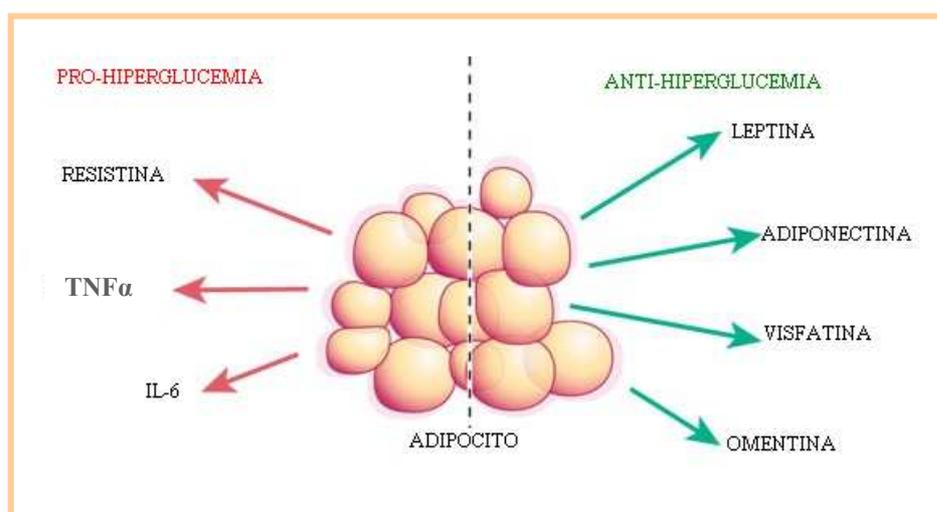


Figura 1. Principales adipoquinas y factores de inflamación secretados por el adipocito que están relacionados con el control de la glucemia en el organismo.

IL-6: Interleuquina 6. $TNF\alpha$: Factor de necrosis tumoral alfa.

En determinados estados patológicos, el tejido adiposo segrega sustancias quimioatrativas para los macrófagos que incrementan y perpetúan el proceso inflamatorio (Fain, 2006). Este proceso inflamatorio crónico, fundamentalmente en el tejido adiposo visceral, implica un riesgo de desarrollo de otras enfermedades como la RI o la diabetes tipo 2 (Murphy et al, 2005), ya que los adipocitos del tejido graso visceral presentan actividad lipolítica, incrementando los ácidos grasos libres en la circulación portal (causando RI a nivel hepático) y a nivel sistémico (RI a nivel del músculo) (Maiorana et al, 2007).

Los individuos que nacieron PEG presentan predisposición a una redistribución central de la grasa, por lo que tendrían un mayor riesgo de desarrollar RI, diabetes tipo 2, SM y ECV en etapas posteriores de la vida. En los últimos años se ha aceptado que la vida intrauterina y la etapa postnatal temprana pueden condicionar cambios en el tejido adiposo y en la reprogramación de las rutas metabólicas, posibilitando la aparición de alteraciones incluso en etapas tempranas de la vida (Meas, 2010 a). Alcanzar el catch up de crecimiento promueve la acumulación de grasa durante la recuperación nutricional, favoreciendo además, en algunas ocasiones, la aparición de RI (Dulloo et al, 2006; Levy-Marchal et al, 2006). En la figura 2 se muestran las curvas de crecimiento del tejido adiposo en niños que fueron RN PEG respecto a niños que nacieron con peso adecuado, pudiendo observarse en los primeros una alteración en el tejido adiposo (Levy-Marchal et al, 2006), además de una funcionalidad alterada (Jaquet et al, 2000). En los RN PEG, con el fin de alcanzar el catch up de crecimiento lo antes posible, se incrementan los aportes nutricionales originándose un aumento de la adiposidad. En el tiempo en el que se intenta lograr el crecimiento óptimo mediante el soporte nutricional, la masa grasa se acumula más rápidamente que la masa muscular. Este cambio que se origina en la composición corporal está relacionado con un metabolismo de la glucosa alterado (Saenger et al, 2007). Por otra parte, la RI en etapas posteriores de la vida está asociada a la condición de ser RN con CIR, debido a que si durante el crecimiento fetal se producen alteraciones, se podría ocasionar una remodelación en el desarrollo del tejido adiposo (programación fetal) y de la composición corporal (Levy-Marchal et al, 2006). También se ha observado que aunque el IMC de determinados sujetos que fueron RN PEG sea igual al de otros nacidos con peso adecuado para su EG, la masa grasa está

más elevada en los individuos que fueron PEG (Jaquet et al, 2005). Otros autores también han observado que los que fueron PEG presentan durante la adolescencia mayor grasa corporal y abdominal respecto a aquéllos nacidos sanos, apareados por edad e IMC (Rasmussen et al, 2005).

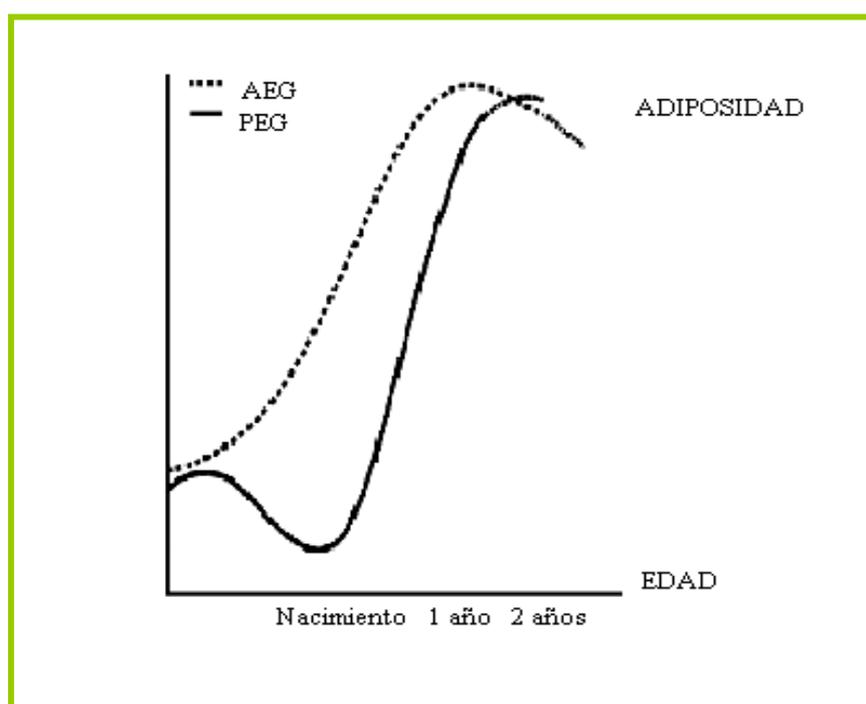


Figura 2. Representación de las curvas de crecimiento del tejido adiposo en niños nacidos pequeños para su edad gestacional (PEG; línea continua); en riesgo de presentar en etapas posteriores resistencia a insulina y con alteración del tejido adiposo, y en recién nacidos con peso adecuado a su edad gestacional (AEG). La grafica muestra el crecimiento del tejido adiposo desde la mitad de la gestación hasta los 2 años de edad. (Modificado de Levy-Marchal et al, 2006).

La energía y determinados nutrientes pueden ser potentes reactivos químicos que permitan la utilización de otros sustentos, que intervengan en la programación molecular temprana de diferentes tejidos o células, como es el caso del tejido adiposo. Las consecuencias a largo plazo del retraso en el crecimiento extrauterino aún no han sido bien estudiadas. No obstante, se conoce que los niños con períodos críticos en el crecimiento, tanto prenatal como postnatal, tienen mayor riesgo de enfermedades

(Briana et al, 2008). Se ha sugerido que la nutrición postnatal puede influir en la programación metabólica y, de hecho, parece existir una influencia de la ganancia ponderal rápida en relación con morbilidades a largo plazo (Singhal et al, 2003; Singhal et al, 2004 a). No obstante, aún no existen evidencias suficientes del efecto a largo plazo de la nutrición agresiva sobre la programación en distintos sistemas, como en la RI (Maiorana et al, 2007), o en el adipocito. Parece que la desproporción en el tejido adiposo producida para alcanzar el catch up lo antes posible, no es exclusiva sólo de individuos nacidos PEG sino que también la podemos observar en los niños con CER. Ello es debido a que la acumulación de grasa continúa también durante la recuperación del crecimiento óptimo, a pesar de que los RN reciban una dieta equilibrada baja en grasa e independientemente de los requerimientos energéticos. Por ello, esta acumulación de grasa en el momento de alcanzar el catch up puede ser debida al propio déficit nutricional.

La termogénesis está controlada por el tejido adiposo y puede funcionar como un mecanismo de retroalimentación entre el tejido adiposo, la reserva de TG y el metabolismo del músculo esquelético. En los periodos con deprivación nutricional el músculo esquelético, que es el mayor depósito de glucosa mediada por insulina, actúa como un importante conservador de energía. Un fallo en el metabolismo muscular, puede precipitar la utilización de glucosa, pudiendo originar hiperinsulinemia (Dulloo et al, 2002).

En relación con la obesidad, los adipocitos aumentan y experimentan cambios, por lo que el tejido adiposo sufre una serie de alteraciones moleculares y celulares que afectarán el metabolismo sistémico. De hecho, el tejido adiposo de sujetos obesos sintetiza y expresa una gran cantidad de factores proinflamatorios, como $TNF\alpha$, IL-6, MCP1 y PAI1t, respecto a individuos delgados, e incluso el número de macrófagos que componen dicho tejido está incrementado. Por otro lado, la adiponectina se encuentra disminuida en los pacientes que padecen obesidad (Greenberg et al, 2006). Las diferencias en la composición corporal y en la distribución de la grasa entre los niños nacidos con bajo peso y con peso elevado para su EG están influenciadas por la programación fetal. El alcanzar el catch up parece estar asociado a concentraciones elevadas de insulina plasmática, y al aumento del colesterol total y del LDLc, ya en la infancia, relacionándose con adiposidad (Kensara et al, 2005). Los RN PEG que

experimentan el alcance de crecimiento, tal y como se ha descrito anteriormente, presentan una redistribución del tejido adiposo. Los niños que fueron PEG y que experimentan el catch up entre 0-2 años, presentan un peso más elevado y tienen mayor cantidad de grasa distribuida en la zona central a los 5 años de edad, que los niños que fueron PEG y que no alcanzaron el catch up de crecimiento. De igual forma, los niños entre los 2 y 4 años que fueron RN PEG presentan una mayor acumulación de grasa total y abdominal que los de peso adecuado, incluso los que alcanzaron el catch up de crecimiento entre el momento del nacimiento y los 2 años (Ibáñez et al, 2006).

La regulación intrauterina de la adipogénesis puede ser un importante mecanismo involucrado en el origen fetal de la diabetes tipo 2 y la ECV. El estudio de la diferenciación del tejido adiposo visceral en los niños que fueron RN PEG podría ayudar a esclarecer si el origen fetal de la adipogénesis es responsable del elevado riesgo de presentar SM en la etapa adulta. Por ello, las intervenciones nutricionales cuyo objetivo sea la normalización del tejido adiposo en la infancia podrían prevenir la RI y el SM en los niños que fueron RN PEG (Maiorana et al, 2007).

Como se ha comentado anteriormente, los cambios en el tejido adiposo pueden ocurrir tanto en la etapa prenatal como en la postnatal temprana, con consecuencias metabólicas a largo plazo (Jaquet et al, 2006). Por ello, aunque no ha sido suficientemente investigado, el CER en sí mismo podría originar un incremento del tejido adiposo, ya que algunas prácticas nutricionales como la alimentación del neonato con fórmulas adaptadas con un excesivo aporte calórico, así como la influencia de determinadas condiciones ambientales, podrían provocar una rápida ganancia de peso postnatal, que contribuya al incremento de la grasa corporal y a la falta de crecimiento lineal en el RN (Olsen et al, 2009).

II.4.2) Adipoquinas

Las adipoquinas se definen como una amplia variedad de moléculas con gran actividad biológica sintetizadas exclusiva o mayoritariamente por los adipocitos, que pueden influenciar la funcionalidad así como la estructura integral de otros tejidos (Diez et al, 2003; Gil-Campos et al, 2004 b). Los adipocitos son células altamente especializadas que mantienen la homeostasis energética mediante la regulación del metabolismo

glucídico y lipídico, produciendo adipoquinas (Maiorana et al, 2007).

Los adipocitos inducen la expresión y secreción de diversas proteínas de fase aguda como la PCR, PAI1t, fibrinógeno, Complemento 3 y 4, amiloide A y ceruloplasmina; citoquinas proinflamatorias como la IL-6, IL-8 y TNF α y adipoquinas como la adiponectina, resistina, leptina y visfatina, en respuesta a señales infecciosas o inflamatorias (Steppan et al, 2001; Berg et al, 2005). En la actualidad es conocido que el adipocito maduro es la mayor fuente de leptina y adiponectina, y que los macrófagos del tejido adiposo producen casi todos los niveles circulantes de TNF α , resistina y visfatina, mientras que las interleuquinas y el HGF son sintetizados fundamentalmente por las células vasculares y del estroma (Gnacinska et al, 2009). Por ello, el tejido adiposo se considera actualmente un tejido endocrino ya que produce y secreta péptidos con diferentes efectos que ejercen su acción en tejidos distantes (efecto endocrino) en contraste con efectos locales (paracrino o autocrino) (Briana et al, 2009). Las hormonas y citocinas producidas por los adipocitos ejercen sus acciones en el sistema nervioso central, el músculo, el hígado, y el hueso entre otros tejidos (Simha et al, 2003). El tejido adiposo también participa en los procesos de regulación metabólica de energía, enfermedad vascular, aterosclerosis, SM y cáncer.

Existen citoquinas producidas por el tejido adiposo que desempeñan un papel importante en el desarrollo de la RI y la inflamación. Los niveles circulantes de PCR y de IL-6 se relacionan con el riesgo de diabetes tipo 2, y la delección genética del TNF α o de su receptor disminuye la resistencia a la insulina asociada a la obesidad (Charo et al, 2006). En la diabetes tipo 2, la funcionalidad del adipocito está alterada ya que fundamentalmente los del tejido adiposo visceral secretan una cantidad excesiva de moléculas proinflamatorias que provocan RI así como una cantidad deficiente en citoquinas que favorecen la sensibilidad a la insulina. En la actualidad se ha sugerido que la inflamación crónica, la RI, la diabetes tipo 2 y la arteriosclerosis representan diferentes estados de un mismo proceso patológico. La secreción de TNF α , IL-8 e IL-10 por parte del tejido adiposo es más elevada cuanto mayor es el IMC. El hallazgo de niveles circulantes elevados de proteínas de fase aguda y de citoquinas inflamatorias han demostrado que los individuos obesos presentan un estado inflamatorio de bajo grado, relacionando la obesidad con la RI y el SM (Maiorana et al, 2007).

En la actualidad se han identificado hasta veinte adipoquinas diferentes, que se han clasificado en tres grupos: 1) citoquinas producidas mayoritariamente por el tejido adiposo blanco, como resistina y leptina; 2) citoquinas producidas exclusivamente por el tejido adiposo blanco (en realidad se conoce que también son expresadas por otras células, como el miocardiocito, células endoteliales y músculo esquelético) (Tilg et al, 2006), como adiponectina y 3) citoquinas producidas fundamentalmente por otros tejidos y órganos, con producción simultánea por el tejido adiposo, como el $TNF\alpha$. Según su función, las adipoquinas se clasifican en dos grupos: factores que inducen RI como resistina, $TNF\alpha$, IL-6 y PAI1t, y factores de sensibilidad a insulina; como adiponectina, leptina, visfatina y omentina (Maiorana et al, 2007, Malgorzewicz et al, 2009). Los principales efectos de las adipoquinas se describen en la figura 3. Las adipoquinas con función endocrina y los receptores más importantes expresados en el tejido adiposo se muestran en la tabla 1. Las adipoquinas y marcadores inflamatorios secretados por el adipocito y células de la matriz tisular se presentan en la tabla 2.

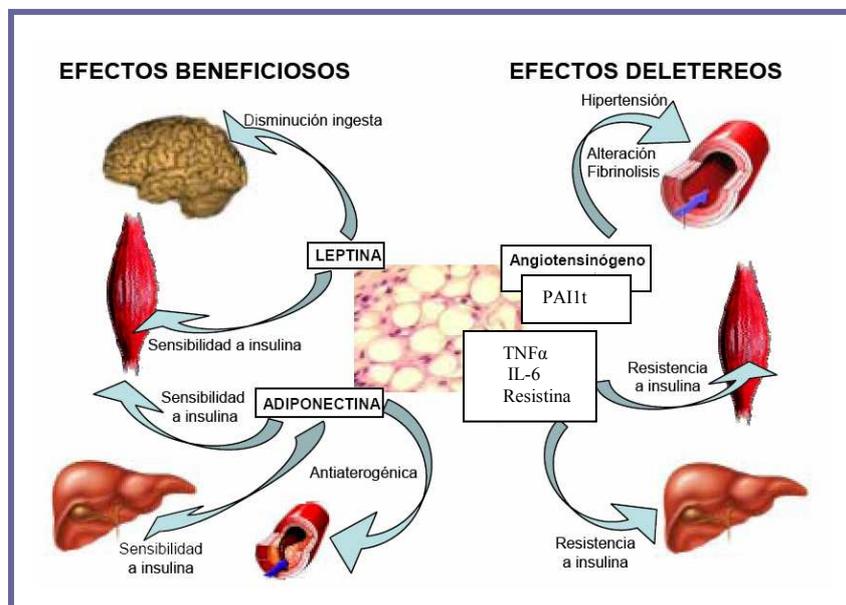


Figura 3. Principales acciones de las adipoquinas.
 IL-6: Interleuquina seis. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. $TNF\alpha$: Factor de necrosis tumoral alfa.

Tabla 1. Adipoquinas con función endocrina y receptores más importantes expresados en el tejido adiposo (Modificado de Kershaw et al, 2004).

Tipo de adipoquina	Adipoquinas:
Citoquinas y relacionadas	Leptina, TNF α , IL-6
Proteínas relacionadas con la inmunidad	MCP1
Proteínas relacionadas con el sistema fibrinolítico	PAI1t, factor tisular
Proteínas relacionadas con el sistema del complemento	Adipsina, proteína estimuladora de la acetilación, adiponectina
Lípidos y proteínas transportadoras o relacionadas con el metabolismo lipídico	LPL, CETP, ApoE, AGL
Enzimas relacionadas con el metabolismo de esteroides	Aromatasa dependiente del citocromo P450, 17 β HSD
Proteínas del sistema renina-angiotensina	Angiotensinógeno
Otras	Resistina
Tipo de receptor	Receptor de:
Receptores de hormonas endocrinas tradicionales	Insulina, glucagon, GH, TSH, gastrina, glucagon like péptido 1, angiotensina II
Receptores de hormonas nucleares	Glucocorticoides, vitamina D, hormonas tiroideas, andrógenos, estrógenos,
Receptores de citoquinas	Leptina, IL-6, TNF α
Receptores de catecolaminas	B1, β 2, β 3, α 1, α 2

AGL: Ácidos grasos libres. ApoE: Apoproteína E. CETP: Proteína transportadora de ésteres de colesterol. GH: hormona de crecimiento. IL-6: Interleuquina 6. LPL: lipoproteínlipasa. MCP1: Factor quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. 11 β HSD1: 11betahidroxisteroide deshidrogenasa tipo 1. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa. TSH: Hormona estimulante del tiroides.

Las principales causas de las complicaciones metabólicas son el exceso de tejido adiposo visceral y el incremento en la producción de adipoquinas (Gnacinska et al, 2009). Aunque los mecanismos que relacionan la prematuridad con las interacciones de las adipoquinas y el desarrollo de SM aún son desconocidos, se han evaluado estas citoquinas en los neonatos (Kyriakakou et al, 2008; Briana et al, 2008). La leptina se ha estudiado en relación con la masa grasa y la nutrición durante el periodo postnatal, y la adiponectina se ha encontrado más baja en RN pretérmino respecto a los nacidos a término (Sihanidou et al, 2007). Los niveles plasmáticos fetales de adipoquinas son

considerados como marcadores potenciales del grado de desarrollo y cantidad del tejido adiposo. Así, la EG y el crecimiento prenatal tienen un papel clave en la maduración y acumulación de este tejido, y todo ello además influye en la secreción de adipoquinas. Tanto la prematuridad como el CIR interfieren en la correcta adquisición del tejido adiposo en el feto. Todo ello podría alterar la función metabólica y la secreción endocrina limitando la adaptación metabólica de los RN prematuros y de los CIR a la vida extrauterina. Estos hallazgos podrían estar relacionados con la observación de que los niños nacidos prematuros o PEG tienen más predisposición a la obesidad y a la RI, además de alteraciones metabólicas en etapas posteriores de la vida (Martos-Moreno et al, 2009). A pesar de lo descrito por los autores anteriores, los resultados sobre las concentraciones y funciones de las adipoquinas en los RN PEG son aún contradictorios y no concluyentes (Maiorana et al, 2007).

Tabla 2. Adipoquinas y marcadores de inflamación secretados por los adipocitos y células de la matriz tisular (Tomado de Martínez, 2010).

Adipoquinas y marcadores de inflamación	Adipocitos		Células de la matriz tisular	
Adiponectina	+++		+	
Resistina	+/-		+++	
Leptina	+++		-	
IL-6	+/-		+++	
IL-8	+		+++	
HGF	+/-		+++	
NGF	+++		-	
MCP1	-		+++	
TNF α	+/-		+++	
PAI1t	++		+++	

IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. NGF: Factor de crecimiento neural. MCP1: Marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

II.4.2.1) Adiponectina

La adiponectina fue descubierta en el año 1995, y fue en 1996 cuando cuatro grupos de investigadores independientes, utilizando diferentes métodos, la dieron a conocer bajo diversos nombres: apM1 (gen transcrito primario más abundante del tejido adiposo), Acrp30 (proteína de 30 kDa del adipocito relacionada con el sistema del complemento), adipoQ y GBP28 (proteína gelatinosa de 28 kDa) (Kershaw et al, 2004). Es una hormona peptídica de 247 aminoácidos con un peso molecular de 30 kDa (Pajvani et al, 2003). Está codificada por 1 gen apM1, el que está expresado en el tejido adiposo de forma específica y muy abundante y que se sitúa en el locus 3q27. Pertenece a la superfamilia del colágeno, ya que presenta una estructura homóloga con los colágenos VIII y X, y con el factor de complemento C1a-like. El gen de la adiponectina, de 17 kb, se localiza en el locus 3q27 del cromosoma 3 y está formado por 3 exones y 2 intrones (Takahashi et al, 2000).

La molécula de adiponectina está compuesta por dos dominios; el globular y el derivado del colágeno. Una vez sintetizada, se forman trímeros que posteriormente oligomerizan para formar polímeros compuestos por 4-6 trímeros. El dominio globular presenta similitudes con el TNF α . Para tener actividad, la adiponectina tiene que estar hidroxilada y glicosilada. En la circulación sanguínea no se encuentran los monómeros, sí aparecen varias formas circulantes; la f-adiponectina o forma intacta y la g-adiponectina o globular; en forma de trímeros en el músculo y como hexámeros en el hígado. En total supone el 0,01% del total de proteínas plasmáticas (Kershaw et al, 2004; Fantuzzi et al, 2005; Brochu-Gaudreau et al, 2010). Como se ha comentado anteriormente, la adiponectina puede existir en el plasma en su forma completa o en fragmentos globulares, la primera se describe como la forma más común. La existencia de tres diferentes formas estructurales en que circula la adiponectina tiene importantes implicaciones funcionales. Las mayores concentraciones de adiponectina que se observan en las mujeres en comparación con los hombres, se deben primordialmente a los mayores niveles circulantes en éstas de la forma completa. Los estímulos metabólicos como la glucosa o la insulina dan como resultado una reducción transitoria y selectiva en la circulación de la forma completa (Tsao et al, 2003).

La adiponectina es sintetizada mayoritariamente por el tejido adiposo blanco, aunque se conoce en la actualidad que también se expresa en el tejido adiposo visceral, osteoblastos, tejido fetal, miocitos, cardiomiocitos, glándula salivar y células epiteliales; sugiriendo una acción autocrina y paracrina en varios tejidos (Brochu-Gaudreau et al, 2009). Dicha síntesis es inducida durante la diferenciación del propio adipocito (Díez et al, 2003). Se ha demostrado que las variaciones a nivel plasmático de adiponectina están influenciadas por el tejido adiposo visceral más que por el tejido adiposo subcutáneo. Su secreción se encuentra estimulada por factores como la insulina, el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) y el receptor PPAR. Por el contrario, su secreción puede ser inhibida por $TNF\alpha$, resistina, leptina, glucocorticoides y grelina (los dos últimos por inhibición de la expresión génica). La adiponectina actúa a través de 2 tipos de receptores denominados adipoR, que se hallan ampliamente distribuidos por distintos órganos, incluso en el cerebro. El AdipoR1 es muy abundante en músculo esquelético y se une mejor a la forma globular, y el receptor adipoR2 se expresa mayoritariamente en el hígado y con mayor afinidad a la forma completa (Yamauchi et al, 2002). Ambos incrementan la fosforilación de la adenosín monofosfato quinasa (AMP-quinasa), enzima que tiene un papel en el aumento de la sensibilidad a la insulina y que es también responsable de las diversas acciones de la adiponectina (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

Esta citoquina guarda una relación inversa con el IMC y con la grasa corporal. El $TNF\alpha$ inhibe su expresión y secreción y la adiponectina reduce la producción y actividad del $TNF\alpha$. Presenta una relación inversa con LDLc y TG y positiva con HDLc. También inhibe la producción de IL-6. Se le han atribuido acciones antiesteatóticas en tejidos extra-adipocitarios junto a importantes propiedades insulinosensibilizantes, antiaterogénicas y antiinflamatorias (Pyrzak et al, 2010). En los sujetos obesos, incluso en niños prepúberes, los niveles de adiponectina se encuentran disminuidos, al igual que en los individuos con diabetes tipo 2 (Kuo-Chin et al, 2004; Gil-Campos et al, 2004 a; Fantuzzi et al, 2005).

Las principales acciones de la adiponectina se indican en la figura 4, describiéndose a continuación:

- *Acciones sobre el músculo esquelético:* Aumenta la fosforilación de la tirosina del receptor de insulina y del sustrato del receptor de insulina tipo1 (IRS-1); favoreciendo de este modo la sensibilidad a insulina. Por otra parte, esta citoquina aumenta la captación de glucosa por estímulo del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT-4) y también aumenta la producción de lactato. Favorece la fosforilación de la enzima acetil-CoA-carboxilasa y con ello su inhibición lo que incrementa la β -oxidación de los ácidos grasos libres (AGL), así como la actividad del PPAR; induciéndose así aún más la oxidación de los AGL. El efecto neto de la adiponectina sobre el músculo esquelético es la disminución del contenido de TG: la adiponectina, estimula la fosforilación y la activación de la AMP-quinasa en el músculo esquelético, mientras que en el hígado este efecto sólo es ejercido por la forma globular. Además, la adiponectina induce la fosforilación de la carboxilasa de la acetil CoA, la captación de glucosa, la producción de lactato en los miocitos, y reduce la producción de moléculas que participan en la gluconeogénesis en el hígado. Estos efectos parecen los responsables del efecto agudo para disminuir los niveles de glucosa (Yamuchi et al, 2002; Gil-Campos et al, 2004 b).

- *Acciones relacionadas con la insulina:* Es conocida fundamentalmente por su papel en la regulación de sensibilidad a insulina ya que incrementa la fosforilación del receptor de insulina y estimula la sensibilidad a insulina por disminución de producción hepática de glucosa. La hipoadiponectinemia produce resistencia a insulina (hiperinsulinemia). La insulina disminuye la cantidad de ARN mensajero de adiponectina siendo dosis y tiempo dependiente. La expresión y concentración sérica está reducida en individuos obesos y en estados de resistencia a insulina. La reducción del peso corporal por restricción dietética es capaz de incrementar los niveles de ARN mensajero en el tejido adiposo visceral. Su expresión génica es menor en el tejido adiposo visceral que en el subcutáneo en individuos delgados (Lihn et al, 2004). El gen de la adiponectina está localizado en el cromosoma 3, muy cerca del locus de la susceptibilidad a diabetes, por lo que parece que esta citoquina juega un papel fundamental en el desarrollo de diabetes tipo 2; de hecho, los niveles de adiponectina se correlacionan inversamente con el desarrollo de dicha patología (Cianfarani et al, 2004). Los mecanismos por los que la adiponectina ejerce efectos sobre la sensibilidad a la insulina han sido determinados

paulatinamente e implican principalmente la activación de los receptores PPAR, la modulación del estímulo de insulina, y la activación de la AMP-quinasa (Brochu-Gaudreau et al, 2010). La adiponectina estimula la utilización de glucosa y la oxidación de ácidos grasos a través de la activación de la cinasa, lo que establece un probable nuevo paradigma en el que un producto derivado de los adipocitos participa directamente en la regulación del metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Diferentes grupos de investigadores han encontrado que la adiponectina favorece la oxidación de grasas y el transporte de glucosa mediante la activación de la AMP-quinasa y la inhibición de la carboxilasa de la acetil coenzima- A. Sugieren que esta vía puede ser un mecanismo común por la cual las adipocitocinas como la leptina y la adiponectina aumentan la sensibilidad a la insulina (Combs et al, 2004).

- *Acciones sobre el hígado:* La adiponectina regula dos enzimas clave para la gluconeogénesis (la fosfoenol-piruvato-carboxi-kinasa y la glucosa 6-fosfatasa), por lo que disminuye la glucemia (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

- *Acciones sobre el tejido adiposo:* La adiponectina es una hormona antiesteatósica; desciende la cantidad de lípidos hepáticos e incrementa el tejido adiposo subcutáneo, mejorando la RI. Regula de igual forma positivamente la acción de la lipoprotein lipasa 1 (LPL-1); disminuye los TG y LDLc y aumenta el HDLc (Maiorana et al, 2007).

- *Acciones sobre el endotelio vascular:* Posee propiedades antiaterogénicas e inhibe la adhesión de los monocitos a las células endoteliales (Maiorana et al, 2007). Diversas investigaciones han demostrado que la adiponectina ejerce efectos directos sobre el endotelio vascular como la disminución de la respuesta inflamatoria por lesión mecánica del endotelio. Se ha encontrado que las concentraciones plasmáticas de adiponectina son menores en individuos con enfermedad coronaria comparados con controles apareados por edad y grado de obesidad (Kubota et al, 2002). Sus niveles están disminuidos en los pacientes con enfermedad coronaria. De hecho, es la reducción de la adiponectina de bajo peso molecular la que se asocia a la enfermedad coronaria, mientras que los hexámeros y los trímeros de adiponectina no cambian o incluso se incrementan en la enfermedad coronaria. Esta citoquina inhibe la expresión de moléculas de adhesión como la molécula 1 de adhesión intracelular, la molécula 1 de adhesión celular vascular y la selectina E. También aumenta la síntesis de óxido nítrico

(NO) mediante la activación de la enzima óxido nítrico sintetasa. Suprime la expresión de diferentes factores de crecimiento, lo cual impide la proliferación y migración de células del músculo liso vascular e inhibe la expresión del receptor “scavenger” y consecuentemente la transformación de macrófagos en células espumosas, actuando, por tanto, como un factor protector de riesgo de ECV por sus propiedades antiinflamatorias. También puede inhibir la inducción de los macrófagos por parte del TNF α en las células del endotelio. Otro mecanismo donde interfiere es en la inhibición de la unión de la LDLc a un proteoglicano vascular, disminuyendo así la acumulación de lípidos subendoteliales, alterando la formación de la placa de ateroma. La adiponectina se puede acumular en las paredes de los vasos sanguíneos dañados, reduciendo la habilidad de los macrófagos, limitando la acumulación de lípidos, promoviendo la vasodilatación e incrementando el flujo sanguíneo. Por ello, la adiponectina presenta efectos antiateroscleróticos (Brochu-Gaudreau et al, 2009).

Los niveles de adiponectina se encuentran disminuidos en personas con HTA, independientemente de la presencia de RI. Los individuos con niveles bajos de adiponectina presentan disminuida la vasodilatación dependiente del endotelio, lo que podría ser uno de los mecanismos implicados en la HTA asociada, entre otros, a la obesidad central (Iwashima et al, 2004). Diferentes estudios han puesto en evidencia que la adiponectina produce efectos antiescleróticos directos. La adiponectina también inhibe la producción de los receptores clase A-1 de los macrófagos, originando una importante disminución de las LDLc oxidadas, lo que inhibe la formación de células espumosas (Ouchi et al, 2002). Su concentración es particularmente baja en adultos con diabetes tipo 2 o con enfermedad coronaria aterosclerótica. La concentración de adiponectina tiene una correlación directa con la sensibilidad a la insulina independiente de la grasa corporal. Teniendo en cuenta estas observaciones se ha considerado que la adiponectina tendría efectos sensibilizadores a la acción de la insulina y de protección cardiovascular (Díez et al, 2003). Concentraciones elevadas de la misma se asocian con un riesgo menor de padecer infarto agudo de miocardio (IAM), lo que podría explicarse por los efectos antiinflamatorios en la capa celular de la pared del vaso sanguíneo.

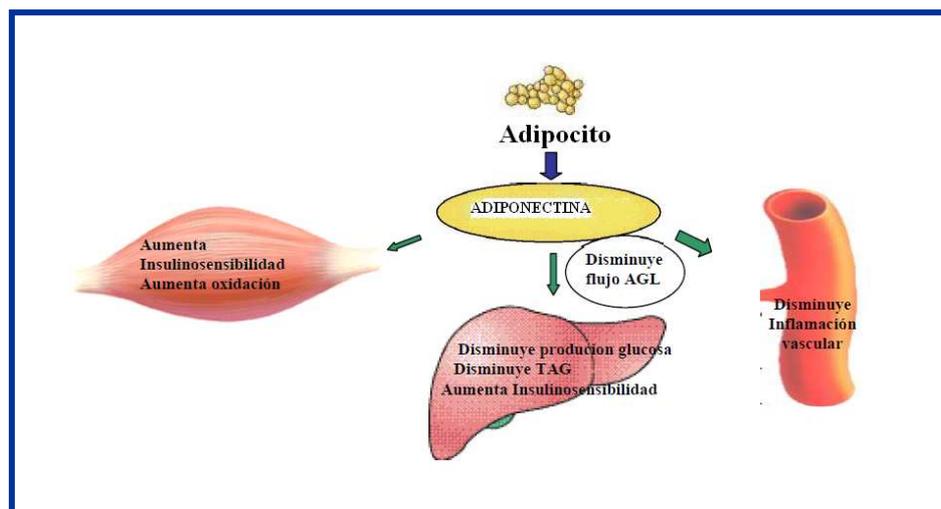


Figura 4. Representación de las principales acciones de la adipocitoquina. AGL: Ácidos grasos libres. TAG: Triglicéridos.

Como se ha comentado anteriormente, la regulación de esta adipoquina es compleja; los niveles de adiponectina se aumentan con los agonistas del PPAR y disminuyen sus niveles hormonas como insulina, catecolaminas, glucocorticoides, prolactina, hormona de crecimiento (GH), y andrógenos. La relación con la insulina es controvertida, últimamente se sostiene que es positiva exclusivamente en el tejido adiposo visceral (Hernández-Morante et al, 2008). Además, es capaz de autorregularse en situaciones de estrés metabólico. Presenta una regulación negativa recíproca con el $TNF\alpha$, disminuyendo la expresión endotelial de las moléculas de adhesión vascular y citoquinas (Sengenés et al, 2007). La IL-6 la inhibe y la adiponectina, a su vez, inhibe a la PCR. Se ha demostrado una correlación negativa con la PCR y la IL-6, marcadores de disfunción endotelial e inflamación sistémica (Gilardini et al, 2006; Sowers, 2008). Algunos estudios han encontrado que el $TNF\alpha$ ejerce una fuerte inhibición de la actividad promotora de la adiponectina (Maeda et al, 2001), lo que podría explicar la relación inversa entre la grasa visceral y los niveles circulantes de adiponectina. Esta biomolécula ha sido asociada con la obesidad central y con el incremento del tejido adiposo visceral.

En relación con el crecimiento fetal y el desarrollo intrauterino la adiponectina podría tener un efecto significativo (Bozzota et al, 2010). Se ha observado que los niveles circulantes de leptina y adiponectina en los niños PEG son menores que las concentraciones de estas citoquinas en los individuos que nacieron con peso adecuado para su EG, incluso tras corregir por IMC, género e hiperinsulinemia (Jaquet et al, 2001). Existe una relación inversa entre la RI y la adiponectina en los neonatos PEG, además de unos niveles de adiponectina muy disminuidos en estos niños, por lo que el tejido adiposo en los sujetos PEG tanto morfológica como funcionalmente podría estar alterado. Esta alteración podría estar relacionada con el CIR o establecerse tras el periodo intrauterino e interferir en las complicaciones metabólicas asociadas a corto o a largo plazo. Otros autores presentan resultados contradictorios con concentraciones plasmáticas de adiponectina en niños nacidos PEG disminuidas, iguales o aumentadas respecto a los niños nacidos con peso adecuado a su EG. Parece que dicha concentración se relaciona inversamente con el crecimiento postnatal, así como con el peso, la talla y el IMC, y directamente relacionada con el peso al nacimiento (Cianfarani et al, 2004). No obstante, la investigación en los neonatos, prematuros y prepúberes con antecedentes de CIR es muy escasa (Saito et al, 2011) y en ocasiones contradictoria. Aunque recientemente se ha publicado un artículo que valora la adiponectina en los neonatos con CER (Yoshida et al, 2011), en la revisión bibliográfica efectuada no se han encontrado trabajos que estudien esta citoquina en niños prepúberes con antecedentes de CER.

II.4.2.2) Resistina

La resistina es una proteína formada por 108 aminoácidos con un peso molecular de 12,5 kDaltons rica en residuos de cisteína (Gnacinska et al, 2009). Es secretada específicamente por los adipocitos y su expresión está inducida durante la conversión de preadipocitos a adipocitos maduros, por lo que se le atribuye una función muy importante como reguladora de la adipogénesis. Está formada por 114 aminoácidos y presenta una estructura similar a la de proteínas involucradas en los procesos inflamatorios. Pertenece a una única familia de proteínas cuyo dominio C-terminal es rico en cisteínas (moléculas resistina-like) (Kershaw et al, 2004). Fue descubierta en 2001 con el nombre de FIZZ3 por Steppan y colaboradores (Steppan et al, 2001) y

también se conoce con el nombre de ADSF (factor secretor específico de adipocitos) (Gnacinska et al, 2009). Inicialmente se identificó en ratones; como una proteína de 114 aminoácidos que se conformaba en homodímeros unidos por puentes disulfuro. Pertenece a la familia de proteínas secretoras que están implicadas en la regulación de la inflamación. Su nombre deriva de la observación de que la resistina induce RI en ratones (Fantuzzi et al, 2005), en los que es expresada fundamentalmente en el tejido adiposo, mientras que en humanos se expresa principalmente en el hígado (Szalowska et al, 2009). Además de por los adipocitos, es segregada por las células estromales del tejido adiposo, principalmente macrófagos (Gualillo et al, 2007) y fundamentalmente por células del sistema inmunitario (Maiorana et al, 2007), así como por monocitos. También se encuentra en médula ósea, células mononucleares periféricas, pulmón, placenta, células β -pancreáticas, hipotálamo, hipófisis, glándula adrenal, miocito y bazo.

La secreción de resistina está fuertemente controlada por las condiciones nutricionales y hormonales. Durante el ayuno su expresión es muy baja en el tejido adiposo, pero esta expresión aumenta sustancialmente tras la ingesta o tras la administración de insulina (Bokarewa et al, 2005). La insulina y la IGF-1 inhiben su expresión en los adipocitos; por el contrario la hiperglucemia la activa. Aún no se conocen con exactitud los mecanismos de señalización y de acción de esta citoquina, pero sí se conoce que está relacionada con los estados inflamatorios. También se ha descrito una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de resistina y la PCR. Sus principales efectos se describen a continuación:

- *Tiene efectos antagónicos a la insulina.* Reduce el transporte de glucosa dependiente de insulina al músculo esquelético y al tejido adiposo, aumenta la producción hepática de glucosa y la glucemia en ayunas, e inhibe la adipogénesis.

- *Produce descenso de los niveles séricos de cHDL.*

- *A nivel vascular* reduce la vasorrelajación y disminuye la expresión de óxido nítrico. Promueve la proliferación y activación de células musculares lisas y células endoteliales y estimula la expresión de moléculas de adhesión por lo que podemos definir la resistina como una citoquina que favorece e incrementa el riesgo de ECV (acción contraria a la adiponectina).

Para examinar la posibilidad de que la resistina podría ser una posible causa de RI en humanos, se ha estudiado la expresión del gen de la resistina en diferentes tejidos y, sorprendentemente, se ha comprobado que esta hormona se expresa en células sanguíneas mononucleares, pero sus niveles de expresión son extremadamente bajos o indetectables tanto en el tejido adiposo como en el músculo (Nogueiras et al, 2005). Parece evidente que si la resistina se expresa abundantemente en células mononucleares, esta hormona debe jugar un papel muy importante en la función monocito-macrófago, como sugiere el hecho de que el gen sea inducido durante la diferenciación y que la adquisición del fenotipo del macrófago coincida con el patrón de expresión de citoquinas tales como TNF α e IL-6, que están íntimamente involucradas en el proceso inflamatorio arteroesclerótico (Bokarewa et al, 2005).

Recientemente, se ha observado que los niveles circulantes de resistina son elevados en pacientes con ECV. En humanos, el papel de la resistina no está aún esclarecido, existiendo controversia en los trabajos publicados. La falta de una técnica de detección fiable de los niveles de resistina circulantes, no conocer cuál es su receptor y el que no se haya estudiado realmente el efecto de la administración de resistina en humanos, pueden ser las causas del desconocimiento de la función de la resistina. De todos modos, parece que esta hormona podría ejercer algún papel en la respuesta inflamatoria y no estar involucrada en la RI, dada su mayoritaria expresión en células mononucleares (Nogueiras et al, 2005). Algunos autores han observado que la resistina interviene en la modulación de la respuesta inflamatoria actuando como un agente proinflamatorio y que, en los pacientes con diabetes tipo 2 u obesidad, los niveles de resistina y su expresión en las células del tejido adiposo están aumentados, y además se correlaciona con RI hepática (Maiorana et al, 2007; Willemsen et al, 2007). Otros autores han detectado resistina en individuos obesos, no encontrando correlación ni con el peso corporal, ni con la RI, ni con el perfil lipídico (Chen et al, 2005).

La resistina favorece la inflamación subclínica y la activación endotelial al favorecer la secreción y expresión de TNF α e IL-6; favoreciendo así la RI a nivel hepático, además de la secreción (Gualillo et al, 2007) y la expresión de MCP1 (Fantuzzi et al, 2005). Otros autores defienden que el TNF α inhibe tanto la expresión del gen de la resistina como la secreción de la proteína, lo cual sugiere que la resistina

debe estar inhibida en estados asociados con elevados niveles de TNF α (Nogueiras et al, 2005). La insulina inhibe su expresión en los adipocitos (Maiorana et al, 2007; Willemsen et al, 2007). Se ha sugerido que la resistina requiere la presencia de leptina para ejercer algunas de sus funciones (Gualillo et al, 2007). Por otra parte, tanto la hiperglucemia como la IL-6 y TNF α , favorecen su liberación (Guzik et al, 2006). También se han evidenciado asociaciones positivas entre la resistina y diferentes componentes del SM como los TG, HTA, perímetro de cintura (PC), así como con el cociente ApoA-1/Apo B y una correlación negativa con los niveles de ApoA-1 y HDLc (Norata et al, 2007). En ratones sí se ha demostrado la asociación entre la resistina y la obesidad y diabetes tipo 2 pero en la actualidad, esta relación en humanos es discutida (Zou et al, 2007). En niños prepúberes con diabetes tipo 1, no se ha evidenciado ninguna relación entre esta adipoquina y la glucemia y/o insulinemia (Martos-Moreno et al, 2006).

En relación con la prematuridad, los niveles plasmáticos de resistina son controvertidos, ya que no existe consenso entre los diferentes autores (Gursoy et al, 2011). Parece los niveles de resistina están disminuidos en los neonatos PEG (Willemsen et al, 2007). Por otra parte, es conocido que los neonatos con CIR presentan una masa grasa disminuida y cambios en mecanismos metabólicos y endocrinos con predisposición a la RI y el SM en la vida adulta. Sin embargo, algunos autores no han encontrado diferencias significativas en las concentraciones de resistina entre los niños con CIR y los nacidos con un peso adecuado, ni entre resistina y las concentraciones de insulina para esta población. Esto podría indicar que esta citoquina no está involucrada directamente en la regulación de la sensibilidad a insulina y de la adipogénesis en el periodo perinatal (Briana et al, 2008) aunque estos resultados son controvertidos entre los diferentes autores. No se han realizado estudios que valoren los niveles plasmáticos de resistina en niños CER, ni en la etapa perinatal ni en posteriores de la vida. De hecho, en relación con el CIR, tampoco se han observado estudios que valoren esta adipoquina en la etapa prepuberal.

II.4.2.3) Leptina

La leptina fue la primera adipoquina que se descubrió, en 1994. Es una hormona peptídica formada por 146 aminoácidos con un peso de 16 kDa que está codificada por el gen *ob*. Es sintetizada a partir de un precursor de 167 aminoácidos, con una secuencia señal de 21 aminoácidos que se separa antes de que la leptina pase a la sangre periférica, y que es estructuralmente similar a la IL-1. Está compuesta por 4 alfa-hélices y es una proteína muy conservada ya que presenta pocas diferencias interespecies (Figura 5). Es sintetizada fundamentalmente, pero no exclusivamente, por los adipocitos maduros del tejido adiposo blanco, encontrando más concentración de leptina en el tejido subcutáneo que en el visceral, y en menor medida en los miocardiocitos, hepatocitos, placenta, mucosa gástrica, epitelio mamario, músculo esquelético, hipotálamo, hipófisis y por las células endoteliales (Frühbeck et al, 2006). Nuevas evidencias demuestran que el músculo esquelético y posiblemente el fundus gástrico son lugares adicionales de síntesis; también puede ser secretada por células inmunocompetentes (Fantuzzi et al, 2005; Gualillo et al, 2007). Su síntesis varía en función del género, edad, factores hormonales y, fundamentalmente, en función del porcentaje de grasa corporal. Los niveles sanguíneos de leptina se relacionan positivamente con la cantidad de tejido adiposo, por lo que es considerada como un marcador de la cantidad de grasa corporal total (Fantuzzi et al, 2005; Antua-Puente et al, 2008), y del estado nutricional. La leptina presenta una secreción pulsátil incrementada tras la ingesta y disminuida en el ayuno. Su síntesis es estimulada por insulina, glucocorticoides, endotelina, hipoxia y citoquinas como TNF α e IL-1. Es inhibida por la GH, catecolaminas y el ejercicio exhaustivo y disminuyen su expresión la testosterona y las hormonas tiroideas. La estimulación adrenérgica, a través del adenosín monofosfato cíclico (AMPc), y la somatostatina también inhiben su síntesis (Fantuzzi et al, 2000). Su concentración también depende del estado inflamatorio y la hipertensión, independientemente del IMC (Fantuzzi et al, 2000). Su concentración sérica es 2-3 veces mayor en mujeres que en hombres, incluso tras ajustar por el IMC (Tilg et al, 2006).

Sus receptores son denominados Ob R, pertenecen a la familia de los receptores de citoquinas y se hallan ampliamente distribuidos por el organismo humano, encontrándose en diversos órganos como el corazón, pulmón, hígado, riñón y páncreas y en células como los leucocitos, plaquetas, células endoteliales y musculares lisas

vasculares. Sus efectos son mediados por el hipotálamo, aunque también posee una acción directa sobre el músculo y el páncreas. La unión de la leptina al receptor induce la dimerización del mismo. Existen varias isoformas del receptor de leptina: los receptores más largos (OB-Rb) predominan en hipotálamo y sus funciones consisten en mediar las acciones de la leptina a nivel del SNC. Presentan dominios extracelular, transmembranal e intracelular, lo que indica una posible función de transducción de la señal al interior de la célula. Por otra parte, las formas cortas (OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd y OB-Rf) se localizan además de en el hipotálamo, en tejidos como el cerebro, riñones, pulmones, tejido adiposo, hígado, páncreas, endotelio y corazón. Carecen de dominio intracelular y sus funciones se han relacionado con el transporte, depuración de la leptina y con la regulación del sistema inmune. El receptor más pequeño, la isoforma OB-Re, carece de dominio intracelular. Parece probable que este receptor, al ser una forma soluble, esté relacionado con el transporte de leptina en plasma y a través de la barrera hematoencefálica (Fantuzzi et al, 2005; Gualillo et al, 2007). Tanto la leptina como su receptor presentan similitudes estructurales y funcionales con la familia de la IL-6.

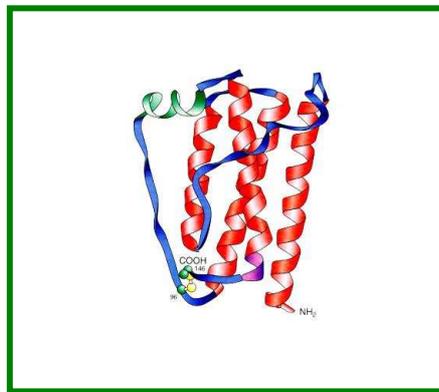


Figura 5. Estructura molecular de la leptina.

La leptina aumenta la actividad de la enzima fosfatidilinositol-3-kinasa, desencadenando una cascada de señales que parecen ser importantes en la modulación de los efectos sobre la insulina. Se ha propuesto que también como mecanismo directo la activación de la vía de la proteína-kinasa A. Las principales acciones de la leptina son:

- *El control del apetito y de la ingesta* es su función principal, promoviendo el gasto energético y disminuyendo el consumo alimentario mediante control neuronal, del metabolismo de la glucosa, la lipólisis y la termogénesis (Fantuzzi et al, 2005; Maiorana et al, 2007). Para el control de la ingesta actúa en el núcleo ventro medial hipotalámico donde se encuentra el núcleo de la saciedad. Asimismo, se encarga de incrementar el metabolismo energético mediante la termogénesis evitando un aumento excesivo del porcentaje graso. En el estado de leptino-deficiencia, la activación disminuida del receptor en el hipotálamo, causa una creciente producción del neuropéptido Y, que es probablemente responsable de la hiperfagia, la obesidad y los cambios neuroendocrinos de este estado. La regulación de la ingesta y del gasto energético es lenta, controlando la estabilidad de los depósitos grasos. Su activación inhibe la ingesta (pérdida de apetito) y activa el gasto energético (pérdida de grasa). Estimula la termogénesis en el tejido adiposo y la lipólisis en el adipocito, así como la liberación de ácidos grasos a tejidos periféricos, músculo e hígado.

- *Interviene en el control de la tensión arterial.* Contribuye a la vasculopatía a través de la regulación central sobre el sistema nervioso simpático (SNS) (Berg et al, 2005), así como la regulación negativa sobre el NO endotelial y la natriuresis, presentando una correlación positiva con la HTA (Gualillo et al, 2007).

- *Disminuye la lipogénesis en hígado y tejido graso* activando las enzimas acetil-CoA oxidasa y la citrato sintetasa, e inhibiendo la acetil-CoA carboxilasa, aumentando la β oxidación (con lo que dirige a los AGL a su catabolismo por el ciclo de Krebs y disminuye su concentración intracelular). Sobre el metabolismo de los lípidos, estimula la lipólisis en el adipocito (Blanco Quirós et al, 2000).

- *En el metabolismo hidrocarbonado:* estimula la utilización de glucosa por el músculo y promueve su transporte a través del intestino delgado. Favorece la sensibilidad a insulina; ya que inhibe la liberación de insulina actuando de manera directa en las células β pancreáticas y aumenta la captación de glucosa por los tejidos. (Antua-Puente et al, 2008).

- *Favorece la inmunocompetencia, la actividad fagocitaria y la producción de citoquinas proinflamatorias,* así como la proliferación de células hematopoyéticas y la

activación de células T. Favorece la quimiotaxis de los neutrófilos y la proliferación y diferenciación de los monocitos a través de secreción de TNF α , IL-6 y MCP1 por parte de los mismos (Guzik et al, 2006). Posee funciones antiapoptóticas de diferentes células como los linfocitos T, las células leucémicas y los progenitores hematopoyéticos linfocitario y megacariocitarios favoreciendo la diferenciación y proliferación de las mismas (Chudek et al, 2006). Ejerce una regulación positiva de la respuesta inflamatoria inmune al incrementar la capacidad fagocitaria de los monocitos y macrófagos. Además, favorece la secreción de citoquinas proinflamatorias como el TNF α , IL-6, IL-12 y PCR; se correlaciona positivamente con el PAI1t (Fantuzzi et al, 2000). La deficiencia de leptina está asociada con un incremento de susceptibilidad a la toxicidad a estímulos proinflamatorios, como endotoxinas y TNF α por lo que los efectos son proinflamatorios y de protección contra infecciones (Fantuzzi et al, 2005).

- La leptina *es proaterogénica* propiciando la proliferación y migración de las células musculares lisas, la trombosis arterial, la angiogénesis, la hiperplasia de la neointima vascular y la inflamación vascular a través del EO, MCP1 y la endotelina (produciendo vasoconstricción) (Fantuzzi et al, 2005; Maiorana et al, 2007; Kralisch et al, 2008).

- En relación con el *aparato reproductor*, informa de la cantidad de grasa para el inicio de la pubertad femenina y estimula la función gonadal para la reproducción; además actúa como un factor de crecimiento o señal del estado nutritivo y energético entre la madre y el feto, asegurando un adecuado aporte nutritivo a éste (Fantuzzi et al, 2005).

En situaciones de demanda o deficiencia energética, como es el caso de neonatos con pérdida ponderal o malnutridos, se detectan niveles elevados del transportador soluble de la leptina que saturan a la leptina, encontrándose ésta disminuida, lo que favorece el menor gasto energético y un aumento del apetito para contrarrestar dichas situaciones nutricionalmente desfavorables (Körner et al, 2007). En la vida intrauterina, la concentración circulante de leptina se relaciona con el desarrollo del tejido adiposo fetal y posteriormente con el IMC del niño. Aunque se ha demostrado que existe relación entre los niveles de leptina en la sangre de cordón en los niños con CIR y el peso al nacimiento del RN, su papel en el crecimiento fetal aún es desconocido (Fantuzzi et al, 2005; Maiorana et al, 2007; Bozzola et al, 2010). También se ha visto que existe una clara relación entre las concentraciones fetales de leptina y la masa grasa

fetal, así como en los niveles de la misma en RN respecto a la EG y al peso al nacimiento. Incluso en los niños con CIR, se encuentra elevada, lo que sugiere una asociación con el estrés fetal (Cetin et al, 2000). Aunque en relación con la etapa neonatal de los CIR los resultados son controvertidos, en un meta-análisis realizado en RN, las concentraciones de leptina fueron significativamente menores en los CIR que en los nacidos con peso adecuado a su EG, y esta parece ser la teoría más aceptada (Ren et al, 2010). Por otro lado, en la etapa prepuberal de los niños CIR los resultados son contradictorios y dependen en gran medida de si se alcanzó o no el catch up de crecimiento (Ibañez et al, 2011), aunque parece que no existen diferencias respecto a los controles (Challas et al, 2009). En la actualidad se desconoce la influencia de la condición de ser CER en las concentraciones plasmáticas de leptina y sus variaciones, ya que no se ha encontrado en la literatura ningún trabajo que estudie los niveles de esta adipocina en estos niños, ni en la etapa neonatal ni en la prepuberal.

II.5) LA INFLAMACIÓN Y SUS MARCADORES

II.5.1) La inflamación: generalidades

La inflamación es un proceso fisiológico generado en respuesta a una agresión o infección. Si ésta no se resuelve adecuadamente, continúa evolucionando a un estado inflamatorio crónico, de bajo grado, que desencadenará diferentes patologías en la etapas posteriores como la aterosclerosis, diabetes tipos 1 y 2, diversos tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas y autoinmunes (Wärnberg et al, 2008). El adipocito, como se ha comentado anteriormente, sintetiza gran cantidad de las proteínas que intervienen en el proceso inflamatorio. Las adipocinas, descritas en el apartado anterior, tienen también un papel en la inflamación (Gnacinska et al, 2009), y el TNF α , HGF, IL-6, IL-8, MCP1 y PAI1t son considerados adipocitoquinas al ser sintetizadas por el tejido adiposo, con acción sobre la inflamación.

El tejido adiposo además de adipocitos contiene fibroblastos, preadipocitos y macrófagos; que tienen un papel fundamental en el proceso inflamatorio. En la actualidad también se conoce que los adipocitos en sí mismos presentan propiedades intrínsecas inflamatorias. Al igual que los macrófagos, los adipocitos son extremadamente sensibles a enfermedades infecciosas y producen señales mediadas por citoquinas inflamatorias. En respuesta a estímulos de infección e inflamación, los adipocitos inducen la expresión y secreción de reactantes de fase aguda y citoquinas, así como de moduladores de inflamación (Berg et al, 2005).

El descubrimiento en individuos obesos de la producción de estas proteínas por parte del tejido adiposo fue la primera evidencia de la conexión directa entre obesidad e inflamación sistémica. El aumento del tejido adiposo contribuye directamente al incremento de la inflamación sistémica, es decir, el aumento del IMC se relaciona positivamente con el aumento de marcadores inflamatorios circulantes como PCR, IL-6 y PAI1t (Berg et al, 2005). De hecho, la concentración de la mayoría de las citoquinas proinflamatorias (producidas por macrófagos y adipocitos) aumentan a la vez que lo hace el IMC, por ello, la obesidad puede estar caracterizada por un estado de inflamación crónica, es decir, de inflamación sistémica de bajo grado (Gnacinska et al, 2009). Los sujetos obesos con un exceso de tejido adiposo visceral presentan niveles

elevados de PCR, IL-6 y TNF α , así como niveles disminuidos de adiponectina (Despres et al, 2006), respecto a individuos con normopeso o incluso delgados. Un aumento del tejido adiposo puede alterar el metabolismo y ocasionar un perfil proinflamatorio que puede contribuir a la RI y alterar la homeostasis de la glucosa. En los sujetos obesos, la presencia de inflamación sistémica se encuentra unida a un mayor riesgo de hipertensión, dislipemia, ECV y de diabetes tipo 2, especialmente en los individuos que presentan un mayor incremento de grasa visceral. Por ello, las adipoquinas, citoquinas y otros factores producidos y liberados por el tejido adiposo blanco son responsables del estado inflamatorio crónico en la obesidad visceral (Fantuzzi et al, 2005). Los biomarcadores de inflamación TNF α , IL-6 y PCR no sólo están incrementados en individuos obesos, sino también en los sujetos con RI; estos biomarcadores predicen el desarrollo de diabetes tipo 2 y de ECV (Tilg et al, 2006). La inflamación se ha relacionado con el IAM y se ha propuesto que la inflamación sistémica puede causar aterosclerosis, en lugar de ser resultado de la misma (Berg et al, 2005).

Por otra parte, la adiponectina es considerada una adipoquina antiinflamatoria. En los macrófagos induce la expresión de citoquinas antiinflamatorias como IL-10 y la IL-1, y disminuye la producción de dos de las moléculas proinflamatorias (IL-6 y TNF α). Reduce la actividad fagocítica de los macrófagos. No obstante, la actividad de la adiponectina sobre la inflamación varía en función de la isoforma, del tipo de célula diana y de su estado. La adiponectina de bajo peso molecular aumenta la liberación de IL-10 mientras que la isoforma de alto peso molecular no tiene efectos sobre esta interleuquina. Esta última isoforma induce la secreción de IL-6 por los monocitos. En la obesidad, los niveles de TNF α están aumentados, y por el contrario, los de adiponectina disminuidos, posiblemente debido a que el TNF α inhibe la transcripción de adiponectina. La forma globular de la adiponectina incrementa la secreción de IL-6 y de TNF α . La exposición prolongada a grandes concentraciones de adiponectina inhibe la secreción de estas citoquinas y también de macrófagos. Todo ello sugiere que la adiponectina no es proinflamatoria *per se*, sino que sus niveles circulantes permanentemente elevados pueden hacer a los macrófagos resistentes a los estímulos proinflamatorios (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

Las quimioquinas; citoquinas quimiotácticas, (“chemokines”) son pequeñas proteínas que dirigen el movimiento de los leucocitos circulatorios a los lugares de

inflamación o de daño. Juegan un papel crucial en el movimiento de las células mononucleares a través del organismo, en el envejecimiento, y en la patogénesis de una gran variedad de patologías. También contribuyen en la respuesta inmunitaria del organismo. Existen aproximadamente 50 quimioquinas humanas que se agrupan en cuatro familias en función de su estructura y función. Se nombran por nomenclatura sistemática. La mayor de ellas, es la familia “CC”. Su función se basa en atraer a las células mononucleares a los lugares de inflamación crónica. La más característica de ellas es la CCL2 o MCP1. La segunda familia son los “CXC”; la IL-8=CXCL8, es el prototipo. La tercera familia es “CX₃C”, y la cuarta “XCL1”. Las quimioquinas interfieren con las células mediante la activación de los receptores transmembrana de superficie (Charo et al, 2006).

En la revisión bibliográfica efectuada no se han encontrado estudios sobre el perfil de biomarcadores de inflamación en RN con CER ni en niños prepuberales con antecedentes de CER. Sin embargo, si se ha descrito que los cambios metabólicos e inflamatorios podrían estar influenciados por la propia prematuridad, aunque parecen más frecuentes en los niños con escaso crecimiento, como en los CIR (Clark et al, 2003 a). En estos niños se han descrito alteraciones en el adipocito que estarían relacionadas con un mayor componente inflamatorio (Maiorana et al, 2007; Amarilyo et al, 2011) y esta misma condición podría suponerse en la vida postnatal temprana (Meas, 2010 a) para los niños CER.

II.5.2) Biomarcadores de inflamación

II.5.2.1) Proteína C reactiva (PCR)

La PCR es un reactante de fase aguda positivo, de estructura pentamérica y un peso molecular de 120 kDa. Es considerada como la proteína de fase aguda más importante y un marcador de inflamación relacionado con la ECV y con la aterosclerosis (Tilg et al, 2008). Es uno de los mejores ejemplos de marcador de inflamación sistémica (Berg et al, 2005); incluso puede incrementar hasta 1000 veces sus niveles en respuesta a la inflamación (Wu et al, 2006), encontrándose concentraciones elevadas también en pacientes con SM y RI (Gnacinska et al, 2009), y con obesidad y diabetes tipo 2 (Trayhurn et al, 2004).

Esta proteína se sintetiza fundamentalmente en el hígado y se expresa de forma escasa en el tejido adiposo blanco, lo que sugiere que el tejido adiposo no contribuye de forma importante en sus niveles sanguíneos circulantes (Trayhurn et al, 2004). Es secretado por los hepatocitos en respuesta a la IL-6, el TNF α y leptina, siendo inhibida por la adiponectina. Por otra parte, la PCR interacciona con la leptina, bloqueándola e incrementando la resistencia a la misma (Chen et al, 2006). Las concentraciones plasmáticas de PCR se elevan con el IMC (Trayhurn et al, 2004) y se relacionan positivamente con los TG, la TA y la glucosa, todos ellos componentes del SM (Gnacinska et al, 2009). También correlaciona positivamente con estados de RI (Tilg et al, 2008).

La IL-6, secretada por el adipocito, es la mayor citoquina reguladora de la producción hepática de PCR (Trayhurn et al, 2004). La primera asociación entre PCR y riesgo de ECV se hizo en 1945, cuando se observaron niveles elevados de ésta tras el IAM. Esta molécula se relaciona positivamente con niveles elevados de IL-6, lo que se ha asociado con un mayor riesgo de fallo cardiaco congestivo en pacientes ancianos antes de evidenciar la ECV. La relación existente entre la PCR y el riesgo de ECV es lineal, y en individuos obesos, dicha concentración también está aumentada. Además, la PCR induce la expresión de otras adipocitoquinas inflamatorias como la IL-1 β , PAI1t, TNF α y MCP1 (Berg et al, 2005).

De igual modo, la PCR se encuentra elevada en la obesidad infantil y se ha asociado con todos los componentes del SM, presentando además un papel pronóstico (Dalmau et al, 2007). El incremento de PCR se ha asociado con disfunción endotelial debido a que causa la inducción de moléculas de adhesión como la forma soluble de la molécula de adhesión intercelular de carácter inmunoglobulina tipo 1 (sICAM-1) en niños y adolescentes obesos (Syrenicz et al, 2006), por lo que también contribuye al control de la TA.

Aunque en relación con el CER no existan trabajos que valoren la concentración de PCR, si existen en el CIR. De hecho, Amarilyo y colaboradores (2011) observaron elevaciones significativas de la PCR en la sangre de cordón de los RN CIR. Por el contrario, otros autores no encontraron diferencias en los niveles de PCR en los

neonatos CIR y los controles, lo que indicaría que los CIR, por tener menor cantidad de masa grasa total, tendrían un mayor estado inflamatorio (Boutsikou et al, 2010). Los jóvenes sanos con antecedentes de CIR presentan elevación en sus niveles, lo que podría relacionar el retraso en el crecimiento con la inflamación sistémica, así como con un mayor riesgo de ECV (Bhuiyan et al, 2011).

II.5.2.2) Interleuquinas (IL)

Las IL forman parte de la familia de las citoquinas. Son péptidos señalizadores, mediadores químicos, que se producen como respuesta a la agresión de un tejido y que causan respuesta inflamatoria.

- Interleuquina 1 beta (IL-1 β)

La IL-1 tiene dos isoformas mayores biológicamente activas; α y β . La IL-1 β es secretada principalmente por linfocitos, macrófagos, células endoteliales y células del músculo liso vascular. A esta citoquina se le atribuyen propiedades proinflamatorias. Media la respuesta inflamatoria a través de la activación de monocitos y la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales, induciendo la secreción de otras citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento, y estimula la proliferación del músculo liso, proceso que sucede en la pared vascular durante la aterogénesis. Junto con la IL-6 predice el riesgo de diabetes 2, y reduce la expresión a nivel transcripcional del sustrato del IRS-1. Junto con otras citoquinas participa en el desarrollo de RI alterando la señalización de la insulina y su acción (Tilg et al, 2008). En los RN pretérmino existe controversia, ya que algunos autores defienden que sus niveles están aumentados (Skogstrand et al, 2008), mientras que otros opinan que sus niveles se encuentran disminuidos (Matoba et al, 2009). En los niños prepuberales obesos se han observado mayores niveles plasmáticos de esta IL proinflamatoria que en los controles sanos (Aygün et al, 2005).

- Interleuquina 6 (IL-6)

La IL-6 es una proteína de 185 aminoácidos que se une entre sí formando un paquete de 4 α hélices, con un peso molecular de 21-28 kDa en función de que se encuentre en un

estado de glicosilación o fosforilación. El receptor de esta citoquina pertenece al grupo conocido como JAKs, a la clase 1 (Janus kinases) (Antua-Puente, 2008) y es homólogo al receptor de la leptina (Kershaw et al, 2004). Es expresada por los adipocitos y, aunque tiene efectos locales, es secretada a la circulación sistémica. La expresión de IL-6 varía en función de la zona donde se encuentre el tejido adiposo que la produce, siendo más del 90 % de esta expresión, de células diferentes al adipocito (Greenberg et al, 2006) como fibroblastos, células endoteliales y monocitos. Su producción en el tejido adiposo abdominal es al menos 3 veces mayor que la del tejido adiposo subcutáneo contribuyendo a la RI a nivel hepático (Tilg et al, 2008).

Es una citoquina de acciones pleiotrópicas: es tanto pro como antiinflamatoria, favorece la lipólisis y es insulinosensibilizante o favorecedora de la RI, en función del tejido diana (Hoene et al, 2008). Se le considera una citoquina proinflamatoria por ejercer una regulación positiva sobre otros reactantes de fase aguda hepáticos como la PCR y por favorecer la síntesis de citoquinas proinflamatorias como la MCP1. Regula la respuesta humoral y celular durante el proceso inflamatorio y el daño tisular. Los niveles circulantes de esta citoquina estimulan el eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal, lo que se relaciona con obesidad central, HTA, así como con RI (Berg et al, 2005). Actúa como un inhibidor de la adipogénesis e inhibe la secreción de adiponectina (Gualillo et al, 2007; Gnacinska et al, 2009). El TNF α es capaz de aumentar su producción hasta 60 veces. En estados inflamatorios crónicos de bajo grado, su incremento es moderado (Hoene et al, 2008). La IL-6 contribuye a la aterosclerosis, no sólo por la estimulación del SNS, sino por el posible aumento del colágeno de la pared vascular, inducción de la síntesis de fibrinógeno, incremento de actividad plaquetaria y aumento de la viscosidad sanguínea, correlacionándose con el espesor de las capas íntima-media de la arteria carótida (IMT) (Goyenchea et al, 2005). Además, favorece la agregación plaquetaria, la producción de PAI1t y de MCP1 y la proliferación de las células del músculo liso (Chudek et al, 2006).

La IL-6 fue la primera citoquina que se descubrió con función predictora o marcador patogénico de RI y de ECV. Por ello, esta IL tiene un papel fundamental en la obesidad y en la RI, además de intervenir en la homeostasis energética (Kershaw et al, 2004) estando elevada su expresión en el tejido adiposo blanco, y aumentando sus niveles en sangre cuando están presentes estas patologías (Trayhurn et al, 2004). De

hecho, la elevación crónica de la IL-6 en plasma y el aumento del riesgo de ECV en relación a un estado inflamatorio podrían causar RI (Antua-Puente, 2008). Su expresión en tejido adiposo y su concentración sérica se correlacionan positivamente con la obesidad, la RI y con el IMC (Gnacinska et al, 2009), además de con las concentraciones de insulina. Tanto su expresión como sus niveles circulantes disminuyen con la pérdida de peso (Kershaw et al, 2004). Una de sus principales funciones es la de controlar la producción hepática de proteínas inflamatorias, como la PCR. Existe una relación positiva entre los niveles de IL-6 en el tejido adiposo y la concentración circulante de PCR. Además, la producción de esta citoquina por el tejido intraabdominal puede contribuir a la obesidad visceral y a su relación con la hipertrigliceridemia, estimulando a su vez la secreción hepática de TG (Antua-Puente, 2008). También aumenta la lipólisis y la oxidación de AG (Greenberg et al, 2006).

En relación con el CIR existen muy pocos trabajos que evalúen la IL-6, aunque si parece que está relacionada con el crecimiento fetal. Algunos autores observaron las concentraciones de esta interleuquina (IL) disminuidas (Martos-Moreno et al, 2008) mientras que otros elevadas (Amarilyo et al, 2011; Street et al, 2011). Aunque no existen trabajos que valoren esta IL en niños con antecedentes de prematuridad y CER, algunos autores defienden que no existe asociación entre los niveles de IL-6 y la prematuridad (Matoba et al, 2009).

- Interleuquina 8 (IL-8)

Es una citoquina proinflamatoria expresada y secretada por el tejido adiposo, fundamentalmente por las células estromales del visceral, y células espumosas. Atrae polimorfonucleares a los lugares de inflamación aguda, y activa a monocitos y los recluta a los lugares de inflamación vascular (Marcos-Gómez et al, 2008). Es un agonista de los monocitos que está presente en las placas ricas en macrófagos (Charo et al, 2004). Está relacionada con la aparición y desarrollo de lesiones ateroscleróticas tempranas, e inhibe la acción de la insulina en el tejido adiposo, favoreciendo RI (Kobashi et al, 2009). Su liberación es estimulada por la IL-1 β y el TNF α (Trayhurn et al, 2004), y la PCR, insulina y la IL-8 por sí misma, inducen su expresión (Kobashi et al, 2009). Sus concentraciones se encuentran aumentadas en la obesidad (Trayhurn et al, 2004). En la revisión bibliográfica efectuada no se han encontrado trabajos que estudien

esta IL-8 en los niños CIR y CER tanto en la etapa neonatal como en la prepuberal. Por el contrario, en los neonatos prematuros se han observado niveles significativamente más elevados de IL-8 que en los nacidos a término y que en los adultos (Narendran et al, 2010).

II.5.2.3) Factores de crecimiento

- Factor de crecimiento hepatocitario (HGF)

El HGF es una adipoquina descubierta en 1984. El HGF es sintetizado y secretado por las células mesenquimales adipocitarias y expresado por células apoptóticas, iniciando la quimioatracción de las células madre que se encargarían de la regeneración tisular (Vogel et al 2010). Posee funciones mitogénicas, angiogénicas, antiapoptóticas y antifibrosantes no sólo del hígado sino de la mayoría de los órganos, interviniendo durante el período embrionario, fundamentalmente en la organogénesis. Esta glicoproteína es secretada por las células embrionarias en su forma inactiva, como una cadena única de 92 KDa. La forma activa es un heterodímero compuesto por una cadena pesada α de 55-65 KDa y por una cadena ligera β de 32-36 KDa que se origina por rotura proteolítica a partir del precursor. Los efectos biológicos del HGF dependen de la gran afinidad por su receptor, que se expresa tanto en células epiteliales como en el endotelio vascular (Somerset et al, 1998). El TNF α incrementa su liberación en el tejido adiposo subcutáneo (Bell et al, 2006). En la actualidad es desconocido su papel en las patologías relacionadas con las alteraciones del crecimiento, como es el caso del CIR y el CER, ya que es considerado como un biomarcador proinflamatorio. Sin embargo, en los neonatos prematuros (Nakatsukasa et al, 2008) y en los fetos con CIR (Baykal et al, 2005) se han descrito menores concentraciones del mismo, lo que constata su papel en la organogénesis.

- Factor de crecimiento neural (NGF)

El NGF es una proteína sintetizada y secretada por los adipocitos maduros tanto del tejido adiposo visceral como subcutáneo, fundamentalmente por los depósitos del tejido adiposo blanco. Modula el estado inflamatorio e inmune además de ser esencial para el

desarrollo y mantenimiento del SNS ya que deriva de la neurotropina, principal regulador de la lipólisis, proliferación celular y producción de leptina. Es un complejo proteico pentamérico de 130 kDa, con una subunidad β responsable de la actividad biológica. Se han identificado dos receptores, el p75 y el takA, siendo la actividad neurotrópica mediada por el último (Ryan et al 2008). Presenta un importante papel en el desarrollo, diferenciación y mantenimiento de las conexiones cerebelosas (Quartu et al, 2003). Este factor de crecimiento está asociado a la obesidad. El TNF α estimula su efecto, su expresión genética y su liberación (Trayhurn et al, 2004). En relación con los neonatos con CIR (Malamitsi-Puchner et al, 2006), los niveles de NGF eran menores que en los controles nacidos con peso adecuado a su EG. Por el contrario, no se dispone de ningún trabajo que lo estudie en los neonatos y en los niños prepuberales con antecedentes de CER.

II.5.2.4) Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1 (MCP1)

Los macrófagos poseen una actividad dual, tanto antiinflamatoria, fagocitando los detritus adipocitarios, y proinflamatoria, segregando diversas citoquinas y estimulando la angiogénesis. Existen dos tipos de macrófagos: los M-2 que son los residentes habituales del tejido adiposo, segregando citoquinas antiinflamatorias, y los M-1 que son los que se reclutan tras el incremento del tejido adipocitario segregando citoquinas proinflamatorias (Surmi et al, 2008). Los macrófagos participan precozmente en la aterosclerosis, fundamentalmente tras su conversión en células espumosas.

El MCP1 es sintetizado fundamentalmente por macrófagos y células endoteliales (Kanda et al, 2006). Reacciona ante los estímulos de inflamación aunque su expresión es incierta, estando implicados tanto los adipocitos como las células estroma-vasculares (Kershaw et al, 2004). Sus principales funciones son proateroescleróticas, controla la función de los monocitos a través de su receptor, estando también implicado en la hipertensión y en los cambios inflamatorios de la pared arterial, ya que recluta los monocitos y macrófagos a las zonas de trauma, de infección y a las expuestas a toxinas, e isquémicas. Está presente en las placas de ateroma ricas en macrófagos. Presenta una acción causal en el reclutamiento de los leucocitos en la íntima. De hecho, tanto esta molécula como su receptor se han convertido en importantes dianas terapéuticas para la

prevención de la aterogénesis, ya que se ha sugerido que el MCP1 es un marcador temprano y puede ser útil para predecir el riesgo de aterogénesis (Wu et al, 2006). Este marcador interviene en toda aquella patología que contenga un componente inflamatorio prominente (Charo et al, 2006), atrayendo también a eosinófilos y basófilos, e induciendo la degranulación de los mismos, interviniendo en las reacciones alérgicas. Es un potente agonista de los monocitos, células dendríticas, células de memoria T y basófilos.

En la obesidad, el tejido adiposo presenta una expresión incrementada de MCP1 (Tilg et al, 2008, Guilherme et al, 2008) al haber una infiltración de macrófagos y monocitos que producen citoquinas (Antua-Puente et al, 2008). Estos macrófagos activados secretan factores proinflamatorios que contribuyen a la RI y a la aparición de la inflamación sistémica de bajo grado característica de la obesidad, como el $TNF\alpha$, IL-6 y MCP1 (Kershaw et al, 2004). La leptina y adiponectina favorecen la infiltración macrofágica en el tejido adiposo (Van Gaal et al, 2006); la leptina podría activar la expresión del MCP1 (Antua-Puente et al, 2008). De hecho, el IMC se correlaciona positivamente con el número de macrófagos en el tejido adiposo (Antua-Puente, 2008), y el MCP1 con el SM, RI, diabetes tipo 2, HTA, obesidad, índice cintura-cadera e hipertrigliceridemia en adultos (Kanda et al, 2006). Los macrófagos maduros a su vez segregan $TNF\alpha$, IL-6, IL-1 β y MCP1, favoreciendo la excreción hepática de PCR, contribuyendo también al proceso inflamatorio crónico subclínico (Marcos-Gómez et al, 2008).

Por otra parte, el MCP1 presenta un importante papel en la enfermedad isquémica, en el síndrome coronario agudo y sus concentraciones plasmáticas se encuentran incrementadas en el IAM. Esta elevación en sus niveles indica que en determinadas patologías se produce un reclutamiento y una activación de macrófagos y monocitos continuados (Charo et al, 2004). En la prematuridad han observado niveles significativamente más elevados de este marcador (Narendran et al, 2010), al igual que en los neonatos con CIR (Briana et al, 2007). Sin embargo en el CER aún no se ha estudiado su función ni sus concentraciones plasmáticas.

II.5.2.5) Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)

El TNF α fue la primera citoquina que se descubrió que era sintetizada por el tejido adiposo blanco, concretamente por las células estromales (Trayhurn et al, 2004). Es una proteína transmembrana de 26 kDa que se transforma en otra de 17 kDa para ser biológicamente activa (Kershaw et al, 2004). Es una citoquina proinflamatoria producida por numerosas células, pero fundamentalmente por macrófagos infiltrados en el tejido adiposo, por linfocitos y en las células estromales. También se expresa en monocitos, células Natural-killer, de músculo liso, células endoteliales y algunas células tumorales. Los adipocitos la sintetizan en pequeñas cantidades y expresan ambos tipos de receptores (Kershaw et al, 2004), siendo su expresión mayor en el tejido subcutáneo que en el visceral (Gnacinska et al, 2009). Existen dos receptores biológicamente activos: el receptor 1 del TNF- α (TNFR1) y receptor 2 del TNF- α (TNFR2), siendo principalmente el primero el que media las acciones en el tejido adiposo (MacEwan, 2002). Aunque su expresión se modifica en la obesidad, no es tanto por el tejido adiposo subcutáneo sino que está incrementada específicamente en los depósitos grasos viscerales, y se relaciona con el incremento de la RI (Berg et al, 2005; Antua-Puente et al, 2008).

El TNF α posee múltiples funciones entre las que destacan su capacidad proinflamatoria, proaterogénica, favorecedora de RI y dislipemia, alterando la función adipocitaria y su poder de expansión (Cawthorn et al, 2008). Esta citoquina disminuye la sensibilidad del receptor de insulina, por lo que podría aumentar la RI. Las concentraciones de TNF α se relacionan positivamente con la obesidad y la RI y sus propiedades endocrinas se han cuestionado, sugiriendo que puede actuar localmente y no a nivel sistémico en estas patologías (Gnacinska et al, 2009). Por otro lado, participa en la inflamación crónica de bajo grado (Charo et al, 2006) contribuyendo a la inducción de la producción de PCR (Berg et al, 2005).

En relación con la RI, el TNF α juega un papel fundamental. Se le considera como el mediador proinflamatorio que puede ser el nexo de unión entre la inflamación, la obesidad y la RI (Tilg et al, 2008). Los niveles de TNF α y de IL-6 se correlacionan directamente con la adiposidad y con la RI. Los macrófagos son los mayores productores de TNF α en el tejido adiposo blanco, y en la obesidad, además estos

macrófagos se encuentran alterados, tanto morfológica como funcionalmente, ya que son más grandes y producen gran cantidad de citoquinas.

Entre sus efectos se observa el de ser un potente regulador local de la TA, actuando de manera autocrina y paracrina. Interviene en una gran cantidad de procesos, como es el caso de la apoptosis. Posee un papel fundamental en la regulación de la síntesis de la IL-6 y de las proteínas de fase aguda, así como en la del NGF (Trayhurn et al, 2004). Por otro lado, la adiponectina puede reducir la respuesta inflamatoria inducida por TNF α (Antua-Puente et al, 2008). La leptina, sin embargo, es capaz de controlar la producción de TNF α y la activación de los macrófagos y, tanto el TNF α como la IL-6 son capaces de estimular la producción de leptina por parte del adipocito (Antua-Puente et al, 2008). Sobre la resistina ejerce funciones específicas según el tejido: en sangre periférica estimula su producción por células mononucleares y en tejido adiposo la inhibe; si bien a su vez la resistina ejerce un papel positivo sobre el TNF α . Tiene un papel en la homeostasis energética, ya que parece tener habilidad para inducir caquexia. Induce la expresión de citoquinas como la IL-6, IL-8, PAI1t, MCP1, NFG y sobre sí misma (Berg et al, 2005) (Figura 6). Además, el EO incrementa la síntesis de TNF α , que a su vez regula positivamente las proteínas participantes del EO del retículo endoplásmico, y negativamente los electrones de transporte de la cadena respiratoria, contribuyendo a la disfunción mitocondrial que inhibirá la β -oxidación de los ácidos grasos (Palomo et al, 2006).

Los efectos metabólicos del TNF α podrían explicarse por diferentes mecanismos (Kershaw et al, 2004). Por un lado el TNF α induce la expresión génica de numerosos tejidos metabólicamente activos, como el tejido adiposo y el hígado. En el tejido adiposo inhibe genes involucrados en la toma y almacenamiento de los AGL y glucosa, inhibe los genes que regulan los factores de transcripción relacionados con la adipogénesis y la lipogénesis en el hígado, además de alterar la expresión de factores secretados por los adipocitos, como la adiponectina y la IL-6. Por otro lado, el TNF α perjudica la señalización de la insulina. Este efecto está mediado por la activación de serina kinasa que incrementa la fosforilación de la serina del sustrato 1 y 2 del receptor de insulina, incrementando su degradación (Fantuzzi et al, 2005).

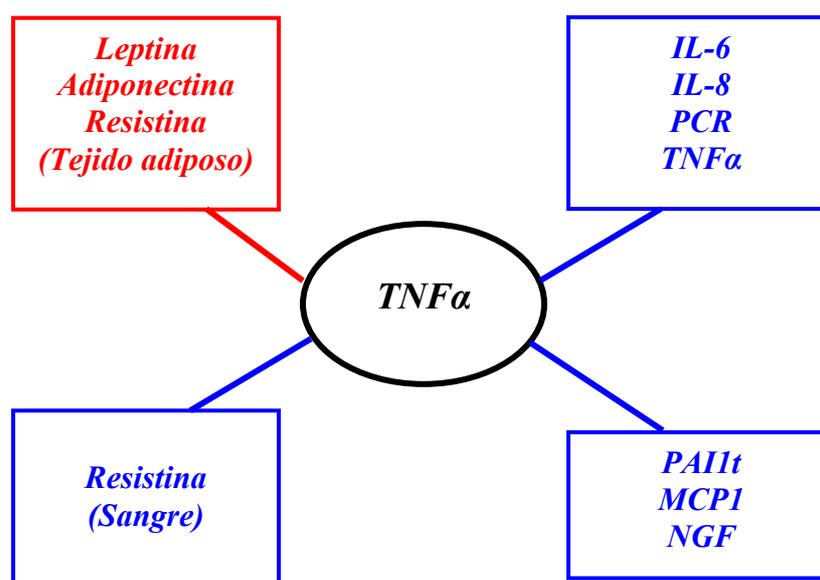


Figura 6. Intervención del factor de necrosis tumoral alfa en la inflamación y su relación con las principales adipoquinas y parámetros proinflamatorios (Modificado de Martínez, 2010).

IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina-8. MCP1: Marcador quimioattractivo de los macrófagos tipo 1. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa. NGF: Factor de crecimiento neural.

En relación con el CIR no existen muchos estudios que valoren esta citoquina, aunque si parece que este biomarcador tiene un importante papel en la patogénesis del CIR (Briana et al, 2008). Algunos autores observaron en la etapa neonatal elevaciones significativas de TNF α en comparación con los RN control (Amarilyo et al, 2011), mientras que otros en la etapa prepuberal los han descrito bajos (Jefferies et al, 2004), Los prematuros presentan sus niveles aumentados respecto a los RN a término (Neta et al, 2010). Por el contrario, en la revisión de la literatura efectuada, no se encontraron trabajos relacionados con la condición de ser CER.

II.5.2.6) Inhibidor del activador del plasminógeno 1 total (PAI1t)

El PAI1t es una glicoproteína de cadena simple, de 45 kDa, que contiene de 379 a 381 aminoácidos y es sintetizada fundamentalmente por el tejido adiposo visceral, por los preadipocitos, fibroblastos, células endoteliales, monocitos y macrófagos (Gnacinska et al, 2009). Está presente en las plaquetas (90%) y en el plasma (10%) donde circula en forma activa ligado a una proteína estabilizadora denominada vitronectina; su vida media es de 10 minutos. Posee un ritmo circadiano, incrementándose las concentraciones de PAI1t por la mañana para descender en la tarde. El PAI1t es expresado en respuesta al incremento crónico de TNF α , PCR, insulina y glucosa (Palomo et al, 2006). Es secretado por células vasculares y en el hígado, y numerosas sustancias van a regular su síntesis a nivel endotelial. La IL-1 β , TNF α , trombina y diversos factores de crecimiento aumentan su síntesis mientras que la insulina sería el principal regulador de la síntesis de PAI1t a nivel del hepatocito (Trayhurn et al, 2004).

Esta citoquina podría influir en la relación de la inflamación y la activación endotelial con la RI y la adiposidad (Valle et al, 2007). Su secreción es muy variable, considerándose fundamentalmente como un reactante de fase aguda regulador de la cascada de la coagulación con propiedades antifibrinolíticas y estimuladoras de la aterosclerosis, además de intervenir en la angiogénesis (Boutsikou et al 2010; Kershaw et al, 2004) y es considerada un importante factor en el mantenimiento de la homeostasis vascular (Trayhurn et al, 2004). Esta citoquina es miembro de la familia de inhibidores de la serin-proteasa. Es el principal inhibidor de la fibrinólisis gracias a que inactiva al activador del plasminógeno. El descenso de la capacidad fibrinolítica como resultado de los niveles circulantes aumentados de PAI1t, es considerado un factor de riesgo de ECV (Antua-Puente et al, 2008). Muchas de las citoquinas elevadas en la obesidad también originan activación endotelial y la elevación del PAI1t se asocia con la fibrinólisis y la hipercoagulabilidad, así como al embolismo y la trombosis (Gil-Campos et al, 2004 b).

En adultos y niños con acúmulo de grasa central, las concentraciones de PAI1t son mucho mayores (Antua-Puente et al, 2008; Valle et al, 2007), aunque también lo están en estados de RI. De hecho, sus niveles se correlacionan positivamente con el SM y son considerados como un factor predictor independiente de diabetes tipo 2 y de ECV

(Gnacinska et al, 2009). Se correlaciona positivamente con la adiponectina y negativamente con la resistina (Gualillo et al, 2007), y el TNF α contribuye a la elevación de sus niveles. Sus niveles están fuertemente asociados con el porcentaje de grasa visceral, independientemente de otras variables como edad, sensibilidad a insulina y masa grasa total. En los estados con pérdida de peso se observa una reducción de las concentraciones circulantes de PAI1t (Gnacinska et al, 2009; Kershaw et al, 2004).

Por otra parte, el PAI1t predispone la formación de placas de ateroma, incrementando la concentración lipídica dentro de los miocitos y la adhesión y migración celular a través del endotelio vascular, gracias a su unión con el receptor de LDLc (Linjnen, 2004). Se asocia a HTA, relacionándose fundamentalmente con la tensión arterial sistólica (TAS) (Dimitrijevic-Sreckovic et al, 2007). A la sobreexpresión de PAI1t en la obesidad y SM, posiblemente contribuye el EO y la hipoxia secundaria al incremento del tejido adiposo favoreciendo una alteración en la regulación de la secreción de adipoquinas como el PAI1t, TNF α y MCP1.

En diferentes estados metabólicos alterados se han descrito aumento de las concentraciones plasmáticas de PAI1t (Berg et al, 2005). Sin embargo, en el CER aún no ha sido estudiado ni en la etapa neonatal ni en la prepuberal. Por el contrario, en los neonatos con CIR se han descrito falta de diferencias con los controles (Mitsiakos et al, 2009; Boutsikou et al, 2010), mientras que en los prematuros los resultados son controvertidos (Mitsiakos et al, 2010).

II.6) LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

II.6.1) Generalidades de la enfermedad cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares son alteraciones del corazón y de los vasos sanguíneos. Destacan las cardiopatías coronarias, las enfermedades cerebrovasculares, el aumento de la TA, las vasculopatías periféricas, las cardiopatías reumáticas, las cardiopatías congénitas y la insuficiencia cardiaca. La ECV está asociada a la obesidad, RI, diabetes tipo 2, dislipidemia y trombosis (Antua-Puente et al, 2008).

Por otro lado, la ECV se asocia con elevación de los marcadores de inflamación sistémica, como la PCR y miembros de la cascada de la coagulación. La elevación de estos biomarcadores también se asocia con otros parámetros que indican riesgo aumentado de IAM, como obesidad, diabetes tipo 2 y angina. El incremento de la inflamación sistémica se produce por un mecanismo de inflamación local ateromatosa. En relación con la obesidad, se ha observado que en este estado se produce hipertrofia en el adipocito y en las células estromales, lo que aumenta directamente la inflamación sistémica. Contribuye a la ECV al interferir en los mecanismos de aterosclerosis, hipercolesterolemia, hipercoagulabilidad y RI. La distribución de la grasa corporal incrementa el riesgo de ECV, fundamentalmente el depósito de grasa visceral intra-abdominal (Berg et al, 2005).

En los últimos diez años se han identificado las complicaciones metabólicas y cardiovasculares asociadas al CIR. Aunque los mecanismos que asocian la RI con el crecimiento fetal no están claros, sí existe evidencia de que en este proceso el tejido adiposo juega un papel fundamental. Una de las ideas más atractivas para explicar la relación del CIR con la ECV y con las patologías relacionadas es la interacción entre la genética y el ambiente (Jaquet et al, 2003 a), (Figura 7).

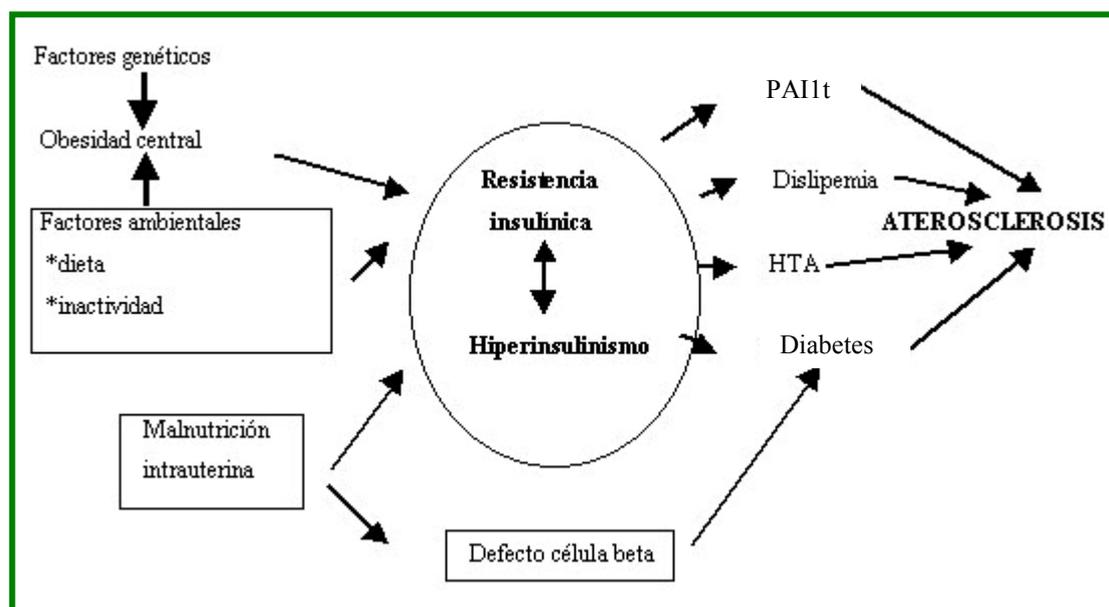


Figura 7. Relación del crecimiento intrauterino con la enfermedad cardiovascular y las distintas patologías que la representan. Actuación de los factores genéticos y ambientales en dicho proceso.

HTA: Hipertensión arterial. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1.

La hipótesis del origen fetal propone que las patologías cardiovasculares se pueden originar por adaptaciones (cardiovasculares, metabólicas y endocrinas) del feto en un estado de malnutrición (Holt et al, 2002; Dalfrá et al, 2011). La enfermedad metabólica puede estar influenciada por la programación fetal; así, el CIR puede explicar la aparición de ésta en el futuro. Existe relación entre la RI y los niños y adultos que fueron PEG, así como con la aparición de diabetes tipo 2, que aparece por un fallo en la funcionalidad de las células β pancreáticas como consecuencia de un periodo de malnutrición fetal. La sensibilidad a insulina parece estar disminuida en individuos que nacieron PEG, independientemente de otros factores influyentes como el IMC y la edad (Veening et al, 2002).

Como se ha comentado en apartados anteriores, el CIR tiene serias consecuencias para la salud en la edad adulta con un mayor riesgo de SM y de alteraciones pulmonares y cardiovasculares. Algunos autores defienden que estos desórdenes son en parte, secundarios del desarrollo de HTA, que es más frecuente en

individuos que fueron CIR respecto controles con peso al nacimiento adecuado para su EG. Los factores de riesgo de la etapa postnatal temprana incluyen el alcance del catch up de crecimiento, que se relaciona con la aparición de obesidad en la etapa adulta. Por todo ello, la identificación de factores de riesgo en individuos con predisposición a este retraso del crecimiento en toda la etapa perinatal, puede ser importante para ser aplicada en la prevención (Gortner et al, 2007).

Por otro lado, tanto en los niños CIR como en los que fueron prematuros se ha observado que el ambiente genético, la susceptibilidad genética o ambas, así como los cambios dinámicos, cuali y cuantitativos en el tejido adiposo que ocurren mientras se alcanza el catch up de crecimiento, sugieren el papel clave de este órgano en el desarrollo de complicaciones metabólicas (Meas, et al, 2010 b). En los últimos años se ha aceptado que el ambiente intrauterino y la exposición postnatal temprana (fundamentalmente la nutrición) son determinantes importantes de riesgo de ECV y de patologías relacionadas como SM, diabetes tipo 2, HTA y dislipidemia (Singhal et al, 2004 a; Rogers et al, 2011; Dalfrá et al, 2011). Por ello, los eventos metabólicos de la vida temprana no se restringen al CIR, sino que también pueden ocurrir en la vida extrauterina temprana. La mayoría de los trabajos coinciden en que el CIR es un factor de riesgo para la ECV (Varvarigou et al, 2010). En la actualidad, el EO también se ha propuesto como el nexo entre la programación y la enfermedad en etapas posteriores de la vida, como la ECV (Luo et al, 2006). En relación con el CER algunos autores han señalado que pueden presentar en la infancia un estado endocrino y metabólico alterado, además de sensibilidad a insulina y alteraciones en la TA (Wit et al, 2006) y SM (Backer et al, 2007), aunque no lo han demostrado. No obstante, aún no hay estudios, a excepción del nuestro, que valoren los distintos marcadores de ECV en estos prepúberes.

II.6.2) El síndrome metabólico

El SM, síndrome X, síndrome de resistencia a la insulina (SRI) ó síndrome plurimetabólico se puede definir, de forma general, como la combinación de obesidad abdominal, dislipidemia, HTA y RI (Berg et al, 2005; Shaibi et al, 2008), alteraciones que aumentan el riesgo de ECV y de mortalidad (Tresaco et al, 2005). El concepto fue

introducido por Reaven en 1988, aunque existen referencias anteriores que describen dicho estado patológico. Surgió para explicar la patología ocasionada por la unión de determinados factores de riesgo cardiovasculares. Reaven observó que se producía simultáneamente en el mismo paciente hiperinsulinemia con otros factores de riesgo de ECV, y que esto llevaba consigo un aumento de la morbilidad cardiovascular. Por ello, se asumió que debería haber un mecanismo común para estos factores de riesgo: la RI. (Reaven, 1988).

El denominado SM está caracterizado por hiperinsulinemia, resistencia periférica a la acción insulínica, intolerancia a la glucosa, hiperglicemia, diabetes tipo 2, hipertrigliceridemia, disminución de HDLc, elevación de LDLc y otras alteraciones asociadas a riesgo de ECV como la HTA. Aunque Reaven no incluyó la obesidad dentro de la definición, muchos autores la consideran como un componente esencial, especialmente la obesidad visceral (Figura 8). La importancia del SM también radica en que ayuda a identificar individuos con alto riesgo de padecer diabetes tipo 2 y de ECV. Los pacientes con SM tienen un riesgo 2 veces mayor de desarrollar ECV en los próximos 5-10 años que las personas que no padecen dicho síndrome; asimismo el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 es 5 veces superior. En la actualidad existen diferentes definiciones para el síndrome en función de los componentes asociados, lo que tiende inevitablemente a la confusión y a la ausencia de consenso entre los diferentes autores (Alberti et al, 2005; Shaibi et al, 2008).

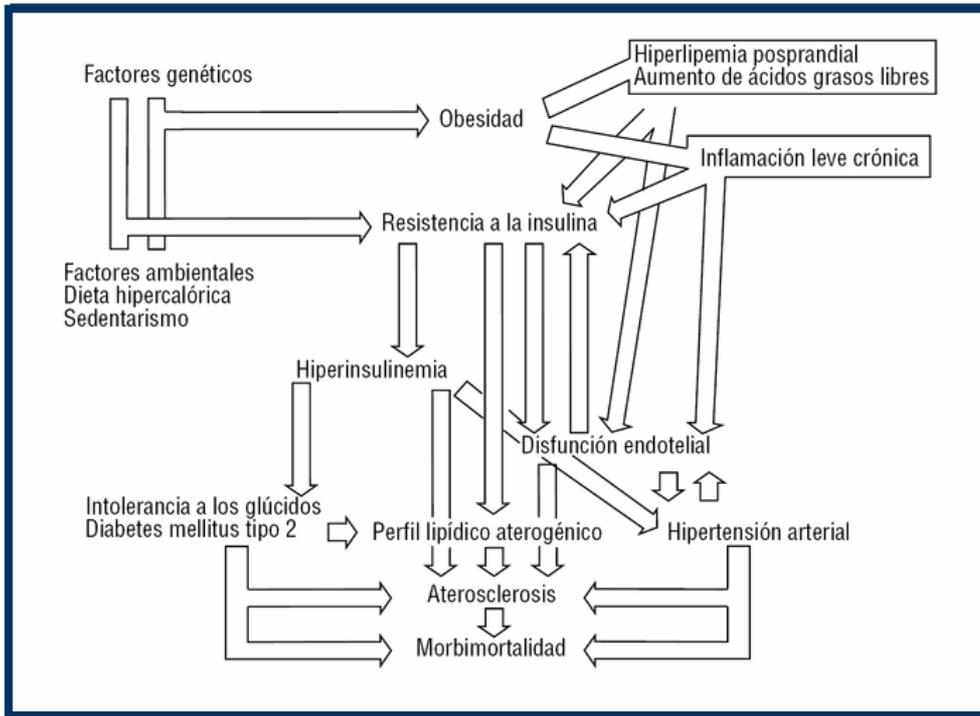


Figura 8. Panorama fisiopatológico del síndrome metabólico. La obesidad, la resistencia a la insulina y la disfunción endotelial están vinculadas entre sí, y con el resto de los componentes clínicos del síndrome metabólico, en parte por la presencia de un ambiente lipídico desfavorable y de una inflamación crónica de bajo grado (Tomado de Rio et al, 2005).

Otra característica del SM es la asociación a la inflamación sistémica crónica (Tresaco et al, 2005), (Figura 8). De hecho, se ha sugerido que la elevación de la PCR es otro requerimiento para el diagnóstico del mismo. El adipocito, presente en el tejido adiposo visceral, secreta PCR, IL-6, TNF α y PAI1t en mayor cantidad que en el tejido subcutáneo, lo que explicaría la aparición de la inflamación sistémica de bajo grado (Berg et al, 2005). Los principales mecanismos que relacionan las anomalías metabólicas del SM con la ECV se muestran en la tabla 3.

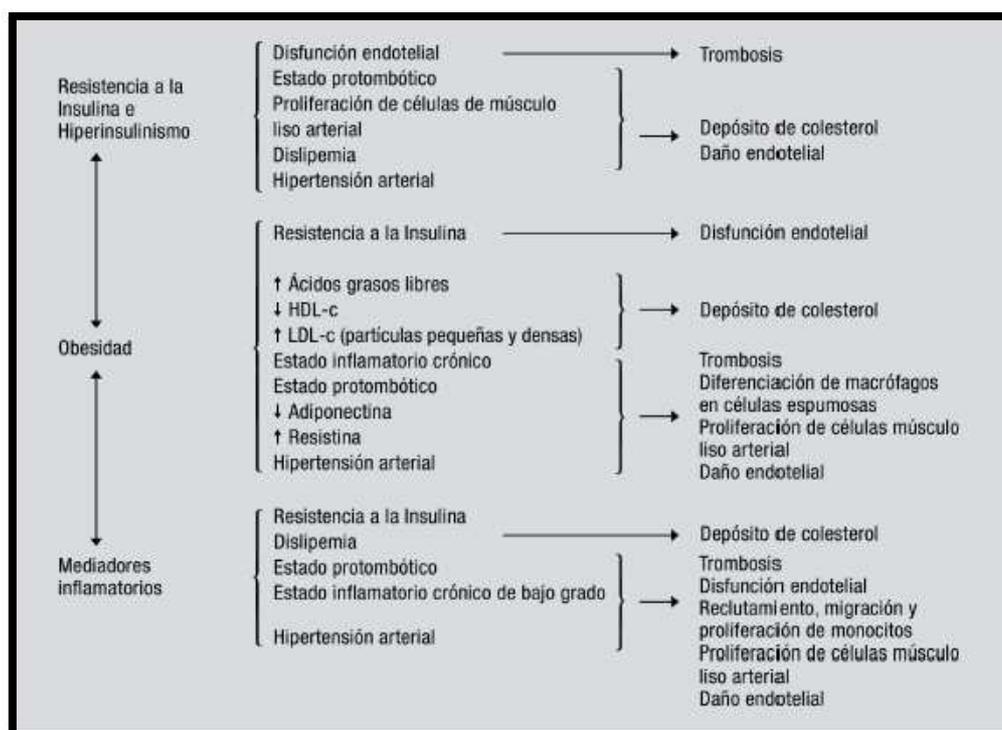


Tabla 3. Mecanismos que relacionan las anomalías metabólicas presentes en el síndrome metabólico con la enfermedad cardiovascular (Modificado de Qiao et al, 2007).

HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. LDLc: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad.

Actualmente se disponen de hasta cinco definiciones de SM de los siguientes grupos de expertos: Organización Mundial de la Salud (OMS) (1998, revisado en 1999); Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR) (1999); Programa Nacional de Educación en Colesterol Panel III de Tratamiento en Adultos (NCEP-ATP III) (2001, revisado en 2004); Asociación Americana de Endocrinología (2003) y la Federación Internacional de Diabetes (IDF) (2005) (Brambilla et al, 2007). En 1998 la OMS propuso una definición unificada y lo red denominó SM en lugar de SRI, ya que no se había establecido que esta fuese la causa de todos los hallazgos patológicos (Ravussin et al, 2002). Las relaciones de los distintos componentes del SM se muestran en la figura 9.

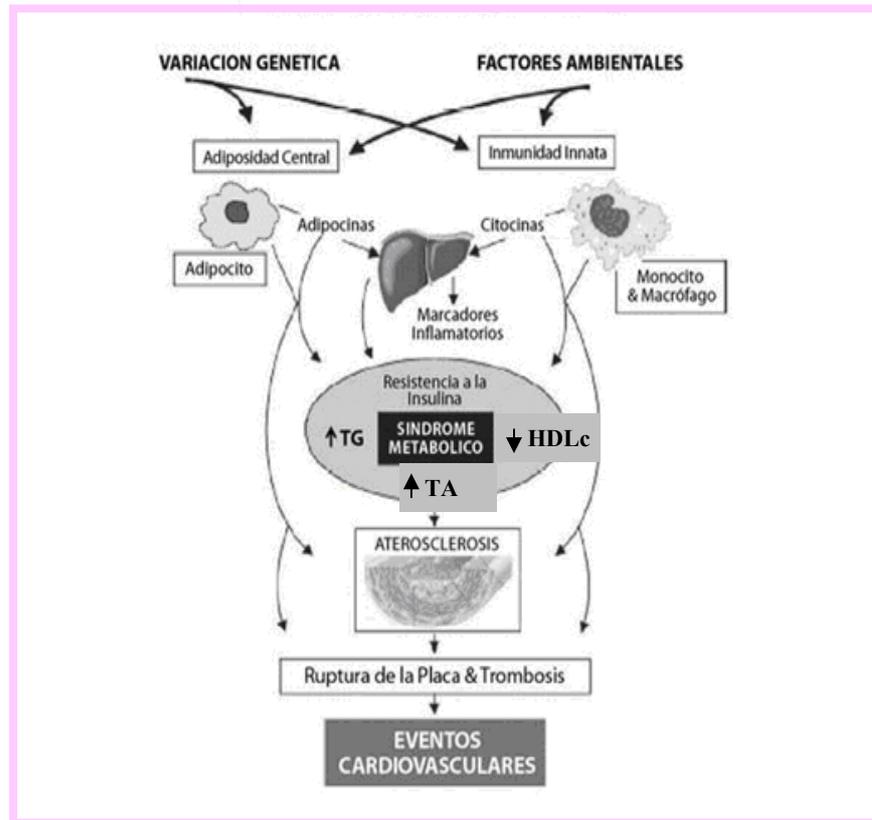


Figura 9. Representación de los principales componentes del síndrome metabólico y su relación entre ellos.
 HDLc: Colesterol de lipoproteína de alta densidad. TA: Tensión arterial. TG: Triglicéridos.

El SM suele presentarse en los niños durante y tras la pubertad, pero con más frecuencia se diagnostica incluso en prepúberes. En realidad el factor predictor del SM no se ha establecido en la infancia (Shaibi et al, 2008) aunque el índice HOMA es muy útil en la detección del SM de los niños y adolescentes (Tresaco et al, 2005). Las alteraciones típicas del SM y, por consiguiente, la aparición temprana de factores de riesgo de ECV pueden iniciarse en la infancia por diversos factores etiológicos, habiendo sido ya encontradas en niños prepuberales obesos (Gil-Campos et al, 2011) y en niños con CIR (Maiorana et al, 2007; Nobili et al, 2008). Es fundamental tener en consideración que en los niños y adolescentes, la fisiopatología básica y característica del SM también está influenciada por el crecimiento y por la pubertad, y no sólo por el género, raza y composición corporal, como en los adultos. La mayoría de los pediatras adaptan los criterios del SM de los adultos, ya que no existe una definición ni criterios

establecidos para los niños (Brambilla et al, 2007). El consenso de la IDF define el SM en niños y adolescentes como obesidad central, medida a través del PC y más 2 de las siguientes características; elevación de TG, reducción del HDLc, HTA y elevación de los niveles séricos de glucosa (Zimmet et al, 2007). Esta parece ser la definición más ampliamente aceptada para definir el SM en los niños.

Aunque las diferentes definiciones del SM incluyen diversos factores de riesgo metabólicos, existe un consenso que selecciona los factores tradicionales; obesidad central, TG, HDLc, TA y glucemia o niveles de insulina. También existen una serie de factores no tradicionales, como la elevación de los niveles de ácido úrico, que puede ser clave para el diagnóstico del SM en niños obesos prepuberales; ya que este parámetro sérico está muy relacionado con la RI. El índice HOMA, colesterol total, LDLc, Apo A-1, Apo B (Gil-Campos et al, 2009), transaminasas y PCR pueden estar alteradas en los niños con SM. En los últimos años se ha sugerido que la incidencia de SM en niños y adolescentes es más frecuente de lo que se pensaba y que ésta aumenta directamente con el aumento de la obesidad (Weiss et al, 2004).

Estudios recientes sugieren que el SM puede comenzar en el útero (Weiss et al, 2004). Existe una gran relación entre el CIR y el posterior desarrollo de SM que se ha descrito en diferentes poblaciones, y no está relacionada con la edad, género u origen étnico. Sucede independientemente del peso del individuo y de otros factores como la actividad física asociada. Como se ha comentado en apartados anteriores, la hipótesis del “fenotipo económico” (“thrifty phenotype”) podría explicar esta asociación. Esta teoría propone el SM es consecuencia de un crecimiento fetal escaso y escasa nutrición intraútero. Por ello, se pueden producir cambios permanentes en el metabolismo de la glucosa y de la insulina. Las alteraciones en la nutrición fetal van a desencadenar una serie de adaptaciones que van a cambiar permanentemente la fisiología del metabolismo, originando una mayor predisposición de desórdenes endocrinos, metabólicos y cardiovasculares (Briana et al, 2008).

Barker y colaboradores encontraron una asociación positiva entre el bajo peso al nacimiento y el desarrollo de SM, ya que anomalías metabólicas, como grasa abdominal, dislipidemia, HTA y aumento de glucosa, aparecían en estos sujetos. En periodos críticos del desarrollo, como el intrauterino, podría programarse la diabetes

tipo 2 o el SM (programación fetal), y que el ambiente fetal podría estar relacionado con la etiología de enfermedades en la etapa adulta. Proponen que el feto se adapta al ambiente intrauterino adverso (escaso alimento) derivando la mayor parte de los nutrientes al desarrollo de órganos vitales como el cerebro, a expensas de otros órganos como el páncreas (Barker et al, 1993).

Por ello, los sujetos que presentaron CIR al nacimiento o nacidos PEG, tienen mayor riesgo de desarrollar RI, SM o alguno de sus componentes, y ECV en la etapa adulta (Neitzke et al, 2011), e incluso en la etapa prepuberal (Krochik et al, 2011). Observaciones recientes enfatizan que no sólo el crecimiento fetal sino también la vida postnatal temprana son críticos para el desarrollo de RI y SM, y que los niños PEG que alcanzan el catch up de crecimiento en la infancia presentan mayor riesgo de consecuencias metabólicas (Maiorana et al, 2007) así como la prematuridad (Luo et al, 2010). El IMC que se observa en los niños en el momento del catch up se correlaciona significativamente con la RI y el SM. En el estudio realizado por Dulloo y colaboradores (2006), los individuos que alcanzaron un mayor peso en la etapa neonatal no fueron obesos en la etapa adulta, por ello se sugiere que la distribución de la grasa corporal es más crucial que el propio peso. Tras un periodo de pérdida ponderal, como el que sucede tras el nacimiento, se induce la excesiva acumulación de grasa durante la rehabilitación nutricional, con una acumulación de grasa desproporcionada. Estos hechos podrían suceder en los neonatos con CER, y por ello, este estado podría estar también relacionado con un mayor riesgo de padecer SM y por tanto, de riesgo incrementado de ECV en etapas posteriores de la vida.

II.6.2.1) La resistencia a insulina

La RI se define como un estado de disminución de la respuesta celular y tisular a la hormona genética o adquirida, en presencia de una concentración normal de insulina o como respuesta normal después de una insulinemia elevada, originando primariamente hiperglicemia. Los mecanismos moleculares no están totalmente esclarecidos, aunque se han detectado alteraciones a nivel de la autofosforilación del receptor de insulina. Las principales dianas de acción de la insulina son el tejido adiposo, el muscular y el hepático (Ten et al, 2004). Las consecuencias a nivel metabólico de la RI serán por una parte las derivadas de la inactividad de la hormona (como ocurre con el incremento en

las concentraciones de glucosa y ácidos grasos (AG)) y por otra, las derivadas de la presencia de un exceso de hormona. La insulina es la mayor hormona responsable del mantenimiento de la homeostasis energética, coordinando la utilización de los depósitos grasos por parte del músculo, hígado y tejido adiposo (Gil-Campos et al, 2004 b). La insulina debe considerarse como una hormona anabólica, ya que posibilita la entrada de glucosa en los tejidos, favorece la síntesis de glucógeno hepático, bloquea la glucogenolisis e inhibe la lipólisis (Chiarelli et al, 2008).

La alteración de la función de la insulina podría ser consecuencia de un estado de inflamación sistémica de bajo grado aunque se caracteriza por complejas interacciones entre determinantes genéticos, factores nutricionales y estilos de vida (Tilg et al, 2008). El hiperinsulinismo se relaciona con la HTA debido a la acción de la insulina de retener sodio de forma crónica, estimular al SNS y el crecimiento de la musculatura lisa vascular, asociado a la predisposición genética y la acción del medioambiente (Dalmau et al, 2007). La hiperglucemia contribuye al desarrollo de ECV, debido a que disminuye la síntesis de NO e incrementa la endotelina-1, favoreciendo la vasoconstricción y la permeabilidad vascular. Por otra parte, favorece el incremento del PAI1t, tendiendo a la trombogénesis (Palomo et al, 2006).

En el periodo postnatal se puede experimentar un crecimiento muy rápido para alcanzar el crecimiento óptimo, alterando así la composición corporal y aumentando el tejido adiposo visceral, lo que predispone a un mayor riesgo de ECV y de diabetes tipo 2 en adultos (Varvarigou, 2010). Se ha observado que los RN pretérmino también presentan un riesgo incrementado de desarrollar RI en etapas posteriores de la vida (Finken et al, 2011), lo que se ha relacionado con el aporte nutricional durante el periodo neonatal (Nobili et al, 2008). En relación con la prematuridad, los niños prepuberales que nacieron prematuros pueden presentar RI en la infancia, lo que puede ser debido a factores ambientales adversos tanto intrauterinos como postnatales. De hecho, según estos autores, en los niños que alcanzaron el catch up de crecimiento con un IMC normal, que fueron prematuros así como los que fueron prematuros y CIR al mismo tiempo, no se observó RI en comparación con niños sanos que nacieron a término. No obstante, defienden que el CIR en el tercer trimestre de la gestación tiene un efecto adverso para la patología metabólica en el futuro (Darendeliler et al, 2008). Por otro lado, estudios en gemelos han indicado que no hay un origen genético de la RI

ni de la diabetes tipo 2 asociado con haber nacido CIR. De hecho, apuntan que la programación de la acción de la insulina en el músculo y su señalización es la causante de esta asociación (Vaag et al, 2006).

Existen numerosos estudios que apuntan que el CIR se asocia a la RI de manera tanto genética como ambiental. De hecho, parece ser la teoría más aceptada. El fenómeno de la programación fetal (Saenger et al, 2007), ha pasado a ser conocido como “la teoría del origen fetal de la enfermedad en los adultos”. El feto se adapta al ambiente intrauterino adverso optimizando el uso de los escasos nutrientes para la supervivencia. Por ello, la sangre se redistribuye a favor de los órganos vitales y se altera la producción placentaria de hormonas, controlando así el crecimiento (Briana et al, 2009). Existe otra teoría, “la hipótesis de la insulina fetal”. Como alternativa a la programación intrauterina, la RI podría estar mediada genéticamente, y el genotipo de RI podría estar relacionado con el bajo peso al nacimiento, intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 2 e HTA en etapas posteriores de la vida (Saenger et al, 2007) (Figura 10).

Por otro lado, la insulina es considerada como uno de los mayores factores de crecimiento de la vida fetal. De hecho, los desordenes monogénicos que afectan a la secreción de insulina y a la RI, también afectarán el crecimiento fetal (Briana et al, 2009). En relación con el CIR, los prepúberes con dichos antecedentes presentan más riesgo de padecer RI (Street et al, 2011), al igual que los adultos (Morrison et al, 2010). El catch up tiene un papel muy importante en la RI y en la modulación (Chiavarili et al, 2009). La malnutrición temprana en la vida extrauterina, independientemente del peso al nacimiento, se asocia con un deterioro del metabolismo insulínico y de la tolerancia a glucosa en adultos (González-Barranco et al, 2004). Por ello, aunque no existan trabajos que valoren la RI en los niños CER y los mecanismos que relacionen esta condición con la RI aún son desconocidos, la programación postnatal temprana podría jugar un papel importante en su desarrollo.

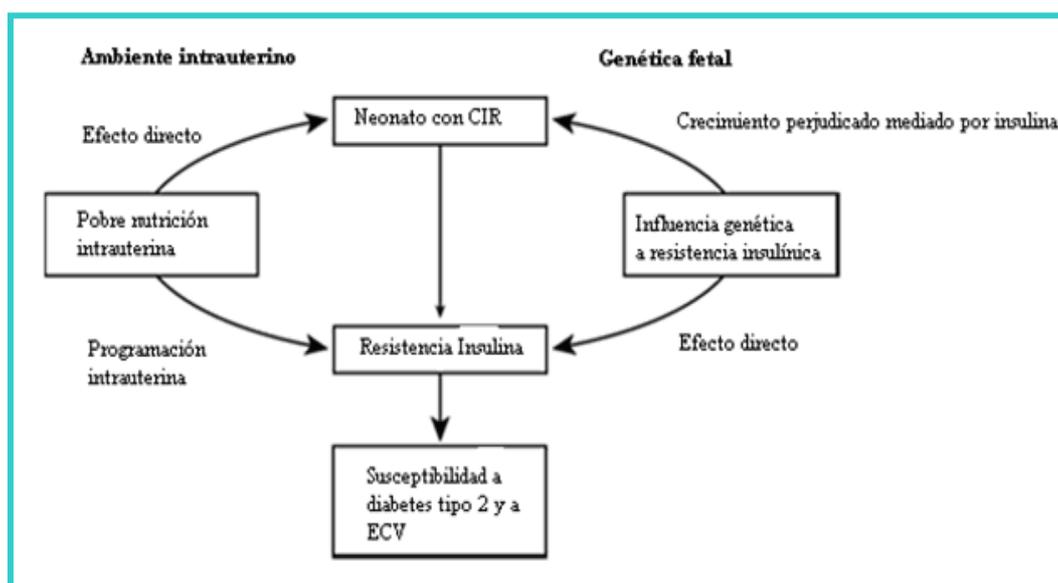


Figura 10. Dos posibles explicaciones para la asociación del crecimiento intrauterino retrasado con la resistencia a insulina, diabetes tipo 2 y la enfermedad cardiovascular: el ambiente intrauterino adverso (programación fetal) y la genética fetal. (Modificado de Saenger et al, 2007).
CIR: Crecimiento intrauterino retrasado. ECV: Enfermedad cardiovascular.

II.6.2.2) La hipertensión

La HTA es otro de los componentes del SM. Sería consecuencia de la RI, en base a que hay alteraciones metabólicas que no se evidencian en formas de HTA secundarias. La obesidad, RI, HTA y la enfermedad vascular periférica de origen aterosclerótico están íntimamente asociadas con un estado inflamatorio crónico de bajo grado y con disfunción endotelial. En la figura 11 se muestra la fisiopatología de la HTA en el SM. La hiperinsulinemia aumenta la reabsorción de sodio a nivel renal y provoca un desequilibrio en el balance NO/endotelina 1 en las células del endotelio vascular propiciando disfunción endotelial. La endotelina 1 es capaz de inducir una respuesta vasoconstrictora, lo que determinaría un estado de resistencia vascular periférica, mecanismo íntimamente relacionado con la HTA. Por otro lado, los efectos antiinflamatorios y antitrombóticos dependientes del NO se suprimen y se estimula la expresión de la forma soluble de la molécula de adhesión celular de los vasos tipo 1

(sVCAM-1) y de E-selectina, implicadas en el proceso de aterogénesis (Yanai et al, 2008).

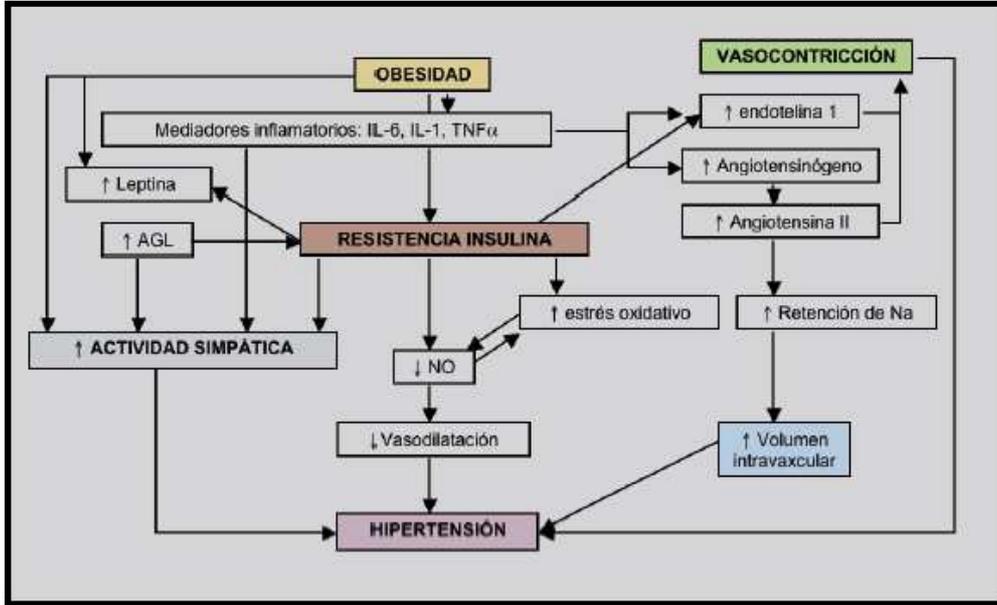


Figura 11. Mecanismo de hipertensión arterial en el síndrome metabólico (Modificado de Yanai et al, 2008).

AGL: Ácidos grasos libres. IL-6: Interleuquina seis. IL-1: Interleuquina uno. NO: Óxido nítrico. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

En relación con el CIR, la programación de la HTA por la malnutrición materna es un proceso multifactorial y complejo y cuyo mecanismo es desconocido (Wen et al, 2011). Sin embargo, el riñón y el endotelio presentan un importante papel. La estructura renal, y específicamente el número de nefronas, es el mayor determinante de la TA y de la función renal. La incidencia de HTA es mayor cuanto menor es el número de nefronas. La malnutrición materna es fundamental para la organogénesis del feto, por lo que una alimentación inadecuada durante la gestación puede interferir en el número de nefronas. Por ello, la condición de ser CIR, y en concreto la malnutrición, interfiere en la nefrogénesis y por tanto en la programación de la HTA, y por ello en los sujetos con antecedentes de CIR muestran elevación de la TA (Masi et al, 2011). Estas observaciones indican que el riñón durante su periodo de desarrollo puede estar influenciado por las alteraciones del ambiente intrauterino por lo que se puede realizar de forma no adecuada la neurogénesis, con la consecuente HTA en la vida adulta

(Franco et al, 2003). La alteración de la programación puede comenzar en el útero, aunque también puede ocurrir en la vida postnatal, originando en ambos casos HTA (Gortner 2007; Nuyt et al, 2009; Myrie et al, 2011). En la infancia, adolescencia e incluso en la etapa adulta de los prematuros y de los RN con CIR se puede observar una alteración en la estructura vascular, que también contribuye a la HTA (Jiang et al, 2006). Por otro lado, los niños prepuberales con alteraciones en el tejido adiposo visceral presentan elevación de la TA, tanto TAS como TAD (Galcheva et al, 2011; Medina-Bravo et al, 2011). Por ello, los niños y adultos que fueron prematuros con CER podrían presentar mayor riesgo de desarrollo de HTA, al tener mecanismos similares de desarrollo.

II.6.2.3) Dislipidemia

Las alteraciones del metabolismo de los lípidos en el SM se caracterizan por un incremento de los niveles de TG, disminución de la concentración del HDLc y alteraciones cualitativas en las moléculas de LDLc (Weiss et al, 2004). El control de la lipogénesis en los adipocitos está regulado entre otros, por las catecolaminas y por la insulina. Las catecolaminas tienen un efecto lipolítico más acentuado sobre el tejido adiposo visceral, que sobre el subcutáneo. La insulina controla la disponibilidad de los AGL, regulando la actividad de la LPL.

En el desarrollo del SM, los niveles incrementados de AGL (procedentes principalmente de la lipólisis en tejido adiposo llevada a cabo por la lipasa hormonosensible), facilita a nivel hepático la síntesis de VLDLc. Esto provoca hipertrigliceridemia así como neoglucogénesis (hiperglucemia). La RI favorece que los TG ni sean degradados ni almacenados, por lo que se produce un incremento en sus niveles plasmáticos. La hipertrigliceridemia potencia la actividad de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) (desde la HDLc a la LDLc y a la VLDLc) (Figura 12), con lo que las moléculas más aterogénicas se enriquecen de colesterol. La mayor actividad enzimática explica las concentraciones disminuidas de HDLc y aumentadas de LDLc y de VLDLc. Las moléculas de LDLc son anómalas en cuanto a su grado de glicosilación, composición lipídica y dominio de unión al receptor de Apo B, lo que conlleva una disminución del aclaramiento de estas moléculas pequeñas y

densas del plasma con el consiguiente aumento del riesgo de trombosis (Barnett, 2008).

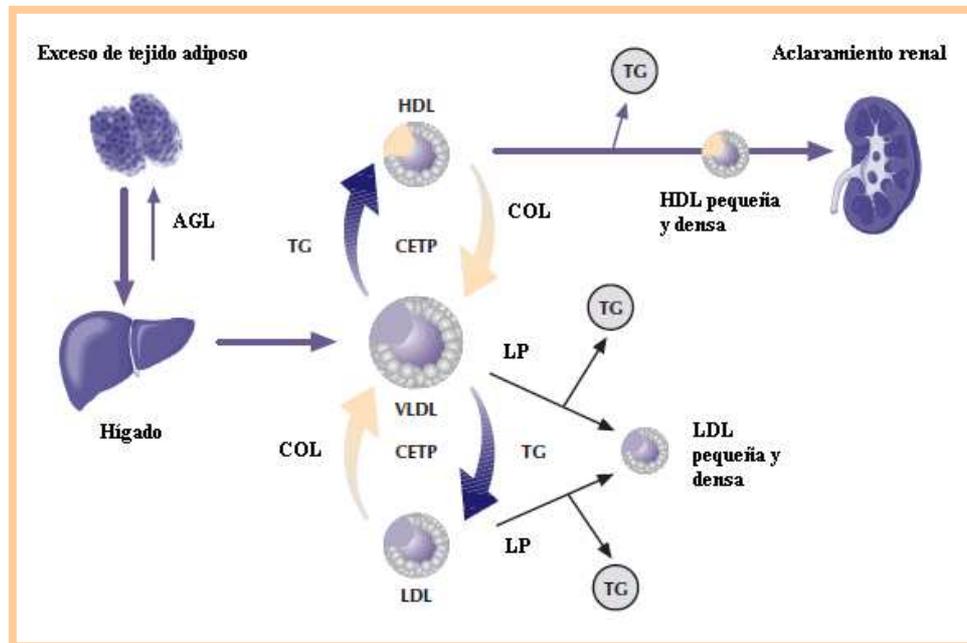


Figura 12. Mecanismo de dislipidemia en el síndrome metabólico (Modificado de Barnett, 2008).

AGL: Ácidos grasos libres. CEPT: Proteína transportadora de ésteres de colesterol. Col: Colesterol total. HDL: Lipoproteína de alta densidad. LDL: Lipoproteína de baja densidad. LP: Lipasa. TG: triglicéridos. VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad.

En los últimos años se ha aceptado que el ambiente intrauterino y la exposición postnatal temprana (malnutrición temprana) son importantes determinantes de riesgo de dislipidemia (Hofman et al, 2004; Gortner et al, 2007). De hecho, algunos autores han observado que incluso en la etapa prepuberal, los niños con antecedentes de CIR presentan elevaciones en el colesterol total respecto a controles sanos (Thenola et al, 2000). La mayoría de los autores defienden que el CIR se asocia a un aumento de anomalías en el metabolismo lipídico, predictivas de un mayor riesgo de ECV (Mohn et al, 2007; Varvarigou, 2010). Por otro lado, los primeros signos de aterosclerosis pueden comenzar también en la edad pediátrica. Los prematuros presentan en etapas posteriores alteraciones en el endotelio que se han relacionado con el aporte nutricional durante el periodo neonatal (Singhal et al, 2004 b). La malnutrición

extrauterina temprana, independientemente del peso al nacimiento, tiene un efecto adverso en el perfil lipídico en los jóvenes; de hecho empeora al aumentar el IMC, incluso dentro de los límites de normalidad (González-Barrano et al, 2004). Por ello, los prepúberes CER podrían presentar alteraciones en el perfil lipídico independientemente de su peso.

II.6.2.4) La inflamación

La inflamación, como se ha comentado anteriormente, se considera uno de los componentes del SM. Se ha establecido relación entre procesos inflamatorios de baja intensidad pero mantenidos en el tiempo (inflamación crónica de bajo grado), con la progresión de dicho síndrome. El tejido adiposo, especialmente el abdominal, es responsable de la síntesis de una serie de moléculas que intervienen significativamente en la modulación de la inflamación. Estas moléculas, adipoquinas y citoquinas, están implicadas en el desarrollo de la RI así como en la disfunción endotelial asociada a HTA y al estado protrombótico característicos de este síndrome. Por ello, la inflamación de bajo grado sistémica es un factor de riesgo de ECV (Körner et al, 2007). Los niños con antecedentes de CER, como se ha visto en otros apartados, como consecuencia de una alteración en la funcionalidad del adipocito, pueden presentar signos tempranos de inflamación de bajo grado.

II.6.2.5) Adiposidad central y obesidad

La adiposidad se asocia a una serie de alteraciones endocrinas y metabólicas, que favorecen un estado proinflamatorio y protrombótico, contribuyendo al desarrollo de disfunciones vasculares y cardíacas. Los cambios en el estilo de vida han aumentado la incidencia de obesidad (Kanda et al, 2006). No todos los autores incluyen la obesidad en la definición de SM, aunque si existe relación entre los factores de riesgo de ECV y la obesidad central (perímetro abdominal) (Shaibi et al, 2008). El aumento de la adiposidad, especialmente en la zona superior del cuerpo se asocia a la RI, dislipidemia, hiperglicemia y a la HTA y por ello, al SM (Kanda et al, 2006). La diferenciación y proliferación de los adipocitos es un factor precipitante. Para el desarrollo de la RI

contribuye la acumulación ectópica de la grasa (la hipertrofia de los adipocitos favorece que los nuevos se acumulen en zonas diferentes, favoreciendo el SM) y la teoría endocrina (el elevado número de citoquinas segregadas por los adipocitos presentan potentes efectos en el metabolismo de la insulina) (Ravussin et al, 2002). Con el aumento de adiposidad se incrementa la expresión de MCP1 al igual que la del TNF α , IL-6 y PAI1t. La adiponectina desciende con el incremento de tejido adiposo, por lo que podría desempeñar un papel protector en la obesidad infantil (Zou et al, 2007).

En el caso de niños y adolescentes obesos, se ha observado intolerancia a la glucosa, elevación de la TA, dislipidemia e hiperuricemia, y con ello, un elevado riesgo de ECV (Körner et al, 2007). Estudios recientes en niños obesos con y sin intolerancia a la glucosa han mostrado una fuerte relación entre la inhabilidad de compensar por el incremento de la secreción de insulina y la resistencia severa a la misma, asociado todo ello a los niveles disminuidos de adiponectina (Gil-Campos et al, 2004 b).

La distribución de la grasa presenta diferentes actuaciones metabólicas en función de su localización en el organismo. Esta situación puede observarse en la infancia (Wärnberg et al, 2008). En el CIR el feto se adapta al ambiente adverso intrauterino produciéndose cambios dinámicos cuali y cuantitativos en el adipocito, sobre todo en el tejido adiposo visceral (Yajnik et al, 2004). Estos cambios son fundamentalmente cualitativos, ya que los niños prepuberales con antecedentes de CIR suelen ser más pequeños que los controles sanos, incluso con un IMC y un PC normales. Estas alteraciones están relacionadas con un incremento de patología metabólica, como la ECV, en etapas posteriores de la vida (Nobili et al, 2008). Los neonatos CER se adaptan a las condiciones adversas extrauterinas. Como se ha comentado anteriormente, la malnutrición que padecen puede condicionar cambios en el adipocito, fundamentalmente cualitativos que a largo plazo podrían contribuir al desarrollo de determinadas patologías.

III.6.3) Marcadores de riesgo cardiovascular

Los marcadores mencionados a lo largo del apartado introducción, así como algunos de los parámetros bioquímicos estudiados en este trabajo, pueden ser considerados como marcadores de riesgo de ECV, ya que son indicativos de algunas patologías que directa o indirectamente estén relacionadas con la ECV, y por tanto su alteración podría indicar un riesgo aumentado de la misma (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros y marcadores estudiados en este trabajo que pueden relacionarse con el incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular.

<i>Parámetros y marcadores que incrementan el riesgo de ECV</i>	
<i>Antropometría</i>	Peso, talla, IMC, PC
<i>TA</i>	TAS, TAD
<i>Valoración nutricional y estilo de vida</i>	Ingesta calórica, composición de la dieta, ejercicio físico
<i>Bioquímica tradicional</i>	Ácido úrico
<i>Perfil lipídico</i>	Col, HDLc, LDLc, TG, Apo A-1, Apo B
<i>Marcadores del metabolismo hidrocarbonado</i>	Glucosa, insulina, índice HOMA
<i>Adipoquinas</i>	Adiponectina, resistina, leptina
<i>Marcadores de inflamación</i>	PCR, IL-1 β , IL-6, IL-8, HGF, NGF, MCP1, TNF α , PAI1t

Apo A-1: Apoproteína A-1. Apo B: Apoproteína B. Col: Colesterol total. HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. Índice HOMA: Índice de resistencia a insulina (Homeostasis model assessment). IL: Interleuquina. IMC: Índice de masa corporal. LDLc: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad. NGF: Factor de crecimiento neural. MCP1: Marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PC: Perímetro de cintura. PCR: Proteína C reactiva. TA: Tensión arterial. TAD: Tensión arterial diastólica. TAS: Tensión arterial sistólica. TG: Triglicéridos. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

Se conoce que un elevado porcentaje de niños nacidos con CIR presentan alteraciones nutricionales y posteriormente, una mayor incidencia de ECV (Hofman et al, 2004; Maiorana et al, 2007; Gortner et al, 2007; Nobili et al, 2008). La vida fetal,

debido a la susceptibilidad genética y/o ambiente intraútero, puede condicionar cambios en el tejido adiposo y reprogramación de las rutas metabólicas, posibilitando la aparición de complicaciones metabólicas y cardiovasculares en etapas tempranas de la vida, ya que el crecimiento fetal reducido, esta independientemente asociado con el incremento del riesgo de ECV (Meas, 2010 a). Los niños con períodos críticos en el crecimiento, no sólo prenatal sino también postnatal, tendrán mayor riesgo de enfermedades en etapas posteriores (Briana et al, 2008). No obstante, aún no existen evidencias suficientes del efecto a largo plazo de la nutrición agresiva postnatal sobre la programación en los distintos sistemas (Maiorana et al, 2007), aunque se ha aceptado que la exposición postnatal temprana es un determinante importantes en el aumento del riesgo de ECV en la edad adulta (Hoffman et al, 2004). Por ello, en los niños con antecedentes de CER podrían aparecer alteraciones metabólicas relacionadas con la nutrición y el desarrollo neonatal que incrementarían el riesgo de enfermedad metabólica en etapas posteriores, como la ECV.

VII) ESTRÉS OXIDATIVO. BIOMARCADORES DE OXIDACIÓN

II.7.1) *El estrés oxidativo*

El EO es un proceso patológico local o sistémico, causado por una alteración de los mecanismos bioquímicos que controlan las reacciones de oxidorreducción. Se produce por la ruptura del equilibrio fisiológico entre producción y eliminación de especies químicas oxidantes (EQO). Los procesos de oxidorreducción son reacciones en las que una determinada especie química, llamada oxidante, sustrae uno o más “equivalentes reductores” a otra especie llamada reductor. El término equivalente reductor incluye tanto al electrón como al átomo de hidrógeno, elementos de intercambio en las reacciones de química orgánica e inorgánica, respectivamente. Este proceso de EO puede ser debido a un incremento de la síntesis de EQO, a una menor eficiencia del SDA o a ambos mecanismos, originándose como consecuencia de la ruptura del equilibrio bioquímico (Favier et al, 2006).

Las EQO se clasifican en especies radicálicas o también llamadas radicales libres (RL), y no radicálicas. Los RL poseen al menos un electrón desapareado en uno de sus orbitales más exteriores, mientras que las no radicálicas presentan, en general, todos los electrones apareados. La naturaleza radicálica, expresada con un punto como exponente a la derecha de la fórmula o símbolo [[•]], o no radicálica de las EQO tiene implicaciones directas en el mecanismo de la oxidación. En relación con la naturaleza del elemento que participa en la acción oxidante, se distinguen especies químicas reactivas centradas en el oxígeno (EROs), en el nitrógeno, en el carbono, en el azufre y en los halógenos, especialmente en el cloro (Dalle-Donne et al, 2006).

Las principales EROs y del nitrógeno son los radicales superóxido ($O_2^{\bullet-}$), hidroperóxido (HO_2^{\bullet}), hidroxilo (HO^{\bullet}), alcóxi (RO^{\bullet}) y el peróxi (ROO^{\bullet}), así como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el óxido nítrico (NO^{\bullet}) y el dióxido de nitrógeno (NO_2). Dichas especies reactivas son de origen endógeno. Surgen como reacciones secundarias no deseadas entre las biomoléculas. El organismo también está expuesto a RL procedentes de fuentes externas, como de la alimentación. Se prefiere definir estas especies como oxidantes y no como reactivas, porque la reactividad no es una propiedad exclusiva de ellas. De hecho, la reactividad de un RL depende de su naturaleza química,

es decir, de la distribución de la carga eléctrica en su superficie, además, a igualdad de carga, resultan más reactivas las especies radicálicas de menor volumen (Valko et al, 2007).

La producción de EROs es inevitable, ya que son el producto de formación de muchas reacciones redox. Un aumento de los niveles de EROs dificulta la supervivencia de las células, como es el caso de la peroxidación lipídica y las modificaciones oxidativas de las proteínas y de los ácidos nucleicos. Por el contrario, los niveles bajos de EROs actúan como segundos mensajeros responsables de la señal de transducción de moléculas de señalización extracelulares y de sus receptores de membrana. El 95% del oxígeno que se consume por el organismo se reduce gracias a la citocromo oxidasa mitocondrial, mientras que el 5% restante, se reduce por varias oxidasas y deshidrogenasas aeróbicas. Para la completa reducción de una molécula de oxígeno debe ocurrir una transferencia simultánea de cuatro electrones para producir dos moléculas de agua u otros compuestos equivalentes. La reducción del oxígeno por menos de cuatro electrones genera las EROs. Su producción celular se puede aumentar por la acción de hormonas, citoquinas y otros estímulos fisiológicos, además de por factores externos como la radiación ultravioleta. Las EROS actúan como moléculas específicas de señalización involucradas fundamentalmente en el control del proceso inmune, circulación sanguínea y regulación del sistema endocrino (Turpaev et al, 2002). Las EROs se producen fundamentalmente en reacciones catalizadas por oxidasas especializadas, como la adenina nicotinamida dinucleótido fosfato reducida (NADPH) oxidasa y por un gran número de especies celulares; transportadores de electrones, metales y lípidos. Muchas rutas celulares también están relacionadas con mecanismos que pueden generar EO (Davidge et al, 2008).

La formación de ciertos RL en las células del organismo, como se ha comentado anteriormente, es un proceso fisiológico normal e inevitable. En determinadas condiciones, el aumento de la concentración de EQO puede dañar moléculas endógenas del organismo como lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, causando lesiones que en un primer momento son limitadas, hasta alcanzar afectación sistémica, hablando entonces de EO; factor de riesgo emergente para la salud. Para prevenir o contrarrestar los posibles efectos adversos de las EQO, las células se defienden de su potencial agresividad, gracias al SDA. Cuando la capacidad de los mecanismos antioxidantes se

ve superada por las agresiones oxidativas, entonces se produce el EO, que en mayor o menor grado, puede llegar a producir lesiones celulares reversibles o irreversibles (Therond et al, 2006).

El balance oxidativo del organismo es esencial para la regulación metabólica, la producción de energía, la activación o inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, el recambio celular, o el control del tono vascular entre otros. Las EQO son productos habituales del metabolismo celular ya que algunos de ellos desarrollan un papel relevante en el organismo; el anión superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno son utilizados comúnmente por los leucocitos polimorfonucleares en la fagocitosis, y el óxido de nitrógeno es determinante en la regulación de la TA y en la modulación de fenómenos reactivos (Favier et al, 2006).

El aumento de la producción de EQO puede ser debido a factores externos o internos al organismo. Los primeros incluyen agentes físicos (radiaciones ionizantes), químicos (alcohol, fármacos) o biológicos (virus, bacterias). Los segundos están relacionados con una estimulación excesiva de los sistemas enzimáticos oxidantes NADPH oxidasa de la membrana plasmática, ciclo respiratorio mitocondrial, citocromo P450 microsomal, xantina oxidasa citosólica). Por el contrario, un descenso de las defensas antioxidantes puede relacionarse con un aporte reducido o un consumo aumentado, o por una menor biodisponibilidad de antioxidantes, es decir, con una deficiencia de la actividad enzimática destinada a inactivar las EQO. Un incremento en la producción de EQO o una eficiencia reducida de los SDA a nivel intra o extracelular puede llevar a una excesiva peroxidación de moléculas orgánicas de interés biológico (glúcidos, lípidos, proteínas, nucleótidos) y, consecuentemente, al aumento de los niveles de subproductos de peroxidación (hidróxidos, cloraminas) o reducción de las concentraciones o actividades de los antioxidantes (GPox, ácido ascórbico) en los tejidos o líquidos extracelulares. Estos últimos representan fuentes biológicas óptimas, cuyas muestras se utilizan para valorar el EO (Dalle-Donne et al, 2006).

Con independencia de la etiopatogenia, actualmente se reconoce que el EO, fundamentalmente a través de la producción de RL, juega un papel relevante no sólo en la aceleración del proceso fisiológico del envejecimiento, sino también en favorecer o empeorar una serie de patologías inflamatorias o degenerativas, como la aterosclerosis y

la HTA, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, diabetes, obesidad, dislipemia, IAM, disfunción endotelial y hasta algunos tipos de cáncer (Figuras 13 y 14) (Dalle-Donne et al, 2006).

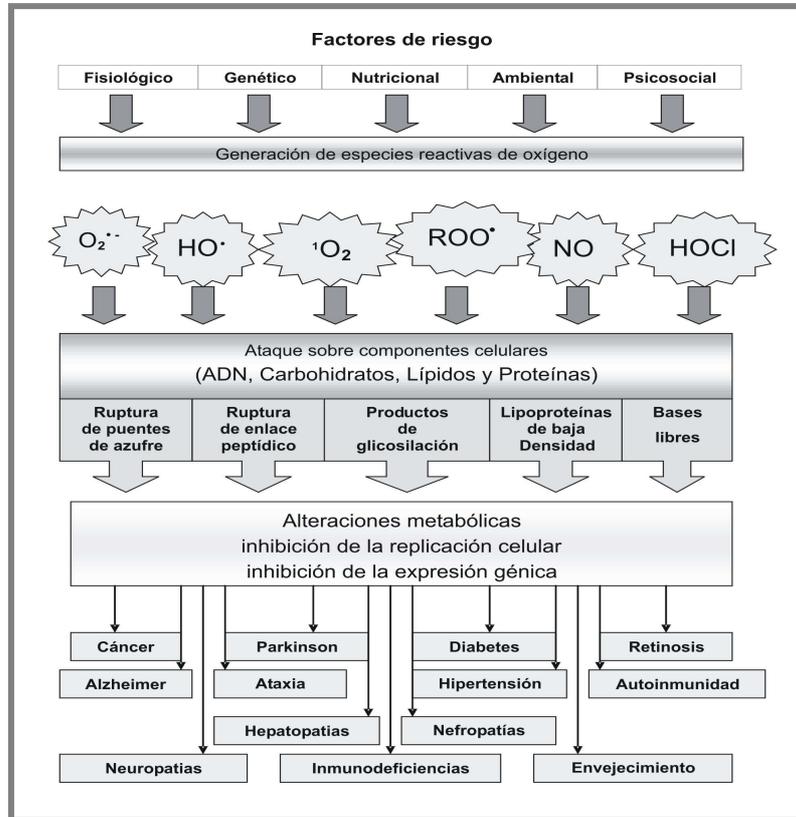


Figura 13. Las especies reactivas del oxígeno y su relación con distintas patologías.

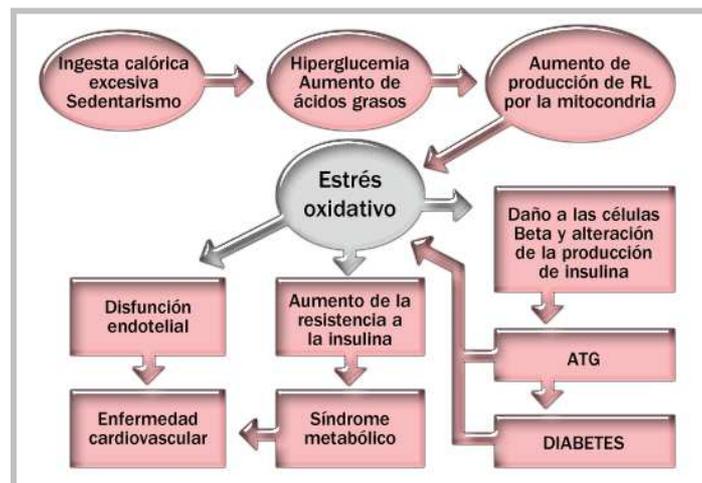


Figura 14. Mecanismos de aparición del estrés oxidativo y su papel en las principales patologías.

ATG: Alteración de la tolerancia a la glucosa. RL: Radicales libres.

El daño celular producido por las EROs, ocurre sobre diferentes macromoléculas. En el caso de los lípidos, la peroxidación lipídica altera la permeabilidad de la membrana celular. Uno de los productos finales de este proceso de fácil medida es el malondialdehído (MDA). Por otra parte, dentro de los glúcidos, los monosacáridos actúan como limpiadores (“*scavengers*”) del radical superóxido e hidroxilo. No obstante, los polisacáridos son destruidos por la acción de los RL de oxígeno. En las proteínas, los aminoácidos tienen residuos susceptibles afectarse por RL. Las consecuencias sobre el ADN son las mutaciones y la carcinogénesis. Debido a la alta reactividad del oxígeno, se ha propuesto que muchas de las moléculas biológicas son susceptibles de daño oxidativo, resultando de ello una pérdida de función. Por ello, muchos de los sistemas del organismo se han adaptado a esta reactividad, y se regulan homeostáticamente con un aporte de oxígeno suficiente para cubrir las demandas energéticas, y con mecanismos apropiados para proteger las células, sobre todo la mitocondria (Burton et al, 2009 a).

La gestación es un estado fisiológico que va acompañado de un incremento en la demanda metabólica y de mayores requerimientos de oxígeno por parte de los tejidos. A lo largo de una gestación normal las EROs van incrementando sus niveles, es decir, hay un aumento del EO y una alteración del SDA (Gitto et al, 2009). En el primer trimestre de la gestación la concentración de oxígeno es muy pobre, favoreciendo así la organogénesis del embrión, la proliferación de la placenta y la angiogénesis placentaria. En etapas posteriores de la gestación son necesarias mayores concentraciones de oxígeno para soportar el rápido crecimiento del feto. Esta transición se produce gracias a la placenta, y debe hacerse de forma adecuada para garantizar el éxito de la gestación. Las fluctuaciones en las concentraciones placentarias de oxígeno son un potente estímulo para la generación de EO, incluso superior a la hipoxia por sí sola. Por ello, complicaciones placentarias en la gestación, como es el caso del CIR y la preeclampsia en las que se afecta el crecimiento fetal, pueden ser debidas al EO ocasionado en la placenta y en el retículo endoplásmico (Burton et al, 2009 a).

Como se ha sugerido anteriormente, los niveles disminuidos de oxígeno en la circulación feto-placentaria se asocian a numerosas complicaciones en el embarazo, como el CIR y la preeclampsia. Estos hechos están relacionados no sólo con patología en la etapa perinatal, sino que incluso se han asociado a la salud cardiovascular del

individuo adulto. La privación de oxígeno prenatal afecta negativamente a la función vascular y a su estructura. Existen muchos factores que intervienen en el grado de EO de los RN prematuros, entre los que destacan la inmadurez pulmonar, el SDA deficiente, el contenido de hierro libre, la suplementación de oxígeno, el daño por isquemia y la reperfusión y niveles de NO aportados en la terapia. El EO puede contribuir a la formación de EROs y de especies reactivas del nitrógeno, y la consecuente oxidación de lípidos y ADN y la nitración de los residuos de tirosina de las proteínas (Ballard et al, 2008). Por otro lado, los RN con CIR también pueden presentar un aumento del EO, probablemente debido a una disminución en los niveles de antioxidantes, que aumentan la concentración de EROs. La programación de distintas rutas metabólicas, incluido el EO, puede ocurrir tanto en la vida prenatal como en la postnatal. Por ello, el oxígeno y el SDA pueden tener un papel fundamental en la programación perinatal de la enfermedad en la etapa adulta (Davidge et al, 2008).

Por otra parte, las posibles causas de crecimiento fetal alterado (excesivo o escaso) y de la prematuridad, se han asociado al EO, y posiblemente éste pueda estar relacionado con el elevado riesgo de patología que tienen estos niños. Podría actuar directamente a través de la modulación de la expresión génica, o a través de los efectos de moléculas oxidadas. Recientes estudios han demostrado que los ejes funcionales de la insulina y la TA pueden ser dianas en la programación fetal si hay insultos oxidativos (Luo et al, 2006). En las madres del RN con CIR normotensas, la patología de la placenta se centra fundamentalmente en el estrés del retículo endoplásmico, mientras que en casos de preclampsia, el EO es mucho mayor. Esto desencadena una liberación de citoquinas proinflamatorias y de factores anti angiogénicos en la circulación materna que pueden causar alteraciones (Burton et al, 2009 b). En los RN a término, la formación de las especies reactivas como los radicales superóxido, peróxido de hidrógeno e hidroxilo, provocan una regulación del SDA. Sin embargo, en los pretérmino parece que este mecanismo no sucede así, como refleja la escasa disponibilidad de antioxidantes y la presencia de productos de peroxidación lipídica en estos neonatos (Braake et al, 2008).

Los neonatos muy frecuentemente son expuestos a altas concentraciones de oxígeno, presentan infecciones y signos de inflamación, tienen reducida la capacidad de defensa antioxidante y presentan altos niveles de hierro libre (que mediante la reacción

de Fenton producen radicales libres tóxicos). Por todo ello los RN, especialmente los prematuros, son especialmente propensos a desarrollar EO. Este puede afectar a gran variedad de órganos y contribuye a la severidad de determinadas condiciones patológicas (Gitto et al, 2009). De hecho, es muy frecuente que los niños prematuros reciban, aunque no necesariamente requieran, VM con altas concentraciones de oxígeno; lo que puede favorecer la aparición de EO en estos neonatos (Braake et al, 2008).

Existen una serie de alteraciones que son más exclusivas de los RN prematuros que han precisado suplementación con oxígeno y VM para sobrevivir. Las EROs y las especies reactivas del nitrógeno incrementan la formación de grupos carbonilo estables en las proteínas que tanto directa como indirectamente producen reacciones de oxidación. Estos grupos pueden modificar la estructura, la funcionalidad y el metabolismo de las proteínas, y contribuir en determinados procesos patológicos. El anión superóxido interacciona con el NO endógeno para formar peroxinitrilo, que es una molécula reactiva que modifica proteínas, lípidos y ADN, y que puede alterar su función. Además, las especies reactivas del nitrógeno se pueden generar en determinadas patologías, por la oxidación del nitrato (uno de los productos estables del metabolismo del NO) o por la acción de las peroxidasas celulares inflamatorias. El EO está presente en la enfermedad pulmonar y responde al tratamiento con NO. Por ello, la generación de moléculas oxidativas contribuye a la patología del prematuro, en particular a la enfermedad pulmonar crónica. Existe asociación entre el contenido en carbonilo con la severidad de la patología, independientemente de la EG y del peso al nacimiento (Ballard et al, 2008). En los estados de hipoxia o isquemia, a partir del AMP se genera hipoxantina. Con la presencia de oxígeno, la hipoxantina se oxida a ácido úrico. En esta reacción se genera el ión superóxido, que puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno en presencia de hierro para producir el radical hidroxil, altamente reactivo. Este radical puede causar daño al ADN, originando la peroxidación lipídica y las bandas disulfuro de las proteínas. Además, los RL del oxígeno y del nitrógeno activan las células inflamatorias. Por ejemplo, en la BDP las altas concentraciones de oxígeno y la activación de las células inflamatorias originan esta patología (Rogers et al, 2000).

Patologías como la BDP, ROP, DAP, ECN, y HIV son muy frecuentes en los prematuros, y se ha sugerido que las EROs pueden presentar un papel fundamental. De hecho, el EO también puede intervenir en la patogénesis de la malnutrición adquirida (Gupta et al, 2004, Ballard et al, 2008). En muchos de los niños que nacen con CIR no existe una causa conocida pero existen factores como el tipo de nutrición fetal, la actividad de la placenta, el papel de las citoquinas proinflamatorias y el EO, que se están proponiendo como factores que pueden influenciar el desarrollo fetal y otros acontecimientos tras el nacimiento (Valsamakis et al, 2006). El CIR también puede ser inducido por modestos cambios prolongados en la dieta materna, o por cambios más severos intrauterinos. Todo ello lleva consigo un estrés celular en el que la actividad transcripcional del ADN trata de producir adaptaciones metabólicas (Sebert et al, 2011). Aunque se conoce muy poco de la función del EO en el crecimiento fetal, sí parece que interviene en la programación fetal (Luo et al, 2006).

Por otra parte, en la pubertad hay un aumento de los productos de lipoperoxidación que podrían influir en la aparición de EO en esta etapa de la vida. Este EO se ha asociado a la disminución progresiva de las funciones fisiológicas que ocurren con el avance de la edad. En la actividad de las enzimas del SDA se han observado cambios relacionados con la edad, incluso en los niños y adolescentes. De hecho, los marcadores de EO están aumentados en niños puberales frente a prepuberales. Este hecho puede ser debido a que en esta etapa de la vida puede haber un incremento en la síntesis de EROs frente al que el organismo intentaría una respuesta compensadora por medio de moléculas antioxidantes (Pérez-Navero et al, 2009). El EO está presente en los niños prepuberales que fueron CIR al nacimiento, tanto en los que alcanzaron el catch up de crecimiento en la infancia como en los que no. Por ello, el EO podría ser un marcador temprano de disfunción metabólica y de ECV en etapas posteriores de la vida. Recientemente una teoría llamada la “hipótesis del EO” ha surgido para explicar el origen de determinadas patologías en los niños CIR. El balance redox en la vida intrauterina puede modular la expresión génica, así como la función y proliferación de las células β pancreáticas y la TA (Mohn et al, 2007).

Por otra parte, en el origen de la diabetes tipo 2 puede intervenir el EO; la primera teoría propuesta presenta controversia (“thrifty phenotype”), por lo que se sugirió que la diabetes podría tener origen durante el desarrollo fetal, como el caso de la

reprogramación del eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal, islotes y vías de señalización de insulina. En la actualidad, la teoría que se contempla relaciona el EO con la diabetes, y en ella, la disfunción mitocondrial puede tener un papel crítico, especialmente en individuos que fueron CIR (Simmons et al, 2006).

Existe relación entre el EO con la inflamación y la aterogénesis. La suplementación con alimentos con propiedades antiinflamatorias modulan la inflamación y la oxidación, y modifica el estado metabólico de los sujetos con sobrepeso (Bakker et al, 2010). Los RN con CIR, debido fundamentalmente a la malnutrición, asocian un mayor riesgo de diabetes tipo 2, SM y ECV en la etapa adulta. La aterosclerosis es un fenómeno asociado a todas estas alteraciones y el EO y la inflamación crónica se consideran iniciales en su desarrollo. Los niños CIR expuestos a insuficiencia placentaria con disfunción endotelial muy temprana en la vida, tienen más predisposición a la aterosclerosis, y el desarrollo de EO e inflamación también puede estar relacionado con la posterior aparición de esta patología (Leduc et al, 2010).

En los CIR nacidos a término, así como en los niños y en los adultos jóvenes que fueron CIR se ha descrito disfunción arterial endotelial. La pérdida de la funcionalidad adecuada del endotelio junto con el descenso del NO, originan una marcada vasodilatación, fundamental para el desarrollo de la aterosclerosis. La mitocondria es la mayor fuente productora de EROs y el aumento de la producción de EROs se asocia con la disfunción de las células endoteliales, con la proliferación de las células del músculo vascular y con la apoptosis. Por tanto, en patologías como la obesidad, diabetes tipo 2, hiperglucemia, dislipidemia e HTA que asocian aterosclerosis también hay disfunción mitocondrial. Así, la programación fetal, resultado de la exposición crónica al EO e inflamación, puede implicar aterosclerosis (Leduc et al, 2010).

El EO puede ser la llave que una el CIR o la prematuridad con el aumento de factores de riesgo de SM, diabetes tipo 2 y otros desórdenes metabólicos en etapas posteriores de la vida (Luo et al, 2006). Incluso también podría serlo en el CER. Aunque es conocido que en los niños prematuros la morbilidad está asociada a la producción de RL (Arnon et al, 2009) y que el estrés prooxidativo es común de muchos factores de riesgo que se asocian frecuentemente con un crecimiento fetal alterado (escaso o excesivo), o con la prematuridad (Luo et al, 2006), no se ha estudiado este

fenómeno en el CER. De hecho, en la revisión bibliográfica efectuada no se ha encontrado ningún artículo que valore los marcadores de EO en estos niños con antecedentes de CER, ni que relacionen este EO con la morbilidad de estos sujetos.

II.7.2) El sistema de defensa antioxidante. Biomarcadores

En condiciones normales, las defensas antioxidantes existentes en el organismo son suficientes y adecuadas para prevenir un daño sustancial a los tejidos, sin embargo, si hay un exceso de estas sustancias oxidantes, una sobreproducción de RL, o una caída en el nivel de antioxidantes, se producirá un desequilibrio que podría provocar EO (Dalle-Donne et al, 2006). Un antioxidante sería toda aquella sustancia que, en bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del mismo. Los antioxidantes, al colisionar con un RL, le ceden un electrón oxidándose a su vez y transformándose luego en un RL débil no tóxico. Debido a que interactúan más rápido con los RL que con el resto de las moléculas presentes, impiden que otras moléculas se unan al oxígeno (Figura 15). Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al RL; por ello, la reposición de éstos debe ser continua, mediante la ingestión de los alimentos que los contienen.

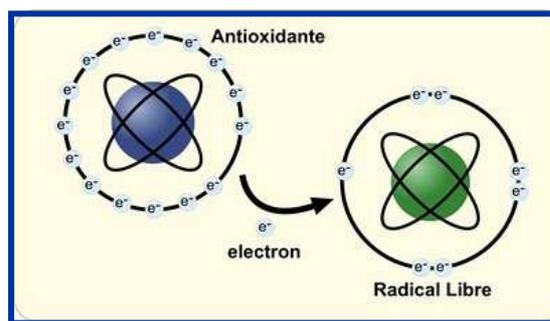


Figura 15. Mecanismo de acción de los antioxidantes.

Los antioxidantes pueden actuar previniendo la formación de EROs, interceptando el ataque de los mismos (en la mayoría de las ocasiones), secuestrando los metabolitos reactivos convirtiéndolos en moléculas menos reactivas, amplificando la

resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de EROs, facilitando la reparación del daño causado por EROs, o bien manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes (Gitto et al, 2009).

Para la preparación del ambiente extrauterino, las enzimas antioxidantes se expresan en grandes concentraciones al final de la gestación. La capacidad antioxidante de la sangre de cordón es el resultado de la vida intrauterina. Por ello, los RN pretérmino son muy vulnerables al EO. La variabilidad genética, el EO materno y el SDA de la madre pueden alterar la capacidad antioxidante de la sangre de cordón. Tras el nacimiento, las moléculas pertenecientes al SDA van a determinar como reaccionará el neonato ante el nacimiento, ya que el ambiente extrauterino presenta más estrés respecto a la vida intrauterina. En situaciones de EO, el SDA de los prematuros no va a poder prevenir el desarrollo de patología relacionada con la aparición de EROs, ya que estos neonatos presentan menor cantidad de antioxidantes que los RN a término (Rogers et al, 2000).

En relación con el CIR, una serie de estudios han valorado las enzimas del SDA en estos neonatos observando que los niveles de las mismas son muy bajos para defender al RN contra el EO en esta etapa (Hracsko et al, 2008; Kumar et al, 2008; Saker et al, 2008), lo que indicaría que el EO puede tener un papel importante en el CIR, ya que esta incrementado (Biri et al, 2007). En los estados de malnutrición, así como en la prematuridad, existen alteraciones en el SDA, ya que muchos antioxidantes son micronutrientes o dependen de ellos para su actividad (Kumar et al, 2008). Por ello, en el CER también podrían estar alterados los parámetros del SDA.

Los antioxidantes pueden clasificarse como: de *primer nivel*; evitando la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos capaces de efectuar la reducción tetravalente consecutiva sin liberar los intermediarios parcialmente reducidos. Esto lo logra con gran eficiencia el sistema citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial, responsable de más del 90 % de la reducción del oxígeno en el organismo humano. A este grupo pertenecen enzimas como la GPox y la GR, por ser la primera línea de defensa contra las EROs (Gupta et al, 2004). Los *de segundo nivel* lo constituyen enzimas especializadas en captar el radical anión superóxido como la SOD. Las *de tercer nivel* son un grupo de enzimas que neutralizan el peróxido de hidrógeno

(catalasa), las de *cuarto nivel* las forman el tocoferol y la vitamina C o ácido ascórbico, y las de *quinto nivel* son aquéllas que una vez producido el daño molecular, intervienen en la reparación.

No obstante, la forma más común de clasificar el SDA es en una serie de enzimas (SOD, catalasas, peroxidasas y reductasas), y por otro lado en agentes no enzimáticos; tanto de origen exógeno (vitaminas A, E y C, β caroteno), como de origen endógeno (glutación, albúmina, ácido úrico, bilirrubina, melatonina) (Gitto et al, 2009). La primera aproximación analítica para la medida del EO implica la medición directa de estos oxidantes en una muestra, pero esto sólo puede conseguirse con algunos RL. Cuando no es posible la medición directa de las especies radicálicas, se debe recurrir a métodos indirectos, que miden los diferentes parámetros del SDA.

II.7.2.1) Antioxidantes enzimáticos

- Catalasa

Tiene una amplia distribución en el organismo humano, y se localiza a nivel celular en las mitocondrias, peroxisomas y citosol. La catalasa participa en la eliminación del peróxido de hidrógeno, dando lugar a agua y a una molécula de oxígeno. Esta enzima ejerce una doble función, por un lado cataliza la reducción de peróxido en agua según la primera reacción que se muestra a continuación (Figura 16), y por otro oxida los donantes de grupos de hidrógeno como el metanol y el etanol, con el consumo de un mol de peróxido como se observa en la segunda reacción en la figura 16 (Goyal et al, 2010). Por tanto esta enzima posee actividad catalítica y peroxídica.

En relación con el CIR existen algunos estudios que han valorado la actividad de esta enzima en la etapa neonatal y en todos ellos parece que su concentración esta disminida en relación con los neonatos control (Hracsco et al, 2008; Kumar et al, 2008), aunque algunos trabajos defienden lo contrario (Biri et al, 2007). Sin embargo no se han encontrado trabajos que la evaluen en la etapa prepuberal, ni en los niños con antecedentes de CER.

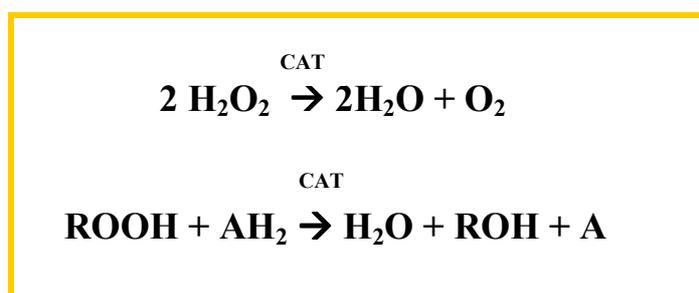


Figura 16. Reacciones de reducción y de oxidación catalizadas por la enzima catalasa.
CAT: Catalasa.

- Glutación reductasa (GR):

La GR es una flavoproteína NADPH-dependiente, que cataliza la reducción del glutati6n oxidado (GSSG) a glutati6n reducido (GSH), en presencia de NADPH y que actúa conjuntamente con otras enzimas (Figura 17), (Lim6n-Pacheco et al, 2010). Aunque existen muy pocos estudios que valoren esta enzima, parece que los neonatos con CIR presentan bajos sus niveles en eritrocitos (Saker et al, 2008). Sin embargo, en relaci6n al CER no existen trabajos.

- Glutati6n Peroxidasa (GPox)

Es una enzima antioxidante presente en todos los tejidos. Se localiza en citosol (eritrocitos), lisosomas (neutr6filos, macr6fagos y otras c6lulas del sistema inmune) (Giuigliano et al, 2000). Existen dos isoenzimas, una selenio dependiente y otra con acci6n independiente. Esta enzima cataliza la reducci6n del per6xido de hidr6geno y de los hidroper6xidos org6nicos (Figura 17) (ROOH, siendo R un radical arom6tico o alif6tico, o simplemente un hidr6geno), a agua y alcohol, respectivamente. Para ello utiliza el GSH como donante de electrones (cofactor). Esta enzima juega un papel importante en la detoxificaci6n de los lipoper6xidos que se generan en las c6lulas (Gitto et al, 2009).

Los estudios realizados en neonatos con CIR son contradictorios, ya que algunos autores defienden que los niveles de GPox en eritrocitos lisados son menores que en los

controles (Hracsko et al, 2008), mientras que otros opinan que se encuentran aumentados (Biri et al, 2007) o bien afirman que el desarrollo del CIR se podría asociar con el incremento placentario de la actividad de la GPox (Bosco et al, 2010). Sin embargo, todos coinciden en que los neonatos CIR presentan alterada la actividad enzimática del SDA de los eritrocitos (Saker et al, 2008). Por el contrario, esta actividad enzimática es desconocida en los neonatos y niños prepúberes con antecedentes de CER.

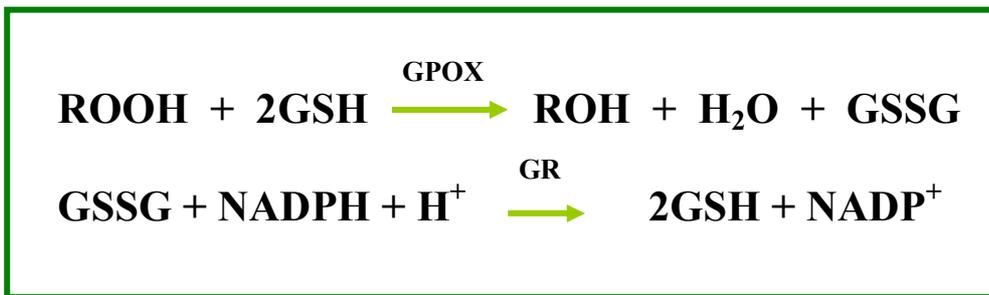


Figura 17. Reacción de reducción de los hidroperóxidos catalizada por la glutatión peroxidasa y reacción de reducción del glutatión catalizado por la glutatión reductasa.

GPOx: Glutatión peroxidasa. GR.: glutatión reductasa.

- Superóxidodismutasa (SOD)

Es la primera defensa contra el radical superóxido ya que cataliza su reacción de dismutación. Existen tres isoenzimas, cada una de ellas está ligada a un grupo prostético diferente: una clase con cobre y cinc (Cu-Zn-SOD) y las otras dos con hierro o manganeso (Fe-SOD, Mn-SOD). Esta enzima se localiza en el citosol del hígado y cerebro, y en menor cantidad en los hematíes del pulmón, en las mitocondrias y por último en el líquido intersticial y el plasma. La SOD elimina el radical superóxido convirtiéndolo en peróxido de hidrógeno. En presencia de hierro libre puede presentar una acción pro-oxidante, debiendo ser complementada su acción con otros sistemas como la GPox y la catalasa que eliminan este peróxido generando oxígeno y agua (Kumar et al, 2008), (Figura 18).

Los distintos autores no coinciden al valorar esta enzima en el neonato con CIR ya que algunos la encontraron disminuida (Hracsko et al, 2008; Kumar et al, 2008), y otros por el contrario aumentada (Biri et al, 2007) respecto a neonatos control. En relación con el CER no se encontraron trabajos que la estudiaran.

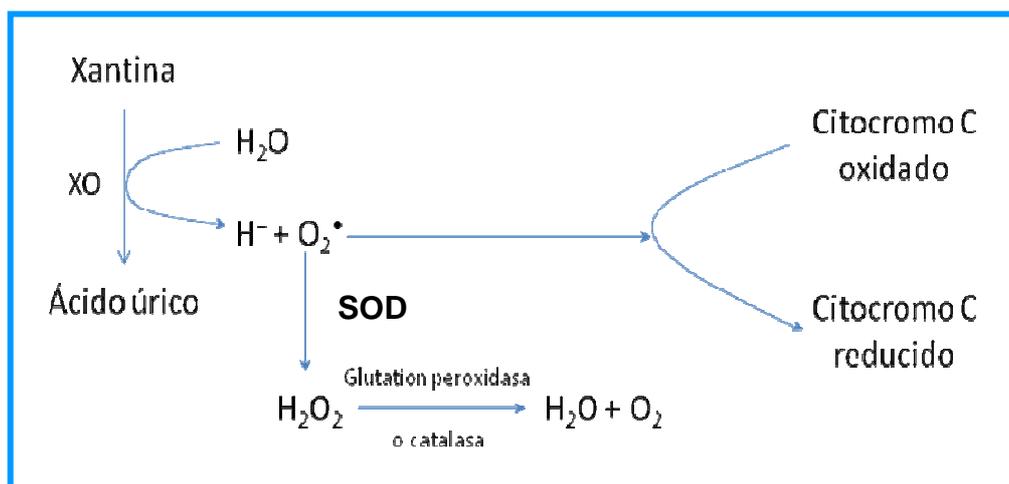


Figura 18. Reacción catalizada por la enzima superóxido dismutasa y eliminación de radicales libres por acción conjunta de las enzimas xantina oxidasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y/o catalasa.

SOD: Superóxido dismutasa. XO: Xantina oxidasa.

II.7.2.2) Antioxidantes no enzimáticos

II.7.2.2.1) Antioxidantes no enzimáticos endógenos

Destacan compuestos como el ácido lipoico, alopurinol, N-acetilcisteína, ácido úrico, glucosa y algunos elementos traza, como el cobre, zinc, manganeso, hierro y selenio. Uno de los antioxidantes más importantes es el GSH, que puede encontrarse en dos formas según su estado de óxido-reducción: como GSH o glutatión reducido, o como GSSG o glutatión oxidado. El GSH desempeña numerosas e importantes funciones metabólicas; una de ellas es la de proteger a la célula contra los radicales libres, los peróxidos y otros compuestos tóxicos, así como proteger frente al efecto nocivo de las radiaciones. Presenta un papel fundamental en gran cantidad de procesos celulares,

incluyendo la diferenciación y la proliferación celular así como la apoptosis (Ballatori et al, 2009).

Algunas de las alteraciones en la homeostasis del GSH están implicadas en la etiología y/o progresión de un gran número de patologías, como la ECV, la inflamatoria, la inmune y la metabólica. Los niveles plasmáticos de GSH y su estado de oxidación pueden ser debidos a la interacción de diversos factores, tanto heredados como adquiridos; en los que intervienen enzimas, transportadores, moléculas de señalización y factores de transcripción. La deficiencia de GSH se manifiesta a través de la susceptibilidad al EO, y como resultado origina daño celular, que se encuentra relacionado con determinadas patologías. Los niveles bajos de GSH disminuyen la capacidad antioxidante celular, y por el contrario, el aumento de su concentración plasmática incrementa la capacidad antioxidante y la resistencia al EO (Ballatori et al, 2009).

La mayoría de las células del organismo están equipadas con la maquinaria enzimática necesaria para sintetizar este tripéptido de glutamato, cisteína y glicina. Parece que comienza su actividad en el segundo trimestre del embarazo. En los prematuros la concentración de GSH se encuentra muy elevada en el momento del nacimiento, sin embargo, dichos niveles descienden inmediatamente hasta concentraciones significativamente menores que las encontradas en los RN a término. La escasez de sustrato en los pretérmino limita la síntesis de glutatión, por lo que la administración de aminoácidos temprana puede estimular su síntesis. De hecho, parece que también la administración de antioxidantes o de sus precursores en estos neonatos sería útil para prevenir el EO y la enfermedad asociada a este estado. Por otra parte, en los eritrocitos de los prematuros se ha descrito una gran conversión de GSSG a GSH, mientras que en los individuos adultos ocurre lo contrario (en condiciones normales el GSSG está en bajas concentraciones para proteger a la célula del equilibrio redox) (Braake et al, 2008).

II.7.2.2.2) Antioxidantes no enzimáticos exógenos

- Tocoferola o vitamina E

Es un antioxidante efectivo y que por su hidrofobicidad se encuentra en las membranas biológicas donde su protección es particularmente importante ya que previene su peroxidación lipídica (Kumar et al, 2008; Gitto et al, 2009). Al igual que la vitamina C o ácido ascórbico, es un agente tanto reductor como donador de electrones y es capaz de captar radicales del oxígeno y cortar la cadena de reacciones de los RL. De hecho, reacciona rápidamente con el radical OH^\cdot y el anión superóxido. Es el principal antioxidante en relación con el LDLc. Aunque en los prepúberes con antecedentes de CER no se han encontrado estudios que midan la concentración de tocoferol α , en los neonatos con CIR así como en los prepúberes con estos antecedentes, la mayoría de los autores señalan que los niveles plasmáticos de esta vitamina están reducidos respecto a controles sanos, por lo que presentan deficiencias en el SDA (Monh et al, 2007; Kumar et al, 2008).

- Vitamina A o retinol y β caroteno

La vitamina A (retinol) está involucrada en la regulación y promoción del crecimiento de muchas de las células del organismo y además mantiene la integridad de las células del tracto respiratorio. Parece que los prematuros presentan deficiencias en esta vitamina, y en los neonatos con CIR también se han observado los mismos hallazgos (Kumar et al, 2008). Por el contrario, sus concentraciones plasmáticas en los niños CER aún son desconocidas. El β caroteno, precursor de la vitamina A, es un antioxidante de naturaleza lipídica que también interviene en el sistema inmunitario (Gitto et al, 2009). En los prematuros parece que su concentración está disminuida (Rubin LP et al, 2011), sin embargo, hasta el momento ningún trabajo lo había valorado en los retrasos del crecimiento.

Además de los señalados anteriormente, que son los antioxidantes estudiados en este trabajo, destacan la vitamina C o ácido ascórbico; que es considerada uno de los biomarcadores más poderosos y quizá el menos tóxico de los antioxidantes naturales, así como los flavonoides; un gran grupo de antioxidantes polifenólicos.

Hasta el momento, como ya se ha comentado, los parámetros de oxidación no han sido estudiados en los niños CER, ni en la etapa neonatal ni en la infancia. Sin embargo, como se ha comentado, sí existen algunos trabajos que han valorado el EO en niños CIR y así como en prematuros. Parece que tanto en los CIR como en los RN grandes para su EG y en los prematuros, el balance oxidante/antioxidante está alterado, existiendo un mayor EO y un SDA disminuido (Saker et al, 2008; Kumar et al, 2008).

Metodología

III) METODOLOGÍA

III.1) DISEÑO EXPERIMENTAL

Se trata de un estudio prospectivo, descriptivo, analítico y observacional de tipo casos y controles realizado en el Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Reina Sofía (HURS) de Córdoba con la colaboración de la Unidad de Neonatología y del Servicio de Análisis Clínicos de este mismo centro, y del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada así como del IMIBIC.

El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética y por el de Investigación del HURS, siguiendo las normas internacionales para las investigaciones que utilizan muestras biológicas procedentes de seres humanos.

III.1.1) Sujetos

Para la realización de este trabajo se seleccionaron todos los niños que nacieron en el HURS entre el año 1996 y 2008, que fueron prematuros y presentaron un peso inferior o igual a 1500 gramos, y que estuvieron ingresados en la Unidad de Neonatología. Estos pacientes se obtuvieron desde el Servicio de Pediatría de este centro.

Se seleccionó de una base de datos de la Unidad de Metabolismo e Investigación Pediátrica, un grupo control de 123 niños sanos, de igual edad a la de los sujetos seleccionados en el estudio, que fueron RN a término y que no habían sufrido CIR ni CER, tras descartar ausencia de patología. Este grupo estuvo compuesto por un 52% de mujeres y un 48% de varones, en estado prepuberal (estadio Tanner grado I) (Tanner, 1962), sin retraso pondero/estatural y con desarrollo neurológico y rendimiento escolar normal.

Los padres ó tutores legales de los niños participantes en el estudio fueron informados detalladamente del estudio y aceptaron voluntariamente participar en el mismo firmando el consentimiento informado. De igual forma los niños estuvieron de acuerdo en participar.

III.1.2) Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

Se incluyeron en el grupo de casos, los niños que cumplían los siguientes criterios:

- Antecedentes de prematuridad y CER, con peso al nacimiento inferior o igual a 1500 gramos.
- Niños cuyo peso al nacimiento se encontrara por encima del p10 para su EG y género.
- Sujetos que presentasen un peso inferior al p3 en la semana 36 de EGC y/o al alta de Neonatología, definiendo así en este estudio el CER.
- Niños que no presentaban patología de base, salvo la consecuente a la prematuridad y CER.

Criterios de exclusión

- Niños que no fueron prematuros y/o que tenían un peso igual o superior a 1500 gramos.
- Niños cuyo peso al nacimiento se encontrara por debajo del p10 para su EG y género, definiendo así el CIR.
- Niños que presentaran en el momento del estudio alguna enfermedad de base genética o adquirida que pudiera alterar los resultados de los parámetros estudiados.

III.1.3) Selección de los sujetos participantes en el estudio

Se obtuvieron las historias clínicas de 86 RN desde la base de datos de la Unidad de Neonatología que cumplieron criterios de inclusión:

- 55 se consideraron CER en la semana 36 de EGC y al alta.
- 27 sujetos fueron CER en la semana 36 de EGC.
- 4 niños se clasificaron como CER al alta.

A pesar de que la condición de ser CER incluye peso menor ó igual al p3 en la semana 36 de EGC ó al alta de la Unidad de Neonatología indistintamente, en este

estudio sólo se seleccionaron los 55 sujetos que presentaban CER en la semana 36 de EGC y al alta de la Unidad de Neonatología, con el fin de tener una serie más homogénea y menos variabilidad, y consensuando en las diferentes definiciones de los autores.

Tras iniciar el estudio, se excluyó a un niño del que no se pudo obtener la historia clínica, que fue eliminado del estudio, y otro con síndrome de Down. Tras la selección de los 55 niños con CER, se contactó con los padres o tutores legales de los mismos, negándose 4 de ellos a participar. No se obtuvo respuesta de 7, probablemente por cambio en su dirección postal, por lo que se obtuvieron, finalmente, 44 participantes de ambos sexos.

Los niños se dividieron en dos grupos, teniéndose en cuenta para ello el desarrollo genital y del vello pubiano utilizándose las tablas de Tanner (Tanner, 1962). 38 sujetos estaban en estadio prepuberal y 6 niños fueron puberales (Figura 19). Para obtener los datos de los antecedentes de CER se estudiaron los de los 44 niños. Por otra parte, para la valoración de estos niños en edad escolar, y los análisis bioquímicos, se incluyeron únicamente los 38 sujetos prepuberales (Tanner I-II), ya que se consideró, como ha sido demostrado por nuestro grupo previamente, que la pubertad podría interferir en los resultados de los distintos marcadores metabólicos (Gil-Campos et al, 2011) y de EO (Perez-Navero et al, 2009).

Del total de seleccionados, dos niños aparentemente sanos con exploración normal presentaban antecedentes de patologías congénitas: uno de ellos con coartación de aorta corregida y el otro con diabetes insípida nefrogénica congénita en tratamiento y sin complicaciones. Ninguno de ellos fue excluido del estudio dado que estas patologías estaban controladas y el desarrollo ponderoestatural, la exploración física y el estudio bioquímico eran normales.

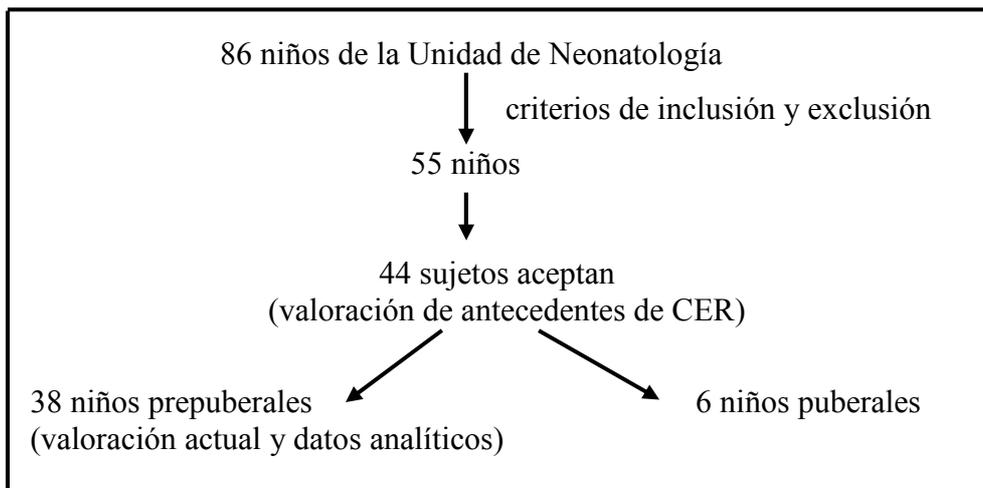


Figura 19. Selección de los sujetos participantes en el estudio.
CER: Crecimiento extrauterino retrasado.

III.2) TEMPORALIZACIÓN DEL ESTUDIO

La cronología del estudio se realizó de la siguiente forma:

- Mayo-Agosto 2009: Organización del proyecto de investigación así como la validación de la metodología para obtener los datos de la historia clínica, evaluación de los hábitos de vida, exploración física por sistemas y aparatos, determinación de los parámetros antropométricos, así como del muestreo y envío de muestras sanguíneas para estudio de los diferentes biomarcadores, en los diferentes centros con equipos ya establecidos. Para todo ello se realizó una primera revisión bibliográfica que ha sido actualizada a lo largo de la realización de la tesis doctoral.

- Septiembre- Diciembre 2009:

- a) Selección de los candidatos a participar en el estudio mediante revisión de historias clínicas.
- b) Recogida, en los sujetos seleccionados, de los datos de antecedentes de prematuridad y CER.
- c) Localización y citación de los participantes para la evaluación clínica, realizada por pediatras.

- d) Valoración nutricional de los niños con antecedentes de CER.
- e) Obtención, procesamiento y realización de alícuotas de las diferentes muestras sanguíneas.
- f) Determinación de hemograma y parámetros bioquímicos generales en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HURS, e inclusión en la base de datos.

- Enero 2010- Noviembre 2010:

- a) Análisis de adipoquinas, biomarcadores bioquímicos de inflamación y de oxidación en el del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada.
- b) Confección completa de la base de datos en excell.
- c) Estudio estadístico completo de todos los datos obtenidos, tanto de los datos de la etapa perinatal como los de los niños estudiados.
- d) Análisis de datos.

- Diciembre de 2010-Septiembre de 2011: Redacción del trabajo de tesis doctoral, así como de algunas publicaciones derivadas de los datos de este estudio, y presentación de diversas comunicaciones a Congresos Científicos (ver apartado Publicaciones).

III. 3) MÉTODOS

III.3.1) Historia clínica

III.3.1.1) Historia clínica de la etapa perinatal

Los datos de estas historias clínicas sólo se recogieron de los niños con antecedentes de CER, dado que los controles no estuvieron ingresados en la Unidad de Neonatología. La información reclutada se clasificó en distintas etapas. Los datos relativos a la gestación, al parto y al nacimiento se recogen en la tabla 5. La EG se había calculado utilizando la fecha del último periodo menstrual en las mujeres con ciclos regulares y/o mediante examen ecográfico. Los parámetros antropométricos estudiados fueron peso, longitud, perímetro craneal y perímetro torácico. El peso y la longitud vértice-talón habían sido determinados en las primeras 12 y 24 horas de vida, respectivamente. Para la selección

de los niños, se utilizaron las tablas de percentiles, correspondientes para edad, sexo y EG, de Carrascosa y colaboradores publicadas en 2008 (Carrascosa et al, 2008 c).

Tabla 5. Datos relativos a la gestación, al parto y al nacimiento de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

Datos relativos a la gestación, al parto y al nacimiento	
Gestación:	Edad materna Patología materna (hipertensión arterial, diabetes, preeclampsia...) Tipo de embarazo (único, múltiple) Número de embarazos anteriores (primípara, multipara)
Parto:	Fecha del parto Corticoides prenatales (hidrocortisona ó dexametasona antes del parto) Tipo de parto (cesárea, vaginal eutócico...) Eventos durante el parto
Nacimiento:	Tipo de reanimación del niño Puntuación Apgar (0-3; mal pronóstico, 3-6; sospecha de anoxia neonatal y 7-10;normal) Sexo del recién nacido Edad gestacional Antropometría

La etapa perinatal se valoró en la semana 36 de EGC y alta de Neonatología, estudiándose en la semana 36 el peso del niño y los días del mismo y al alta el peso y la EG. La información de las patologías asociadas a la prematuridad y a la condición de ser CER así como de las principales intervenciones realizadas a los sujetos durante su estancia neonatal y el total de días ingresados, se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Patología más frecuentemente asociada a la prematuridad y a la condición de presentar crecimiento extrauterino retrasado (CER) y principales intervenciones realizadas en los niños con antecedentes de CER.

Patología	Intervenciones
Enterocolitis necrotizante	Dosis de surfactante
Ductus arterioso permeable	Tipo y días de ventilación mecánica
Retinopatía del prematuro	Aporte de oxígeno
Enfermedad de membrana hialina	Transfusión de hemoderivados
Hemorragia intraventricular	Drogas vasoactivas y/o esteroides
Sepsis	Otros medicamentos de interés
Broncodisplasia pulmonar (secuela)	Días con nutrición parenteral
	Día de inicio de la nutrición enteral
	Día con máxima pérdida de peso
	Porcentaje de pérdida máxima de peso
	Días en recuperar el peso al nacimiento
	Total de días ingresado

III. 3.1.2) Historia clínica de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y grupo control

En cada uno de los sujetos del estudio, entrevistando a los padres y/o tutores legales, se realizó una historia clínica completa y una exploración física, incluyendo medidas antropométricas y la toma de TA, así como de encuesta de frecuencia de consumo alimentario para valorar el estado nutricional actual.

En la visita se recogieron tanto los antecedentes personales y familiares de primer y segundo grado como los hábitos de vida. Entre los antecedentes personales se obtuvo información sobre enfermedades relevantes padecidas y estado neurológico y desarrollo escolar. Los principales antecedentes familiares recogidos fueron diabetes, HTA, ECV, dislipidemia y obesidad. Se consideraron los hábitos de vida tanto como la actividad física. Esta misma información para el grupo de niños control se obtuvo de la base de datos previa.

A los progenitores de los niños con antecedentes de CER se les proporcionó información adecuada acerca esta situación perinatal y sus posibles implicaciones para

la salud y se siguieron atendiendo en la consulta a los niños que requerían un seguimiento médico especializado tras la realización de este estudio.

III.3.1.2.1) Antropometría y exploración física

Los datos antropométricos recogidos fueron: talla, peso, IMC y PC. Se realizó exploración física exhaustiva por sistemas y aparatos buscando patología de base o concomitante relacionada.

El peso y la talla fueron medidos en un peso/tallímetro ADE RGT-200, de HEALTH SCALE® (Max 200 Kg d 100 gr. III). El IMC o índice de Quetelet se calculó como el cociente de peso(Kg)/ talla(m)². Para evaluar el desarrollo pondero-estatural de cada niño se utilizaron tablas de crecimiento de la población infantil española (Hernández et al, 2002).

El PC se obtuvo con una cinta métrica flexible tomando como medida el diámetro intermedio entre la última costilla y la cresta ilíaca superior, al final de la espiración, y en cm.

III.3.1.2.2) Medida de tensión arterial

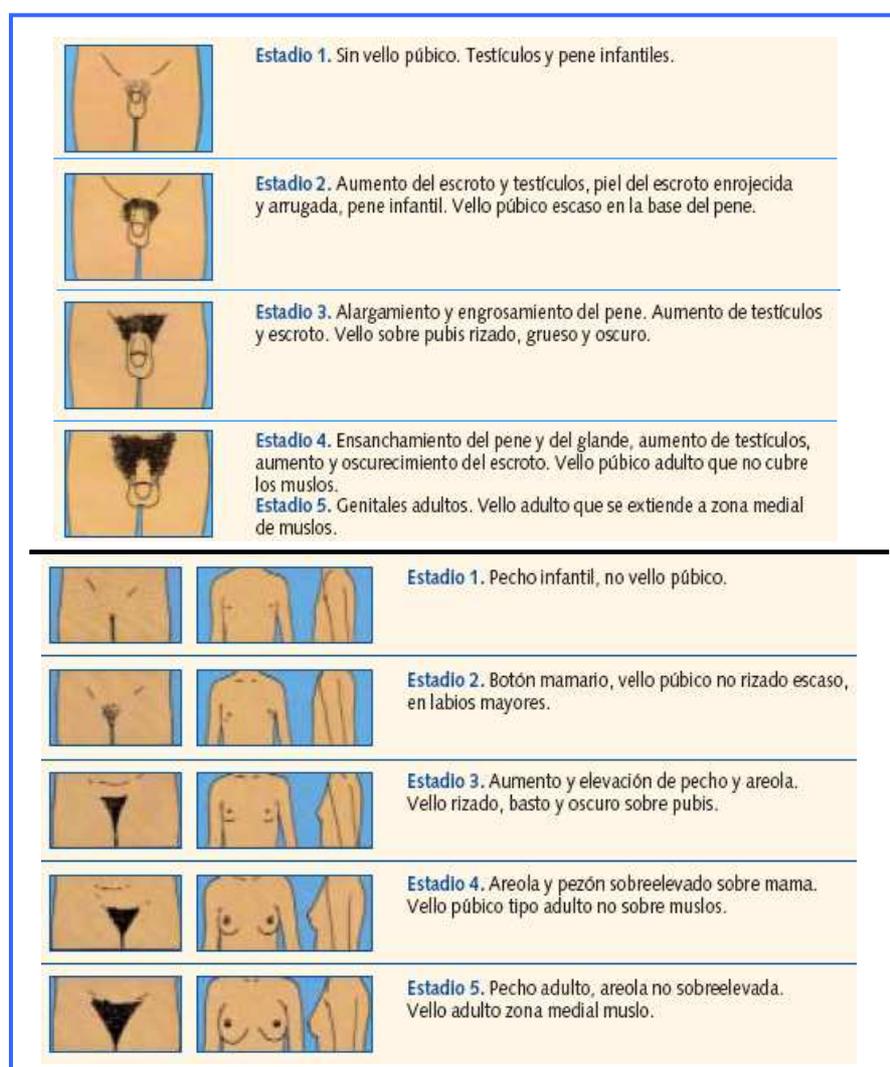
La toma de TA se realizó con un manómetro digital OMR® ON M+ 3 PLUS, por duplicado, en decúbito supino, y tomando el brazo izquierdo con un manguito de tamaño apropiado a la edad del sujeto. De este modo se obtuvo la TAS y la diastólica (TAD) en milímetros de mercurio (mmHg). Se establecieron los percentiles de las mismas en función de la edad y el género de los sujetos según las gráficas del “National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents” de 2004.

III.3.1.2.3) Maduración sexual

Para evaluar el estado de desarrollo puberal de forma objetiva, se utilizaron las tablas diseñadas por Tanner (Tanner, 1962), clasificando en 5 grados el desarrollo sexual;

grados I y II que corresponderían a niños prepuberales, y grados III-V a puberales (Tabla 7).

Tabla 7. Maduración sexual en los niños (arriba) y niñas (abajo). Modificado de Tanner (1962).



III.3.1.2.4) Valoración nutricional

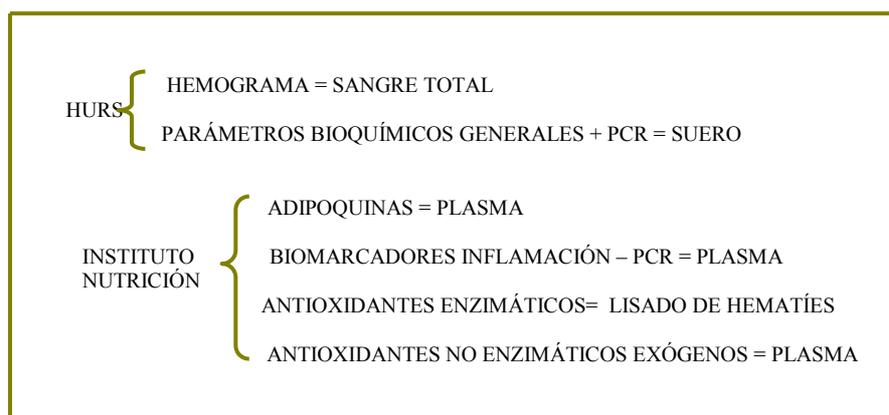
Se realizó una encuesta dietética de frecuencia de consumo para obtener información sobre los hábitos alimentarios. El modelo utilizado fue una encuesta normalizada del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada (Mataix et al, 1994). La ingesta energética diaria y la composición de la dieta por macronutrientes se calcularon mediante un programa informático, realizando una aproximación entre los datos de la encuesta normalizada de frecuencia de consumo y las tablas de composición de los alimentos españoles (Carbajal, Programa kellogg's).

Además se estudió la composición de la dieta por grupos de alimentos y raciones. La información obtenida de la encuesta de frecuencia de consumo se comparó con los datos de la guía para una alimentación saludable del consenso de la SENC (Sociedad Española de Nutrición Comunitaria) publicados en 2004, ya que estos datos vienen expresados en rangos de edad y están adaptados a la población española, por lo que se consideraron los más adecuados para la comparación de los niños participantes en el estudio. Esta guía está publicada en el Tratado de Nutrición de A. Gil (2010).

III.3.2) Toma de muestras

La extracción de muestras sanguíneas para analítica se realizó en la sala de extracciones del Hospital Materno-Infantil del HURS de 9 a 10 am, tras un ayuno de 12 horas. Se extrajeron a cada niño muestras, desde la vena antecubital, en un tubo de vacío Vacutainer® para suero (anticoagulante heparina de litio) y otro tubo de vacío para sangre total (con EDTA-Na₂; ácido etilendiaminotetraacético sódico, como anticoagulante), ambos de 4 ml, para la realización de determinaciones en el Laboratorio de Bioquímica Clínica y para hemograma en el Laboratorio de Hematología, respectivamente, ambos en el HURS (Tabla 8). Se realizaron en un tiempo inferior a cuatro horas desde el momento de la extracción de la muestra.

Tabla 8. Organización de laboratorios y tipo de muestra.



EO: Estrés oxidativo. HURS: Hospital Universitario Reina Sofía.
 PCR: Proteína C reactiva.

Al mismo tiempo, se extrajo a cada niño un tubo de vacío para plasma (de 4 ml con EDTA-Na₂ como anticoagulante) para las determinaciones que se realizaron en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada. El procedimiento seguido fue el siguiente: La sangre se centrifugó a 3500 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos a 4 °C en una centrífuga de mesa. Se recogió el plasma con ayuda de una pipeta Pasteur y se guardaron distintas alícuotas en tubos eppendorff a -80 °C para posteriores análisis de adipoquinas, marcadores de inflamación y del SDA en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada (Tabla 8). El pellet de eritrocitos se utilizó para la determinación de los biomarcadores de EO, una vez lavados y lisados adecuadamente. Estos hematíes lisados también se congelaron a -80°C. El proceso de lisado fue:

- Lavado de los eritrocitos 3 veces con cloruro sódico 153 mmol/L (0.9 %), eliminando la capa de leucocitos (interfase). Con este proceso se pretende la purificación de la muestra y el aislamiento los hematíes.

- Se centrifuga a 3500 rpm, 10 minutos a 4°C, en cada lavado.

- Se congela a -80 °C el pellet de eritrocitos resuspendido en el mismo volumen de agua destilada hasta su posterior uso. En este paso se produce un choque hipotónico, asegurándonos su lisis.

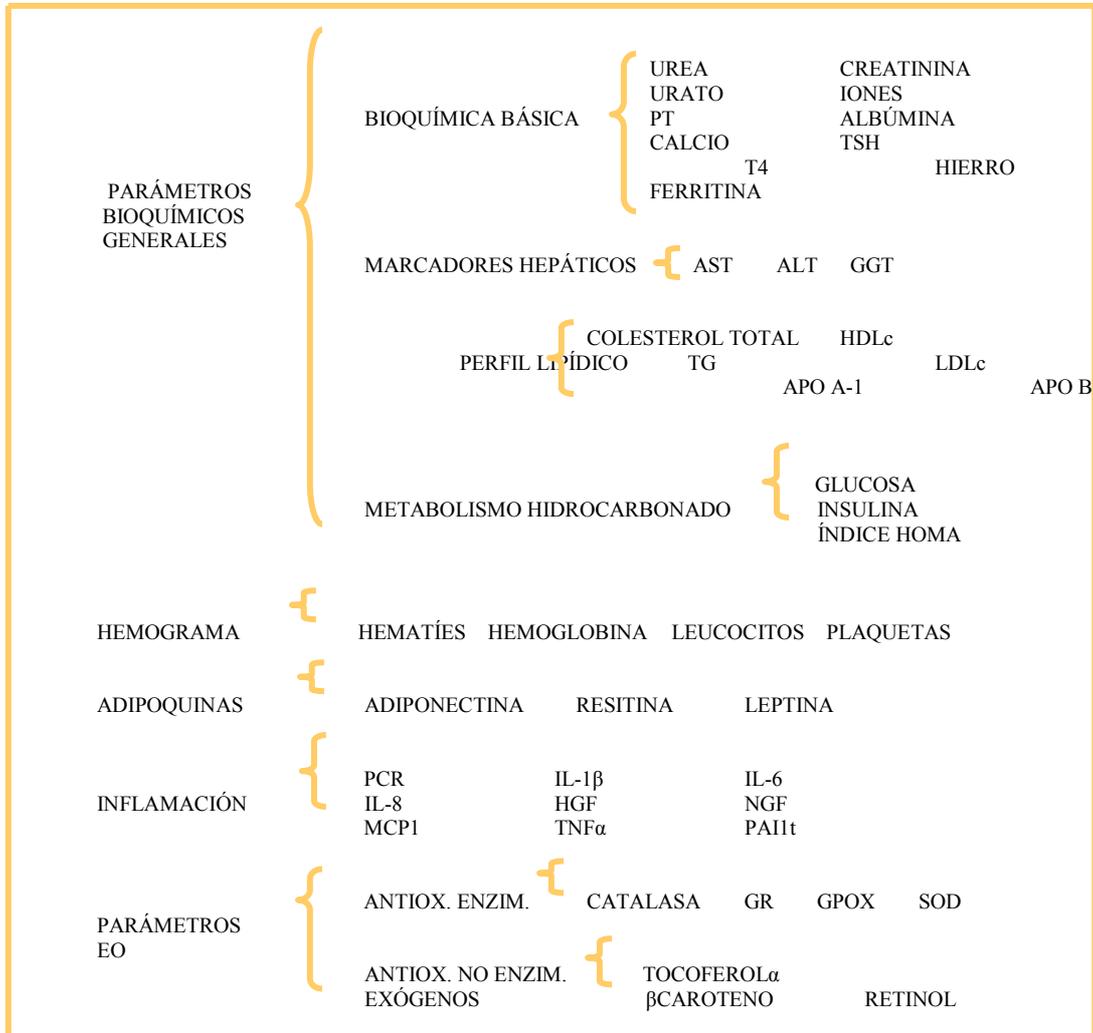
- Se determina la hemoglobina del sobrenadante por el método de Drabkin's (Crosby et al, 1954) y se ajusta con agua destilada hasta 20 g /L.

- En el momento de su determinación, se añade 100 µL de reactivo de Drabkin's a 100 µL de hemolizado para que la hemoglobina pase a cianometahemoglobina estable. (2-3 min).

- A continuación se diluyen los hemolizados con tampón fosfato 100 mmol/L, pH 7 hasta una concentración de 10 g/l. La concentración de hemoglobina dependerá de la enzima que se vaya a determinar.

A todos los niños participantes en el estudio se les realizó la siguiente analítica que se esquematiza en la tabla 9.

Tabla 9. Esquema general de los distintos perfiles analíticos realizados en este estudio.



ANTIOX.: Antioxidante. AST: Aspartato aminotransferasa. ALT: Alanina aminotranferasa. Apo A-1: Apoproteína A-1. ApoB: Apoproteína B. ENZIM.: Enzimático. EO: Estrés oxidativo. GGT: Gamma-glutamyl tranferasa. GPOX: Glutación peroxidasa. GR: Glutación reductasa. HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. HGF: Factor de crecimiento hepático. IL 1β: Interleuquina 1 beta. IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. Índice HOMA: Índice de resistencia a insulina. LDLc: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. PT: Proteínas totales. SOD: Superoxido dismutasa. TG: Triglicéridos. TNFα: Factor de necrosis tumoral alfa. TSH: Hormona estimulante del tiroides. T4: Tiroxina.

III. 4) INSTRUMENTACIÓN

- **Autoanalizador de bioquímica Architect c16000 de Abbott Diagnostics®.** Utiliza las tecnologías SmartWash™, que garantiza la calidad de los resultados, e Integrated Chip Technology™, para la cuantificación de los iones (Figura 20A). Aquí se realizan las determinaciones séricas de urea, creatinina, ácido úrico, iones (sodio, potasio y cloruro), proteínas totales (PT), albúmina, calcio, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gamma-glutamil transferasa (GGT), colesterol total, colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDLc), triglicéridos (TG), apoproteína A-1 (Apo A-1), apoproteína B (Apo B), hierro, glucosa y PCR (Abbott Diagnostics España).

El principio de medida, conocido con el término técnica, sería la base científica de una medición y el procedimiento de medida el conjunto de operaciones que son descritas de forma específica y utilizadas en la ejecución de mediciones particulares según un método dado. Para este último se usa más frecuentemente el término método analítico. La sensibilidad de un método se expresa mediante dos parámetros; límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC). El LD podría definirse como la mínima concentración de analito que puede medirse y el LC como la mínima concentración de analito que puede cuantificarse con exactitud y precisión mayores al 20%. La precisión, diferencia entre la concentración analizada y la real, se expresa como coeficiente de variación (CV), puede ser intra- o inter-día (intra- e inter-ensayo, respectivamente). Esta última se valora durante tres días diferentes. Debe ser inferior a 15%.

- **Autoanalizador de hormonas Architect i2000SR de Abbott Diagnostics®.** Utiliza la tecnología CHEMIFLEX®, que combina quimioluminiscencia con un nuevo derivado de Acridinio. Se realizan las determinaciones séricas de hormona estimulante del tiroides ó tirotropina (TSH), tiroxina (T4), ferritina e insulina (Figura 20B) (Abbott Diagnostics España).

- **Advia 120 Hematology System de Bayer®.** Se utilizó para la realización del hemograma (series roja, blanca y plaquetaria) con sangre total extraída a los pacientes (Figura 20C).

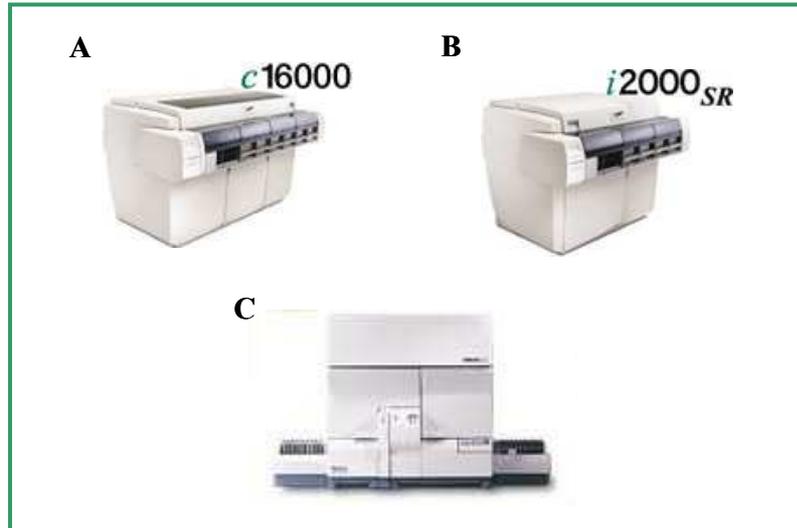


Figura 20. Autoanalizadores Architect c16000 (A) e i2000SR (B) de Abbott Diagnostics®, y equipo Advia 120 Hematology System (C) de Bayer®.

- **Luminex® X MAP™ Technology Labscan™ 100.** Este citómetro (Figura 21) de flujo utiliza plasma para las determinaciones de IL-1 β , IL-6, IL-8, HGF, NGF, MCP1, TNF α , PAI1t, adiponectina, resistina y leptina en placas filtrantes de 96 pocillos. Posee un sistema de detección simultánea multi-analitos (tecnología multiplex, para la medida simultánea de varios analitos) y utiliza kits de ensayo LINCOpex. Milliplex™ MAP esta basado en la tecnología Luminex® X MAP™ (Figura 22). Cada kit utilizado ha sido validado para sensibilidad, recuperación, linealidad, precisión y especificidad. Todos los analitos han sido testados individualmente y en combinación para asegurar su compatibilidad con el sistema multiplex (Millipore technical protocols).



Figura 21. Equipo Luminex® X MAP™.

La tecnología Luminex® X MAP™ consiste en un inmunoensayo en la superficie de una microesfera de polietileno de 5,2 μm marcada con una fluorescencia específica que le da una combinación concreta de dos fluorocromos (la utilización de diferentes proporciones de estos fluorocromos permite colorear de distinta manera la microesfera pudiendo crear hasta cien tipos diferentes de las mismas). La superficie de esta microesfera se cubre con un anticuerpo de captura específico. A continuación el analito de la muestra es capturado por la misma y se introduce un anticuerpo de detección marcado con biotina. Esta mezcla de reacción se incuba con un conjugado de Estreptavidina-Ficoeritrina (molécula “reportera”) para completar la reacción en la superficie de la microesfera. Así la microesfera puede pasar rápidamente a través de un diodo láser que excita el primer fluorocromo (rojo e infrarrojo) a 635 nm. Un segundo láser excita al segundo (naranja) a 523 nm. Finalmente, la señal de cada microesfera es identificada y cuantificada. El cálculo de la concentración plasmática de cada analito en la muestra se extrapola gracias a la cuantificación de la intensidad media de fluorescencia de cada estándar gracias a una regresión logística o tipo spline de cinco parámetros (Kellar et al, 2001; Kellar et al, 2003).

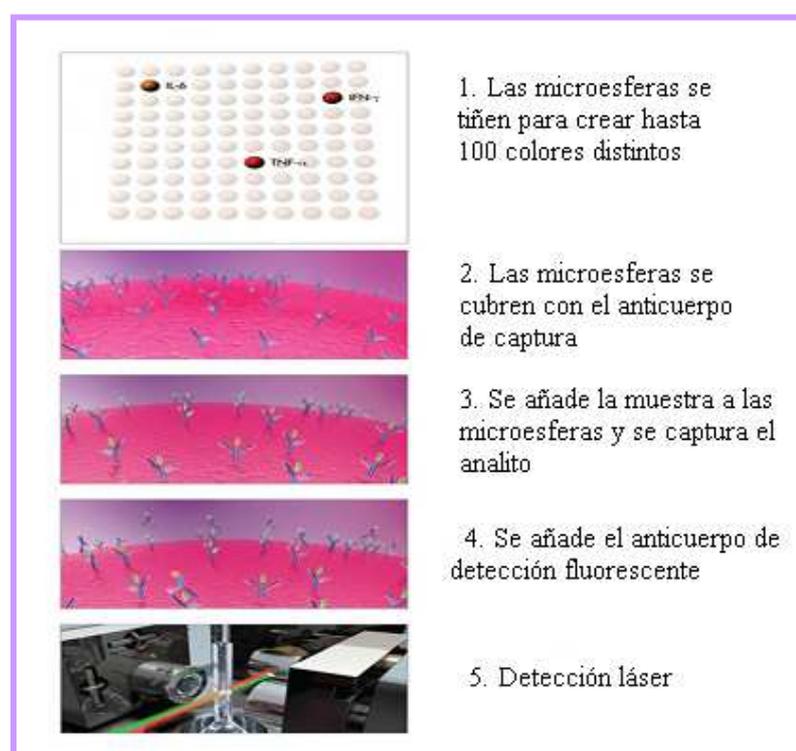


Figura 22. Esquema de la tecnología Luminex® X MAP™.

- **Lector de microplacas Synergy HT de BIO-TEK®.** Se realizan las determinaciones de las enzimas del SDA con las que se valora el EO y la determinación de hemoglobina a 540 nm (necesaria para el cálculo de la concentración de las enzimas). Se cuantificaron catalasa, GR, GPox y SOD. El principio de medida es por colorimetría, la concentración de los distintos marcadores de EO viene dada por extrapolación de la absorbancia en una curva patrón realizada a partir de estándares conocidos. Para cuantificar hemoglobina y SOD se utilizaron microplacas transparentes en U y para catalasa, GR y GPox placas falcon. La muestra utilizada fueron eritrocitos lavados y lisados.

- **Cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) W 2695 de Waters ® con detector de fotodiodos 996 de Waters ® y detector de fluorescencia 474 de Waters ®.** Se utiliza esta metodología para la determinación plasmática de los antioxidantes no enzimáticos exógenos; β caroteno y vitaminas (retinol y tocoferol α). Para la cuantificación de β caroteno se utiliza la columna Nova-Pak® C18 Cartridge, 4 μ m, 4.6 x 250 mm [WAT052840] y la precolumna Nova-Pak® C18 Guard Column 4 μ m 3.9x20mm 2/pkg [WAT044380]. Las vitaminas se analizaron con la columna Nova-Pak® C8 Cartridge, 4 μ m, 4.6 x 150 mm [WAT052855] y la precolumna Nova-Pak® C8 Guard Column 3.9x20mm, 2/pkg [WAT046830].

III.5) PARÁMETROS BIOQUÍMICOS GENERALES

III.5.1) Bioquímica básica

- Urea:

- *Principio de medida:* Cinético enzimático; técnica de la ureasa. Modificación del procedimiento enzimático total descrito por primera vez por Talke y Schubert (Talke et al, 1965). Reacción cinética en el que la primera parte del ensayo es lineal por un periodo limitado de tiempo. Bicromática: 340 y 380 nanómetros (nm) (Tietz, 1995).
- *Procedimiento de medida:* La urea de la muestra es hidrolizada, en una primera reacción, por la enzima ureasa a amonio y dióxido de carbono. La segunda reacción está catalizada por la glutamato deshidrogenasa, que convierte el amonio y el α -cetoglutarato en glutamato y agua gracias a la oxidación de la

adenina nicotinamida dinucleótido reducido (NADH) a adenina dinucleótido reducido (NAD). 2 moles de NADH se oxidan por cada mol de urea presente en la muestra. La disminución de absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de urea contenida en la muestra.

- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia en niños:* 7-16,8 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=0,7 mg/dL y LC=1,4 mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 4,5% (CV intra-ensayo 1% y CV inter-ensayo 2,8%).

- **Creatinina:**

- *Principio de medida:* Cinético; se cuantifica por colorimetría (fotometría). Técnica bicromática (500 y 572 nm) del picrato alcalino (reacción de Jaffe). Fue descrita por Larsen. Folin utilizó esta reacción para la cuantificación de creatinina en orina (Folin et al, 1904). Fabiny y Soldin mejoraron la técnica para que no fuese necesaria la desproteinización de la muestra y que se redujesen las interferencias por las proteínas séricas (Fabiny et al, 1971; Soldin et al, 1978).
- *Procedimiento de medida:* A pH alcalino gracias a una base fuerte como el hidróxido sódico, la creatinina de la muestra reacciona con el picrato para formar un complejo creatinina-picrato que posee un color rojo. El incremento de absorbancia mientras se forma este complejo es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.
- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia en adultos, varones* de 0,72-1,25 mg/dL *y mujeres* de 0,57-1,11 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=0,05 mg/dL y LC=0,1 mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 6% (CV intra-ensayo 1,61% y CV inter-ensayo 7,85%).

- **Ácido úrico (urato):**

- *Principio de medida:* Técnica de la Uricasa/Peroxidasa/Cromógeno. Es una técnica enzimática, directa, bicromática (548 y 700 nm) y a punto final. Basada en la descrita por Trivedi y Kabasakalian (Kabasakalian et al, 1973; Trivedi et al, 1978). Fossati describió la reacción enzimática utilizando uricasa con punto final (Fossati, 1980).
- *Procedimiento de medida:* El ácido úrico contenido en la muestra se oxida a alantoína gracias a la uricasa. En esta reacción se produce peróxido de hidrógeno, que reacciona con el 4-aminoantipirina y con el ácido 2,4,6-tribromo-

3-hidroxibenzoico. El cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de urato en la muestra.

- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia en niños:* 2-5,5 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=0,2 mg/dL y LC=0,25mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 4% (CV intra-ensayo 0,8% y CV inter-ensayo 2,5%).

- Iones (sodio, potasio y cloruro):

- *Principio de medida:* Potenciometría indirecta con electrodo ion-selectivo (Tietz, 1995).
- *Procedimiento de medida:* El electrodo ion-selectivo responde selectivamente a dichos iones de acuerdo con la ecuación de Nerst. La muestra se mezcla con un tampón determinado para conseguir un pH y una solución de concentración iónica constantes. A medida que se desplaza la muestra tamponada por el electrodo ion-selectivo, se producen cambios en el potencial eléctrico que se miden con respecto al potencial de un electrodo de referencia para calcular el valor analógico correcto para esa muestra.
- *Unidades:* mmol/L. *Rango de referencia en adultos:* 135-150 mmol/L para sodio, 3,5-5 mmol/L para potasio y 95-110 mmol/L para cloro.

- Proteínas totales (PT):

- *Principio de medida:* Químico (fotométrico). Modificación de la reacción de Biuret, presentada por primera vez por Kingsley, posteriormente cambiada por Henry, que la presentó como método de elección para la cuantificación de PT en suero (Kingsley et al, 1942; Dawnay et al, 1991; Kaplan et al, 1996). Bicromática (572 y 660 nm).
- *Procedimiento de medida:* Este método incluye el uso de tartrato como ligando para evitar la precipitación del hidróxido cúprico. El ión cúprico reacciona con los enlaces peptídicos de la proteína en una solución básica. El complejo proteínico azul de cobre (II) formado es proporcional a la concentración de PT de la muestra que se mide a punto final.
- *Unidades:* g/dL. *Rango de referencia en niños:* 6-8 g/dL. *Sensibilidad:* LD=0,5 g/dL y LC=0,76 g/dL. *Precisión:* CV total \leq 3% (CV intra-ensayo 0,8% y CV inter-ensayo 3,2%).

- Albúmina:

- *Principio de medida:* Colorimétrico (fotometría con reacción a punto final. Técnica bicromática (628 y 700nm) del colorante verde de bromocresol. Se basa en el método descrito por Doumas, Watson y Biggs (Doumas et al, 1972; Burtis et al, 1994).
- *Procedimiento de medida:* La albúmina presente en la muestra se une cuantitativamente al colorante verde de bromocresol para formar un complejo albúmina-colorante coloreado. La absorbancia del complejo a 628 nm es directamente proporcional a la concentración de albúmina en la muestra.
- *Unidades:* g/dL. *Rango de referencia* en niños: 3,8-5,4g/dL. *Sensibilidad:* LD=0,31 g/dL y LC=0,31 g/dL. *Precisión:* CV total \leq 3,3% (CV intra-ensayo 0,8% y CV inter-ensayo 1,6%).

- Calcio y calcio corregido:

En sangre aproximadamente el 50% del calcio plasmático es libre, mientras que el 40% está unido a proteínas y el 10% forma parte de otros complejos. Aproximadamente el 80% del calcio unido a proteínas está asociado a la albúmina, estando el 20% restante asociado a globulinas. El calcio corregido se calcula con la siguiente fórmula, evitando así valores falseados por la concentración de proteínas plasmáticas (Yagüe et al, 1994).

$$\text{Calcio corregido} = (4 \text{ g/dL} - \text{albúmina sérica}) * 0,8 + \text{calcio sérico}.$$

Tradicionalmente el calcio ha sido siempre difícil de medir con gran precisión y exactitud, por lo que se ha desarrollado una gran variedad de métodos, como la fotometría de llama, precipitación con oxalato, absorción atómica, quelación con EDTA y más recientemente la formación de complejos medidos por espectrofotometría, como la técnica que se describe a continuación (Burtis et al, 2001).

- *Principio de medida:* Colorimétrico (fotometría). Técnica de la O-cresoltaleína complexona, modificación de la reacción originalmente descrita por Schwartzenbach y posteriormente adaptada por Stern y Lewis. Es una técnica bicromática (660 y 700 mn) (Stern et al, 1957).
- *Procedimiento de medida:* El calcio presente en la muestra reacciona con la O-cresoltaleína complexona para formar un complejo púrpura-azulado. La cantidad de complejo que se forma es proporcional a la concentración de calcio,

que se mide a punto final.

- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* en niños: 8,8-10,8 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=0,5 mg/dL y LC=1 mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 3% (CV intra-ensayo 0,8% y CV inter-ensayo 1,7%).

- *Hormona estimulante del tiroides o tirotropina (TSH):*

- *Principio de medida:* Quimioluminiscencia. El ensayo consiste en un inmunoensayo tipo sandwich en dos pasos con quimioluminiscencia directa (en micropartículas) y con cantidades constantes de dos anticuerpos para determinar la presencia de TSH en suero usando la tecnología enzimoimmunoensayo en un paso de micropartículas con quimioluminiscencia (CMIA) (Hay et al, 1991).
- *Procedimiento de medida:* En un primer paso la muestra, micropartículas paramagnéticas cubiertas de anticuerpo anti- β TSH y un diluyente se combinan. La TSH presente en la muestra se une a los anticuerpos anti-TSH de las micropartículas, y a continuación se producen varios lavados. En un segundo paso se añade un conjugado de anti- α TSH marcado con éster de acridinio (reactivo lumínico). Además se añaden las soluciones y finalmente, el resultado es la producción de quimioluminiscencia. Existe una relación directa e inversa entre la cantidad de TSH en la muestra y la cantidad de unidades relativas de luz (URL) detectadas por el sistema.
- *Unidades:* mU/L. *Rango de referencia* en niños: 0,35-4,94 mU/L. *Sensibilidad:* LC=0,01 μ U/mL. *Precisión:* CV total \leq 10%.

- *Tiroxina ó T4 libre:*

- *Principio de medida:* Quimioluminiscencia. Esta técnica consiste en un inmunoensayo competitivo con quimioluminiscencia directa en micropartículas para determinar la presencia de T4 libre en suero usando la tecnología CMIA (Sturgess et al, 1987).
- *Procedimiento de medida:* En un primer paso la muestra, micropartículas paramagnéticas cubiertas de anticuerpo anti-T4 y un diluyente se combinan. La T4 libre presente en la muestra se une a los anticuerpos anti-T4 de las micropartículas, y a continuación se producen varios lavados. En un segundo paso se añade un conjugado de triyodotironina (T3) marcado con éster de acridinio (reactivo lumínico). Además se añaden las soluciones y finalmente, el

resultado es la producción de quimioluminiscencia. Existe una relación directa e inversa entre la cantidad de T4 libre en la muestra y la cantidad de URL detectada por el sistema.

- *Unidades:* ng/dL. *Rango de referencia* en niños: 0,7-1,48 ng/dL. *Sensibilidad:* LC=0,4 ng/dL. *Precisión:* CV total \leq 10%.

- Hierro:

- *Principio de medida:* Colorimétrico directo a punto final (fotometría). El hierro sérico se ha determinado por muchos métodos espectrofotométricos, incluyendo la técnica de la ferrocina. Es una técnica bicromática (604 y 660 nm) (Artiss et al, 1981; Siedel et al, 1984).
- *Procedimiento de medida:* Se utiliza un ácido cuya función es liberar (disociar) el hierro férrico de su proteína transportadora, la transferrina. Así este hierro férrico se reduce a la forma ferrosa, en este paso también contribuye la acción de la hidroxilamina hidroclorehidra. El hierro ferroso reacciona con el cromógeno ferrocina, un indicador sensible al hierro, formando un complejo coloreado. La absorbancia del mismo es proporcional a la concentración de hierro presente en la muestra. Se añade tiourea y un detergente para prevenir la interferencia con el cobre y la turbidimetría.
- *Unidades:* $\mu\text{g/dL}$. *Rango de referencia* en adultos: 31-144 $\mu\text{g/dL}$ para hombres y 25-156 $\mu\text{g/dL}$ para mujeres. *Sensibilidad:* LD=1,3 $\mu\text{g/dL}$ y LC=5,4 $\mu\text{g/dL}$. *Precisión:* CV total \leq 4,7% (CV intra-ensayo 0,8% y CV inter-ensayo 1,7%).

- Ferritina:

- *Principio de medida:* Quimioluminiscencia. Consiste en un inmunoensayo en dos pasos con quimioluminiscencia directa en micropartículas para determinar la presencia de ferritina en suero usando la tecnología CMIA (Forman et al, 1980).
- *Procedimiento de medida:* En un primer paso la muestra y las micropartículas paramagnéticas cubiertas de anticuerpo anti-ferritina se combinan. La ferritina presente en la muestra se une a los anticuerpos anti-ferritina de las micropartículas, y a continuación se producen varios lavados. En un segundo paso se añade un conjugado de anti-ferritina marcado con éster de acridinio (reactivo lumínico). Finalmente el resultado es la producción de quimioluminiscencia. Existe una relación directa entre la cantidad de ferritina en

la muestra y la cantidad de URL detectadas por el sistema.

- *Unidades:* ng/mL. *Rango de referencia* en adultos: 21,8-274,6 ng/mL para varones y 4,6-204 ng/mL para mujeres. *Sensibilidad:* LC=1ng/mL. *Precisión:* CV total \leq 9%.

III.5.2) Enzimas hepáticas

- Aspartato aminotransferasa (AST) ó glutamato oxalacetato transaminasa (GOT):

Es una de las enzimas que cataliza la interconversión de los aminoácidos y los α -cetoácidos mediante la transferencia de grupos amino (transaminasas).

- *Principio de medida:* Cinético. Determinación de NADH sin piridoxal fosfato. Es una técnica bicromática (340 y 380 nm) basada en el trabajo de Karmen, que fue modificado posteriormente por Bergmeyer. Los reactivos de esta técnica están formulados conforme a las recomendaciones de la Internacional Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) (Burtis et al, 1994).
- *Procedimiento de medida:* La concentración de L-aspartato utilizada debe ser >100 mmol/L. La AST presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino del L-aspartato al α -cetoglutarato, dando como productos de la reacción oxalacetato y L-glutamato. El oxalacetato en presencia de NADH y la enzima malato deshidrogenasa se reduce a L-malato y el NADH se oxida a NAD. Esta reacción se monitoriza midiendo la velocidad de la disminución de la absorbancia mientras que se produce dicha oxidación, y esta va a ser proporcional a la actividad de la AST en la muestra.
- *Unidades:* U/L. *Rango de referencia* en adultos: 5-34 U/L. *Sensibilidad:* LD=2 U/L y LC=2,2 U/L. *Precisión:* CV total \leq 4,6% (CV intra-ensayo 1% y CV inter-ensayo 2,2%).

- Alanina aminotransferasa (ALT) ó glutamato piruvato transaminasa (GPT):

Esta enzima también está involucrada en el metabolismo de los aminoácidos (transaminasa).

- *Principio de medida:* Cinético. Determinación de NADH a 340 nm sin piridoxal fosfato. Bicromática (340 y 380 nm). La técnica se basa en el trabajo de

Wroblewski y LaDure, y fue posteriormente modificado por Bergmeyer. Los reactivos están formulados conforme a las recomendaciones de la IFCC (Burtis et al, 1994).

- *Procedimiento de medida:* Se necesita una concentración de L-alanina >225 mmol/L. La ALT presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato, dando como productos de la reacción piruvato y L-glutamato. El piruvato en presencia de NADH y la enzima lactato deshidrogenasa se reduce a L-lactato oxidándose el NADH a NAD. Esta reacción se monitoriza midiendo la velocidad de la disminución de la absorbancia mientras que se produce dicha oxidación, y ésta va a ser proporcional a la actividad de la ALT en la muestra.
- *Unidades:* U/L. *Rango de referencia* en niños: 0-55 U/L. *Sensibilidad:* LD=2 U/L y LC=5,1 U/L. *Precisión:* CV total $\leq 5,2\%$ (CV intra-ensayo 2% y CV inter-ensayo 6,6%).

- ***Gamma-glutamil transferasa (GGT):***

- *Principio de medida:* Cinético (fotometría). Técnica bicromática (412 y 660 nm) descrita por Theodorsen y L.M. Shaw (Theodorsen et al 1976; Shaw et al, 1983).
- *Procedimiento de medida:* El sustrato sintético de la reacción es la gamma-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida y su concentración en la misma es >4 mmol/L. La GGT cataliza la transferencia del grupo gamma-glutamil del sustrato donante L-gamma-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida al receptor glicilglicina para formar 3-carboxi-4-nitroanilida. La tasa del incremento de la absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de GGT en la muestra, ya que el producto liberado presenta un máximo de absorción a 412 nm.
- *Unidades:* U/L. *Rango de referencia* en adultos: 12-64 U/L para hombres y 9-36 U/L para mujeres. *Sensibilidad:* LD=2,5 U/L y LC=3,3 U/L. *Precisión:* CV total $\leq 4,8\%$ (CV intra-ensayo 1,7% y CV inter-ensayo 2,3%).

III.5.3) Perfil lipídico

- ***Colesterol total:***

- *Principio de medida:* Enzimático. Técnica de la colesterol esterasa /colesterol oxidasa. La utilización de enzimas para la cuantificación del colesterol total ha

sido estudiada por muchos investigadores. Esta metodología se basa en la técnica descrita por Allain, modificada posteriormente por Roeschlau para mejorar la estabilidad de los reactivos en solución (Allain et al, 1974; Roeschlau et al, 1974). Es una técnica bicromática (500 y 660 nm).

- *Procedimiento de medida:* Los esterios de colesterol son hidrolizados por la enzima colesterol esterasa con el fin de producir colesterol libre y ácidos grasos libres. Este colesterol, incluyendo el que previamente ya había libre en el medio, es oxidado, en presencia de oxígeno, gracias a la acción de la enzima colesterol oxidasa, a colesterol-4eno-3-ona y peróxido de hidrógeno. Este último se combina con el ácido hidroxibenzoico y la 4-aminoantipirina para formar un cromógeno (quinoneimida) que se cuantifica a punto final.
- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* en niños: <170 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=5 mg/dL y LC=6,2 mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 3% (CV intra-ensayo 1,2% y CV inter-ensayo 2,6%).

- Colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDLc):

- *Principio de medida:* Detergente selectivo acelerador.
- *Procedimiento de medida:* Este ensayo es un método homogéneo para la medida directa de las concentraciones de HDLc sin necesidad de pretratamientos, centrifugación ni precipitaciones. Se utiliza un formato de dos reactivos y depende únicamente de las propiedades de un único detergente. Se basa en la aceleración de la reacción de la colesterol oxidasa con colesterol sin esterificar no-HDL y utilizando un detergente que disuelve selectivamente el colesterol HDL. En una primera etapa, el colesterol no esterificado no-HDL es sujeto de una reacción enzimática y el peróxido generado se consume por la reacción de la peroxidasa dando lugar a un producto coloreado. En una segunda etapa intervienen el detergente capaz de solubilizar exclusivamente la HDL, la enzima colesterol esterasa y el cromógeno para desarrollar color para la determinación cuantitativa del HDLc (JAMA, 2001).
- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* para adultos \geq 60 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=2,5 mg/dL y LC=5mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 4% (CV intra-ensayo 1,6% y CV inter-ensayo 6%).

- Triglicéridos (TG):

- *Principio de medida:* Colorimétrico a punto final. Técnica de la glicerol fosfato oxidasa (Lipasa/glicerol quinasa) basada en la secuencia de reacciones descritas por Fossati y por McGowan. Además, es bicromática (500 y 660 nm) (Fossati et al, 1982; McGowan et al, 1983).
- *Procedimiento de medida:* Los TG presentes en la muestra son hidrolizados enzimáticamente por la acción de la lipasa a glicerol o ácidos grasos libres. A continuación el glicerol es fosforilado por la glicerol kinasa en presencia de trifosfato de adenosina (ATP) produciéndose así glicerol-3-fosfato y bifosfato de adenosina (ADP). El glicerol-3-fosfato se oxida a hidroxiacetona fosfato por la glicerol fosfato oxidasa produciendo peróxido de hidrogeno. Se produce entonces una reacción colorimétrica catalizada por la peroxidasa en la que el dióxido de hidrógeno reacciona con la 4-aminoantipirina y con el 4-cloranfenicol para producir un compuesto de color rojo. La absorbancia del mismo es proporcional a la concentración de TG presentes en la muestra.
- *Unidades:* mg/dL *Rango de referencia* para adultos <150 mg/dL. *Sensibilidad:* LD=5 mg/dL y LC=6,2 mg/dL. *Precisión:* CV total $\leq 5\%$ (CV intra-ensayo 1% y CV inter-ensayo 3,3%).

- Colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDLc):

- *Principio de medida:* Cálculo matemático (Friedelwald et al, 1972; Nauck et al, 2002).
- *Procedimiento de medida:* Se determina mediante la ecuación de Friedewald: $LDLc = \text{colesterol total} - HDLc - TG/5$.
- *Unidades:* mg/dL. El *rango de referencia* para la población adulta sin ningún factor de riesgo cardiovascular se ha establecido en <160 mg/dL. Esta fórmula es válida para un valor de triglicéridos inferior a 300 mg/dL.

- Apoproteína A-1 (Apo A-1):

- *Principio de medida:* Inmuno-turbidimetría. Las proteínas presentes en los fluidos corporales del organismo forman inmunocomplejos con anticuerpos específicos, que pueden dispersar un rayo de luz incidente dentro de una reacción inmunoquímica. La intensidad de luz dispersada es proporcional a la concentración en la muestra de la proteína en cuestión. El resultado se evalúa en

comparación con un estándar de concentración conocida, en este caso se utiliza un calibrador con trazabilidad para el estándar de referencia OMS/IFCC (Tietz, 1995).

- *Procedimiento de medida:* Se mide a 804nm el incremento de turbidez causado por la formación de complejos inmunológicos insolubles de la muestra con anticuerpos anti-ApoA.
- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* en niños: 93-172 mg/dL para varones y 101-223 mg/dL para las niñas. *Sensibilidad:* LC=3mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 4,9% (CV intra-ensayo 2,3% y CV inter-ensayo 4,8%).

- Apoproteína B (Apo B):

- *Principio de medida:* Inmuno-turbidimetría. (Ver Apo A-1) (Tietz, 1995).
- *Procedimiento de medida:* Se mide a 804nm el incremento de turbidez causado por la formación de complejos inmunológicos insolubles de la muestra con anticuerpos anti-ApoB.
- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* en niños: 48-125 mg/dL para los varones y 51-126 mg/dL para las niñas. *Sensibilidad:* LC=3 mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 6,5% (CV intra-ensayo 4,4% y CV inter-ensayo 7,5%).

III.5.4) Marcadores del metabolismo hidrocarbonado

- Glucosa:

- *Principio de medida:* Enzimático; reacción a punto final. Técnica de la hexocinasa II, basado en el método descrito por Slein. También se utiliza la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa. Técnica bicromática con lecturas a 340 y 380 nm (Slein et al, 1974; Tietz, 1995).
- *Procedimiento de medida:* La glucosa es fosforilada a glucosa-6-fosfato en presencia de ATP y de iones de magnesio por la enzima hexocinasa. Como producto de reacción también se obtiene ADP. La glucosa-6-fosfato formada es oxidada a 6-fosfogluconato por la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, produciéndose al mismo tiempo la reducción de la NAD a NADH. Por cada micromol de glucosa que se consume se produce otro de NADH. La absorbancia del NADH se mide espectrofotométricamente. El incremento de absorbancia será proporcional a la concentración de glucosa de la muestra.

- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* en niños: 60-100 mg/dL. *Sensibilidad:* LD= 2,5 mg/dL y LC=5mg/dL. *Precisión:* CV total \leq 5% (CV intra-ensayo 1,67% y CV inter-ensayo 1%).

- Insulina:

- *Principio de medida:* CMIA.
- *Procedimiento de medida:* En una primera etapa la muestra, micropartículas paramagnéticas anti-insulina y conjugados anti-insulina-acridina se combinan, así la insulina presente en la muestra se une a ambas partículas. Tras varios lavados y añadir distintas soluciones presentes en el kit se produce una señal de quimioluminiscencia. Existe una relación directa entre la concentración de insulina en la muestra y la cantidad de quimioluminiscencia expresada en RLU, que puede detectar el sistema óptico del equipo (Tietz, 1990).
- *Unidades:* mU/L. *Rango de referencia* en niños: 3-15,6 mU/L. *Sensibilidad:* LD= $<$ 1 μ U/mL y LC=1 μ U/mL. *Precisión:* CV total \leq 7%.

- Índice HOMA:

- Se calculó mediante el resultado de la relación entre glucosa e insulina (Blumel et al, 2005). Expresado como:

$$\text{HOMA} = \text{Insulina (mg/dL)} * \text{Glucosa (\mu U/mL)} / 405.$$

III.6) HEMATIMETRÍA

Se analizaron los parámetros de la serie roja, blanca y plaquetaria. Los de la serie roja fueron hematíes ($10^6/\mu\text{L}$), hemoglobina (g/dL), hematocrito (%), volumen corpuscular medio (VCM; fL), hemoglobina corpuscular media (HCM; pg), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM; g/dL) y el índice de distribución de glóbulos rojos (RDW; %). Dentro de la serie blanca se estudió el recuento de leucocitos ($10^3/\mu\text{L}$) y la concentración ($10^3/\mu\text{L}$) y porcentaje de cada una de las poblaciones leucocitarias (linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos). El estudio de la serie plaquetaria consistió en las plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$) y el volumen plaquetario medio (VPM; fL).

Para el recuento de la series roja y plaquetaria se utiliza la difracción de luz láser, con una fuente luminosa (diodo láser) dando así un estudio poblacional real no extrapolado. Para el contaje de los hematíes se utilizaron cuatro señales de difracción de luz, dos de ángulo bajo que se convierten en el volumen celular y otras dos de ángulo alto que se convierten en la concentración de hemoglobina. Con las dos lecturas se intentan evitar las interferencias colorimétricas. Para cuantificar las plaquetas se amplifican las señales, la de ángulo bajo 30 veces y la de ángulo alto 12. La hemoglobina se cuantifica por colorimetría a 546 nm gracias a la reacción química de oxidación en la que el hierro hemo de la hemoglobina pasa del estado ferroso al férrico (observándose un cambio de color) (Harris, 2005).

La serie blanca se cuantifica también por difracción y absorción de un rayo de luz, utilizando como fuente una lámpara de tungsteno. Con el método de la peroxidasa se miden las señales de difracción de luz de ángulo bajo y de ángulo alto de cada célula, basándose en los tamaños de la célula y del núcleo, y en la complejidad nuclear (que es una combinación de la forma del núcleo y de la densidad nuclear) por lo que la difracción de la luz resultante va a ser propia de cada leucocito. Para realizar el diferencial de las distintas poblaciones leucocitarias se utiliza la reacción citoquímica de la peroxidasa que consiste en lisar los hematíes y las plaquetas y a continuación fijar los leucocitos y teñirlos para identificarlos según el tamaño y la distinta intensidad de reacción de peroxidasa (tinción), ya que los neutrófilos, eosinófilos y monocitos se tiñen según su grado de actividad peroxidasa. También se separa el citoplasma de todos los leucocitos, excepto de los basófilos, pudiendo así clasificarse como células mononucleares o polimorfonucleares, según la forma y complejidad de los núcleos celulares. Los linfocitos, basófilos y otras células no contienen peroxidasa, por lo que permanecen sin teñirse.

III.7) ADIPOQUINAS

- *Adiponectina:*

- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK1-61KA (Human adipokine Panel A). *Sensibilidad:* LD=145,4 pg/mL. *Precisión:* CV intra-ensayo de 5,6% y CV inter-ensayo de 15%. *Exactitud:* 98,9%.

- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* µg/mL.

- Resistina:

- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK1-61KA (Human adipokine Panel A). *Sensibilidad:* LD=6,7 pg/mL. *Precisión:* CV intra-ensayo de 6% y CV inter-ensayo de 13%. *Exactitud:* 100%.
- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.

- Leptina:

- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=85,4 pg/mL. *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,9% y CV inter-ensayo de 15%. *Exactitud:* 99,8%.
- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.

III.8) BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN

- Proteína C Reactiva (PCR):

- *Principio de medida:* Inmunoensayo turbidimétrico (PETIA) con partículas de látex. La determinación cuantitativa de sustancias proteínicas mediante métodos inmunológicos comenzó con el desarrollo de la técnica de la precipitina. Posteriormente, se realizaron numerosos estudios de determinaciones turbidimétricas y por dispersión de la luz de complejos antígeno-anticuerpo. Los métodos se basaban en la utilización de polietilenglicol para acelerar la interacción antígeno-anticuerpo. Este inmunoanálisis de látex se ha desarrollado para medir de manera exacta y reproducible las concentraciones de PCR en suero. Esta técnica se basa en los trabajos de Heidelberger y Kendall, conforme a la modificación de Hellsing (Kaplan et al, 1996).
- *Procedimiento de medida:* Se basa en una reacción de aglutinación antígeno-anticuerpo que se produce entre la PCR presente en la muestra y el anticuerpo anti-PCR absorbido sobre partículas de látex. Esta aglutinación se detecta como

cambio en la absorbancia a 572 nm (aumento de la turbidez), proporcional a la cantidad de analito presente en la muestra. Se construye una curva patrón a partir de las absorbancias de los estándares, y por extrapolación se calcula la concentración de PCR en la muestra.

- *Unidades:* mg/dL. *Rango de referencia* en adultos: 0,3-5 mg/L. *Sensibilidad:* LD=0,01 mg/dL y LC=0,02 mg/dL. *Precisión:* CV intra-ensayo 3,06% y CV inter-ensayo 1,7%.

- Interleuquina 1 beta (IL-1 β):

- *Kit:* Kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=0,1 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,5% y CV inter-ensayo de 15%. *Exactitud:* 93,9%.
- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL. *Valores de referencia* del laboratorio para niños: 0-3 pg/mL.

- Interleuquina 6 (IL-6):

- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=1,6 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,8% y CV inter-ensayo de 18%. *Exactitud:* 93%.
- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.

- Interleuquina 8 (IL-8):

- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=0,2 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,9% y CV inter-ensayo de 15%. *Exactitud:* 91,5%.
- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.

- Factor de crecimiento hepático (HGF):

- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=19,2 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,7% y CV inter-ensayo de 11%. *Exactitud:* 96,3%.

-
- *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.
- Factor de crecimiento neural (NGF):**
- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=2,5 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 6% y CV inter-ensayo de 4%. *Exactitud:* 89,2%.
 - *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.
- Factor quimioatractivo de los macrófagos tipo 1 (MCP1):**
- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=0,14 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,9% y CV inter-ensayo de 18%. *Exactitud:* 90,2%.
 - *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.
- Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α):**
- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK2-61KB (Human adipokine Panel B). *Sensibilidad:* LD=0,14 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 7,8% y CV inter-ensayo de 16%. *Exactitud:* 98,6%.
 - *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.
- Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total (PAI1t):**
- *Kit:* kit Milliplex™ MAP de Millipore® HADK1-61KA (Human adipokine Panel A). *Sensibilidad:* LD=1,3 pg/mL *Precisión:* CV intra-ensayo de 6,6% y CV inter-ensayo de 10%. *Exactitud:* 99,9%.
 - *Reactividad cruzada:* Los anticuerpos son altamente específicos y no presentaron reactividad cruzada con otros analitos del panel. *Unidades:* pg/mL.

III.9) BIOMARCADORES DE OXIDACIÓN

III.9.1) Antioxidantes enzimáticos

- *Catalasa:*

- *Principio de medida:* Descrito por Aebi. Se monitoriza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua a 240 nm. (Aebi et al, 1984). **$(2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2)$** .
- *Procedimiento de medida:* En una placa de 96 pocillos se mezclan 20 μl de muestra (5 g/l de hemoglobina), 80 μl de fosfato potásico. Posteriormente se añaden 50 μl de H_2O_2 siguiendo la disminución de absorbancia durante 1 minuto, ya que en el rango del ultravioleta el H_2O_2 muestra un aumento continuo de la absorción con una disminución de la longitud de onda. La velocidad de reacción no enzimática se midió sustituyendo la muestra por tampón. Una unidad de actividad enzimática es la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 μmol de sustrato H_2O_2 por minuto. Esta actividad se refiere a la cantidad de hemoglobina de la muestra. *Unidades:* K/g Hb.

- *Glutación reductasa (GR):*

- *Principio de medida:* Colorimetría. Esta enzima cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH) en presencia de NADPH. El principio de medida fue descrito por Carlberg y Mannervik. La oxidación del NADPH es monitorizada espectrofotométricamente a 340 nm durante 5 minutos (Carlberg et al, 1985). **$(\text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{GSSG} \rightarrow \text{NADP}^+ + 2\text{GSH})$** .
- *Procedimiento de medida:* En una placa de 96 pocillos se mezclan 40 μl de NADPH 0.15 M con 100 μl de GSSG 2.25 mM en cada pocillo y se preincuba a 30 °C durante 5 minutos. Seguidamente se añaden 80 μl de la muestra, previamente diluida 5 g/l de hemoglobina, y se monitoriza la variación de absorbancia a 30 °C, durante 5 min. Paralelamente se hace un blanco sustituyendo la muestra por agua destilada, lográndose así corregir la oxidación espontánea del NADPH que se produce en ausencia de enzima. Los resultados se expresan como unidades de actividad específica. Una unidad de actividad específica de la glutatión reductasa viene definida como la cantidad de enzima

que cataliza la reducción de 1 mmol de NADPH/min/mg de proteína. Las actividades se calculan en función del incremento de absorbancia por minuto.

Unidades: $\mu\text{mol/g Hb}\cdot\text{min}$. *kit comercial:* RANDOX®.

- Glutación peroxidasa (GPox):

- *Principio de medida:* Colorimetría. Técnica descrita por Flohé y Günzler, en el cual el GSSG producido en la reacción catalizada por la GPOX se reduce de nuevo a GSH por la acción del NADPH, el cual se oxida a NADP^+ en una reacción catalizada por la GR siguiéndose la desaparición del NADPH espectrofotométricamente a 340 nm. Se utiliza como sustrato tert-butilhidroperóxido (t-BOOH) (Flohé et al, 1984).



- *Procedimiento de medida:* En una placa de 96 pocillos se mezclan 25 μl de muestra (5 g/l de hemoglobina), 125 μl de fosfato potásico 0.1 M pH 7.0, 25 μl de glutación reductasa 2.4 U/ml y 25 μl de GSH 10 mM y 25 μl de NADPH 1.5 mM. Posteriormente se añaden 25 μl de hidroperóxido, siguiendo la variación de absorbancia durante 3 min. La velocidad de reacción no enzimática se midió sustituyendo la muestra por tampón. Se definió una unidad de actividad enzimática como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 μmol de sustrato NADPH por minuto. Esta actividad se refiere a la cantidad de hemoglobina de la muestra. La enzima se determina ya que mediante espectrofotometría a 340 nm se puede medir la señal que se produce por la desaparición de NADPH en presencia de GSH y GR. *Unidades:* $\mu\text{mol/g Hb}\cdot\text{min}$. *Kit comercial:* RANSEL®.

- Superóxido dismutasa (SOD):

- *Principio de medida:* Espectrofotometría a 415/450 nm (bicromática). Técnica descrita por L'Abbé and Fischer (L'Abbé et al, 1990). $(2\text{H}^+ + 2\text{O}_2^{\bullet} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2)$.
- *Procedimiento de medida:* Se utiliza xantina y xantina oxidasa para la generación del radical superóxido (O_2^{\bullet}). El citocromo C en presencia de este radical superóxido forma un compuesto coloreado, ya que pasa del estado oxidado al reducido, absorbiendo a las longitudes de onda antes indicadas. La SOD presente en los eritrocitos retira el O_2^{\bullet} del medio, compitiendo con el citocromo C oxidado e inhibiendo la formación de color. *Procedimiento:* En una

placa de 96 pocillos se mezclan 40 μ l muestra (5 g/L de hemoglobina) con 200 μ l de la mezcla reactiva. Se preincuba a 30 °C durante 1 min. Seguidamente se añaden 10 μ l de xantina oxidasa y se monitoriza la variación de absorbancia a 30 °C, durante 5 min. Paralelamente se hace una curva patrón con SOD para extrapolar los resultados en una curva de cuarto parámetros. Los resultados se expresan como unidades de actividad específica. Una unidad de actividad específica de la superóxido dismutasa viene definida como la cantidad de enzima que cataliza la oxidación de 1 mmol de citocromo/mg de proteína. Las actividades se calculan en función del incremento de absorbancia por minuto extrapolando en la curva patrón (McCord et al, 1969). *Unidades:* U/mg Hb. *Kit comercial:* RANSOD®.

III.9.2) Antioxidantes no enzimáticos exógenos

El procedimiento de medida consistió en precipitar 100 μ l de muestra con 300 μ l de propanol. Tras centrifugar 11200 x g durante 10 minutos, el sobrenadante se inyecta en el HPLC para determinar las concentraciones de los antioxidantes (Battino, 2004; Olmedilla, 2001; Mills et al, 1990). Como no se disponen de valores de referencia específicos, se han considerado como valores normales los resultados obtenidos para el grupo control.

- β Caroteno:

- *Características del ensayo:* Longitud de onda: 450nm (Ultravioleta). Eluyentes: Disolvente A (Metanol: Metil-tert-butil éter: Agua 81:15: 4) y disolvente B (Metanol: Metil-tert-butil éter: Agua 6: 90: 4). Flujo: 1mL/min. *Unidades:* μ g/mL y μ g/mg TG.

- Vitaminas (retinol y tocoferola):

- *Características del ensayo:* Para el retinol, análisis a 325 nm (ultravioleta) y en el caso del tocoferola se realizó a una longitud de onda de excitación de 295 nm y, de emisión de 325nm (fluorescencia). Temperatura: 25° C. Eluyente: Metanol: Acetonitrilo: Agua 45: 45: 10. Flujo: 1mL/min Isocrático. *Unidades:* μ g/mL. El tocoferola también se expresa como μ g/mg TG.

III.10) ESTUDIO ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS 18®, contando con el asesoramiento de la Unidad de Apoyo Metodológico a la Investigación del Instituto Maimónides de investigación biomédica de Córdoba (IMIBIC), del HURS. No se contempló la necesidad de un cálculo de tamaño muestral previo puesto que se consideraron candidatos potenciales para su inclusión en el estudio a todos los RN en el HURS con antecedentes de prematuridad y CER durante el periodo de tiempo mencionado (1996-2008). No obstante, asumiendo una diferencia del 30% en la media para las principales variables de estudio entre niños con CER y niños sanos, un error α de 0.05, un error β de 0.1, un contraste bilateral de hipótesis y unas pérdidas de seguimiento del 15-20%, se obtuvo un tamaño muestral de 59 niños por grupo. El análisis estadístico consistió en:

1) Análisis descriptivo para variables cuantitativas mediante el cálculo de media (m) y DS; y para las variables cualitativas mediante el cálculo de recuentos (n) y proporciones (%).

2) Determinación de la bondad de ajuste a una distribución normal (datos normales) mediante la prueba de Shapiro-Wilk. También se comprobó la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Levene. Si las muestras seguían una distribución normal y las varianzas eran homogéneas se aplicaron tests paramétricos, en caso contrario se utilizaron test no paramétricos.

3) Comparación de los valores medios de las variables cuantitativas entre los dos grupos (niños con antecedentes de CER y controles sanos) mediante pruebas t de Student para grupos independientes (prueba paramétrica); o pruebas U de Mann-Whitney (prueba no paramétrica).

4) Comparación de proporciones entre ambos grupos mediante pruebas chi-cuadrado (χ^2) para tablas de contingencia; en el caso de tablas 2 x 2 se utilizó el estadístico χ^2 con corrección de Yates, y cuando alguna frecuencia esperada fue menor o igual a 5 se aplicó la prueba exacta de Fisher.

5) Para valorar la asociación entre las variables cuantitativas se realizaron análisis de correlación mediante el cálculo de coeficientes r de Pearson (correlaciones paramétricas) y rho de Spearman (correlaciones no paramétricas).

6) Con objeto de determinar si los biomarcadores de inflamación y las adipocinas podían agruparse en un número relativamente pequeño de factores con significación biológica que explicasen la inflamación sistémica de bajo grado en la edad prepuberal, se llevó a cabo un análisis factorial.

Todos los contrastes de hipótesis fueron bilaterales. En todas las pruebas estadísticas se consideraron valores "significativos" aquéllos cuyo nivel de confianza fue superior al 95%, es decir, un error alfa inferior a 0,05 ($P < 0,05$).

Resultados

IV) RESULTADOS

IV.1) ANTECEDENTES PERINATALES DE LOS NIÑOS NACIDOS CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

En este apartado se describen los datos de las variables que en este trabajo se han relacionado con el CER en los 38 niños prepuberales y en los 6 puberales.

IV.1.1) Antecedentes relacionados con la gestación, el parto y la etapa perinatal

El rango de edad materno estuvo comprendido entre los 23 y los 37 años. La media de edad fue de 30 ± 4 años y el 88% de las madres fueron menores de 35 años. El 54% de las madres fueron primíparas, y el 34% tuvieron una gestación múltiple. El 23% de las mujeres presentaron HTA durante el embarazo y el 7% preeclampsia. Ninguna mujer presentó otra patología de interés durante el embarazo. El 57% de las madres recibieron corticoides prenatales (hidrocortisona ó dexametasona) antes del parto. El 61% de los partos fueron por cesárea.

La EG de los neonatos estuvo comprendida entre la 25 y 32 semanas de gestación, estando entre 25-28 semanas para el 36% de los RN y entre 29-30 semanas para el 34%. El 52% de los nacidos recibieron reanimación tipo 1 ó 2, el 23% tipo 3, y el 25% tipo 4-5. El 51% y el 73% de los neonatos mostraron un test de Apgar entre 7-10 al min 1 y al min 5, respectivamente. El 27% de los niños presentaron anoxia perineonatal.

El 68% de los sujetos CER fueron niños y el 32% niñas. El peso al nacimiento estuvo comprendido entre 660 y 1707 gr. No se encontraron diferencias significativas en el peso del RN entre ambos sexos ($P=0,793$), por lo que los sujetos se evaluaron de forma conjunta. Los resultados de los parámetros antropométricos de los RN se describen en la tabla 10. En la semana 36 de EGC, los niños tuvieron una edad comprendida entre 28 y 77 días.

Tabla 10. Datos antropométricos de los niños con crecimiento extrauterino retrasado en las etapas perinatal y neonatal.

Antropometría	RN	Sem 36 EGC	Alta
Peso (gr.)	1143,89±251,31	1765,89±155,59	2532,27±226,63
Longitud (cm)	36,91±3,53		
Perímetro Craneal (cm)	26,57±2,52		
Perímetro Torácico (cm)	23,29±2,53		

EGC: Edad gestacional corregida. RN: Recién nacido. Sem: Semana.
Los datos son expresados como media±DS.

IV.1.2) Antecedentes relacionados con la etapa neonatal

No se encontraron diferencias significativas en el peso de los niños en la 36 semana de EGC por sexos ($P=0,405$). El rango de peso estuvo comprendido entre 1400 y 1980 gr. (Tabla 10). Al alta de la Unidad de Neonatología, los niños tenían entre 38-48 semanas de EGC. No se encontraron diferencias significativas entre sexos en la medida del peso al alta ($P=0,212$), situándose globalmente entre 2245 y 3200 gr. (Tabla 10).

La información obtenida acerca de las principales patologías asociadas a la prematuridad y a la condición de ser CER se representa en la figura 23. En un 27% se desarrolló algún tipo de patología neurológica. La sepsis bacteriana fue la patología más frecuentemente observada en la etapa perinatal.

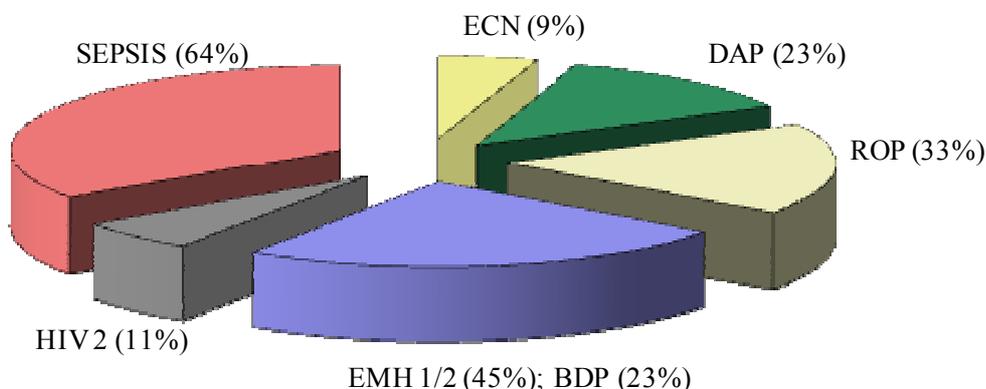


Figura 23. Principales patologías asociadas a la prematuridad y al crecimiento extrauterino retrasado observadas en los niños participantes en el estudio.

BDP: Broncodisplasia pulmonar. DAP: Ductus arterioso permeable. ECN: Enterocolitis necrotizante. EMH ½: Enfermedad de membrana hialina grado 1 ó 2, HIV: Hemorragia intraventricular. ROP: Retinopatía del prematuro. Los datos son expresados como tipo de patología (porcentaje;%).

Los sujetos estuvieron ingresados una media de 81 ± 32 días en la Unidad de Neonatología. De todos ellos, el 57% estuvieron ingresados entre 50 y 100 días. El 44% de los niños no recibieron ninguna dosis de surfactante pulmonar, y el 23% precisó una dosis. El 30% de los niños no necesitó VM, y el 37% lo hicieron menos de cinco días, con una media global de 10 ± 18 días. El 65% de los niños precisaron oxígeno hasta el 5º día de vida. El 63% de los sujetos recibieron transfusión de hemoderivados, el 61% drogas vasoactivas y el 29% esteroides postnatales.

Durante su estancia en Neonatología, los niños CER recibieron NP durante 41 ± 23 días; el 81% la mantuvieron hasta 60 días. La NE la comenzaron en el 7 ± 11 día; el 44% a los 3 días, y el 39% entre los 4-9 días, respectivamente. La mayor pérdida ponderal se observó en el 5 ± 2 día de vida (rango 1-10), siendo hasta en el 51% de los niños, del 11-20%. La recuperación del peso al nacimiento de la mayoría de la muestra (78%) fue de 15 ± 6 días.

IV.2) EVALUACIÓN CLÍNICA DE LOS NIÑOS EN ESTADO PREPUBERAL

El análisis estadístico de este apartado se realizó con los 38 sujetos prepuberales con antecedentes de CER (grupo CER) y 132 controles sanos (grupo control).

IV.2.1) Evaluación de antecedentes familiares, estado neurológico y desarrollo escolar, y actividad física

Los antecedentes familiares de primer grado más frecuentemente recogidos en los niños con antecedentes de CER fueron obesidad y/o dislipemia (39%), ECV (18%), HTA (16%) y diabetes tipo 2 (10%). Además se recogieron los antecedentes familiares de segundo grado, observándose diabetes en el 61% de los casos, HTA en el 50%, ECV en el 45% y obesidad y/o dislipemia en el 34% de los familiares de los niños del grupo CER.

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,001$) al comparar el estado neurológico del grupo CER con el grupo control, ya que el 32% y el 5% de los niños CER presentaron un estado neurológico severo o muy severo, respectivamente. La misma significación estadística se obtuvo en la comparación del rendimiento escolar, ya que el 32% de los niños CER requirieron algún tipo de apoyo escolar. También se obtuvo significación ($P = 0,012$) al comparar la presencia de patología respiratoria en el momento actual, puesto que el 8% de los niños del grupo CER que habían presentado EMH y consecuentemente BDP en el periodo neonatal, en el momento actual, seguían presentando patología respiratoria, fundamentalmente síndrome de hiperreactividad bronquial. Los niños no realizaron la actividad física recomendada (diariamente más de 30 min.), ya que el 38% de los niños CER practicaban actividad física de una hora de duración 3 veces en semana y el 23% no realizaban ningún tipo de práctica.

IV.2.2) Características demográficas y antropometría

La tabla 11 muestra los datos demográficos y antropométricos de los dos grupos de niños del estudio, CER y Control. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el sexo entre ambos grupos, ya que el grupo CER estuvo compuesto por un mayor porcentaje de niños que de niñas, mientras que en el grupo control la

distribución fue similar para ambos sexos. No existieron diferencias estadísticamente significativas para la edad. En cuanto al peso, no se observaron diferencias entre los grupos, pero sí una tendencia a la significación ya en que los sujetos del grupo CER se observaron valores menores de peso (Tabla 11). Además de evaluar la somatometría de los niños de forma global, se obtuvieron percentiles según la edad y sexo de cada individuo, obteniéndose significación estadística entre los grupos estudiados para el $p < 50$ (Figura 24A). Del total de los participantes en el estudio, el 5% se encontraban en un $p \leq 10$, todos ellos fueron del grupo CER. La talla fue significativamente menor en el grupo CER respecto al grupo control (Tabla 9). Los datos de talla también se evaluaron en percentiles. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo CER y control en el $p < 50$ de talla (Figura 24B). Del total de la serie, el 6% se encontraba en un $p \leq 10$, todos ellos fueron del grupo CER.

Tabla 11. Datos demográficos, antropométricos y de tensión arterial en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

Variables	CER	CONTROL	P
Género (M/F) (%)	48/52	71/29	0,021
Edad (años)	8,42±3,02	8,93±1,32	0,869
Peso (kg)	26,66±10,17	29,98±5,07	0,059
Talla (cm)	124,52±16,98	133,26±8,43	0,004
IMC (kg/m ²)	16,57±2,9	16,82±1,38	0,016
PC (cm)	59,05±10,21	58,51±7,62	0,346
TAS (mmHg)	113,49±12,29	92,43±11,6	<0,001
TAD (mmHg)	70,58±11,53	57,05±9,7	<0,001

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. F: Femenino. IMC: Índice de masa corporal. M: Masculino. PC: Perímetro de cintura. TAD: Tensión arterial diastólica. TAS: Tensión arterial sistólica.

Los datos son expresados como media±DS, siendo P el grado de significación estadística obtenida mediante pruebas Chi-cuadrado para el género, t de Student para peso y talla, y pruebas U de Mann-Whitney para el resto de variables. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

Al agrupar por la variable “retraso ponderal”, el 13% de los sujetos CER estaban en esta situación respecto al grupo control (P=0,002) y al tener en cuenta la variable “retraso estatural”, el 22% de los sujetos de este grupo se encontraron en esta situación

($P < 0,001$). En el 33% del grupo CER se objetivó retraso pondero y/o estatural, obteniendo diferencias con el grupo control ($P < 0,001$). También se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el IMC entre ambos grupos (Tabla 11). La significación estadística observada al comparar los dos grupos para un $p \leq 25$ de IMC se muestra en la figura 24C. También se observó que el 5% de los sujetos estudiados se encontraban en un $p \leq 10$ de IMC, todos ellos del grupo CER. En el estudio del PC no se obtuvieron diferencias significativas entre ambos grupos (Tabla 11).

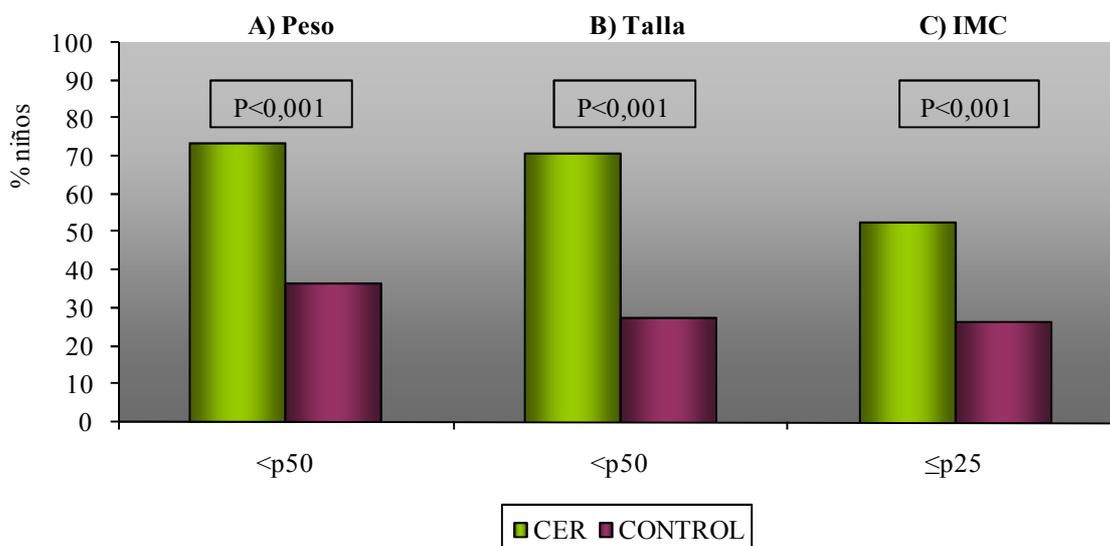


Figura 24. Percentiles de peso (A), talla (B) e índice de masa corporal (C) en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. IMC: Índice de masa corporal. p: percentil. Los datos se expresan como porcentaje de niños (% niños), siendo P el grado de significación estadística, obtenida mediante pruebas Chi-cuadrado para tablas de contingencia. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.2.3) Tensión arterial

El grupo CER presentó valores de TA, tanto sistólicos como diastólicos, mayores que el grupo control (Tabla 11). Los datos de TAS y TAD obtenidos por percentiles se expresan en tres grupos (<p50, p50-p94 y $\geq p95$). Se observaron diferencias

significativas entre el grupo CER y el grupo control para cada uno de los grupos de percentiles estudiados, tanto en el caso de la TAS (Figura 25A), como en el de la TAD (Figura 25B).

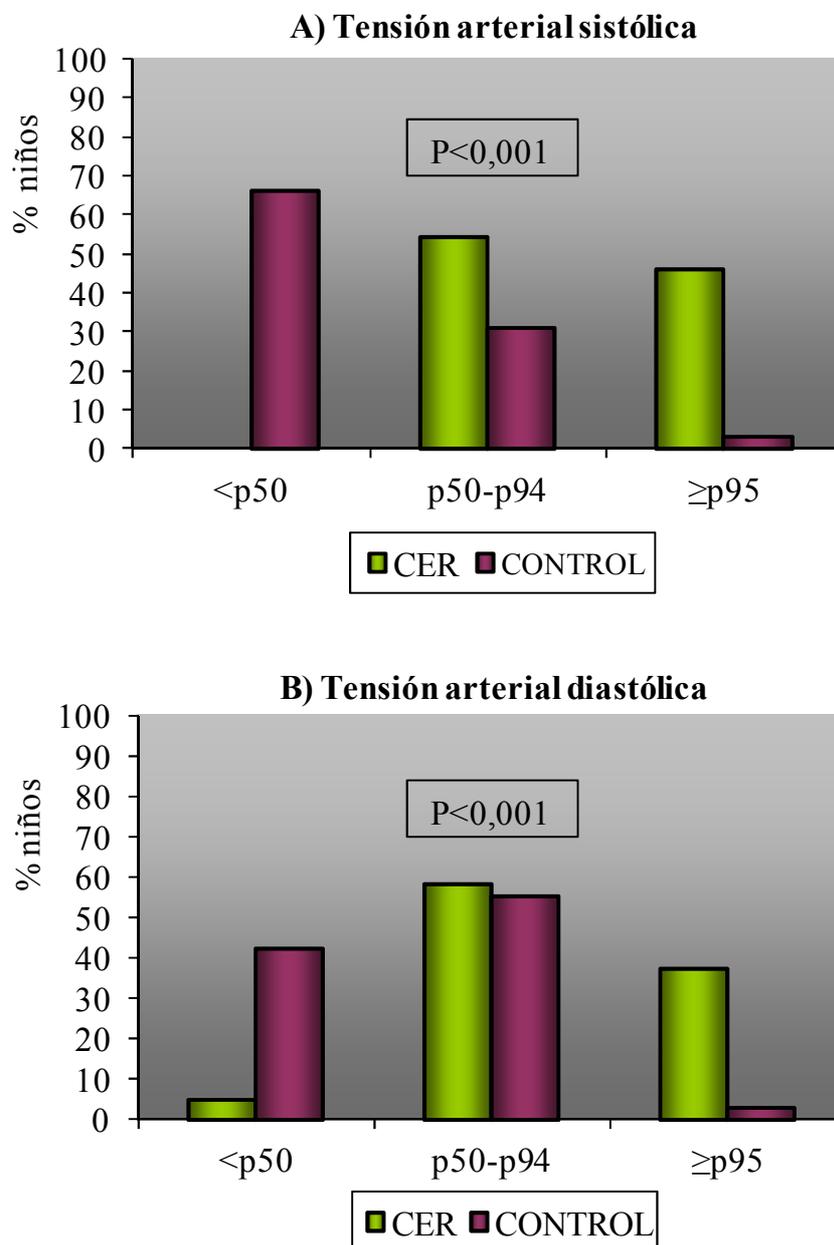


Figura 25. Percentiles de tensión arterial sistólica (A) y diastólica (B) en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. p: percentil.

Los datos se expresan como porcentaje de niños (% niños) siendo P el grado de significación estadística, obtenida mediante pruebas Chi-cuadrado para tablas de contingencia. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.2.4) Valoración nutricional de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado

Los datos de ingesta calórica diaria y de composición de la dieta por macronutrientes de los niños CER, y las recomendaciones para la población española se expresan en la tabla 12. La ingesta diaria de energía en los niños CER fue adecuada, aunque el 60% de los niños tomaban <1850 Kcal/día. Se encontraron diferencias significativas en el consumo de fibra diaria, ya que la ingesta de los niños CER fue mucho menor que las recomendaciones. La ingesta de HC fue adecuada, además el 92% de los niños CER tomaban <55% de HC. Por el contrario, el consumo de lípidos de los niños CER fue significativamente mayor que las recomendaciones, el 50% de los CER tomaban >35% de lípidos. El consumo de ácidos grasos saturados (AGS) fue mayor y, por el contrario, la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) fue menor que las recomendaciones. En cuanto al consumo de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), los niños CER tampoco cumplieron las recomendaciones, ya que su ingesta fue menor. El 87% de los sujetos tomaban >10% de AGS, el 97% de los niños <6% de AGPI y el 29% de los sujetos >15% de AGMI. El 87% de los CER tomaban más de 15% de proteínas, por lo que globalmente la ingesta de proteínas fue mayor que las recomendaciones.

Tabla 12. Energía diaria y composición de la dieta por macronutrientes de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado e ingesta recomendada de energía para la población española según la edad y objetivos nutricionales para la población española, consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), 2004.

Parámetros nutricionales	Grupo CER	Recomendaciones	P
Energía (Kcal/día)	1855,83±546,22	2000	0,112
Fibra (gr./día)	12,51±6,12	>25	<0,01
HC (%)	46,77±5,45	50-55	<0,001
Lípidos (%)	34,93±6,17	30-35	0,02
AGS (%)	13,58±2,72	7-8	<0,001
AGPI (%)	4,09±1,01	6-7	<0,001
AGMI (%)	13,58±3,61	20	<0,001
Proteínas (%)	18,33±3,2	13	<0,001

AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados. AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados. AGS: Ácidos grasos saturados. CER: Crecimiento extrauterino retrasado. HC: Hidratos de carbono. Los datos se expresan como media±DS siendo P la significación estadística obtenida mediante pruebas t de Student.

Además se evaluó la composición de la dieta por raciones; los datos se muestran en la tabla 13. Los niños con antecedentes de CER tomaban las cantidades diarias recomendadas del grupo de alimentos patatas, arroz, pan y pasta, y las cantidades semanales adecuadas de los grupos pescados y legumbres. La ingesta de lácteos, la del grupo compuesto por carnes magras, aves y huevos, y la toma de embutidos y carnes grasas, fue mayor en estos niños que las recomendaciones establecidas. Además, se observó una mayor ingesta de dulces, snacks y refrescos, y de mantequilla, margarina y bollería industrial, respecto a los valores tomados como referencia para la población española. Por el contrario, los sujetos tomaron menor cantidad de verduras y hortalizas, frutas, aceite de oliva y frutos secos respecto a lo recomendado. El consumo de agua bebida también fue menor.

Tabla 13. Composición de la dieta por raciones de los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y frecuencia recomendada para la población española, consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), 2004.

Grupos de alimentos	Grupo CER	Frecuencia recomendada	P
Patatas, arroz, pan y pasta (raciones/día)	4±1,6	4-6	0,149
Verduras y hortalizas (raciones/día)	1±0,5	≥2	<0,001
Frutas (raciones/día)	1±0,8	≥3	<0,001
Aceite de oliva (raciones/día)	1±1,3	3-6	<0,001
Leche y derivados (raciones/día)	4±2,1	2-4	0,002
Pescados (raciones/semana)	4±1,9	3-4	0,517
Carnes magras, aves y huevos (raciones cada uno/ semana, alternando)	4±1,2	3-4	0,022
Legumbres (raciones/semana)	3±0,8	2-4	0,058
Frutos secos (raciones/semana)	1±1,5	3-7	<0,001
Embutidos y carnes grasas (raciones/semana)	5±3,4	O y M	<0,001
Dulces, snacks y refrescos (raciones/semana)	8±2,6	O y M	<0,001
Mantequilla, margarina y bollería (raciones/semana)	4±3,4	O y M	<0,001
Agua bebida (vasos/día)	4±2,1	4-8	<0,001

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. O y M: Ocasional y moderado. P: significación estadística obtenida mediante pruebas t de Student.

IV.3) Parámetros bioquímicos generales y hematimetría

IV.3.1) Marcadores bioquímicos básicos, enzimas hepáticas y hematimetría

Los resultados más relevantes obtenidos de todos los parámetros bioquímicos tradicionales, enzimas hepáticas y hematimetría estudiados se muestran en la tabla 14. En cuanto a los biomarcadores tradicionales, el grupo CER presentó mayores niveles de urea y T4 libre, y menor concentración de ferritina que el grupo control. Los parámetros creatinina, ácido úrico, PT, TSH y hierro no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Los niveles de iones, calcio y albúmina se encontraron dentro de los rangos de normalidad (resultados no mostrados).

De los marcadores hepáticos analizados (AST, ALT y GGT), sólo la GGT presentó valores significativamente más elevados en el grupo CER que en el grupo control (Tabla 14). La hemoglobina y el hematocrito también presentaron niveles más elevados en los niños con antecedentes de CER que en el grupo control. El resto de parámetros del hemograma únicamente se utilizaron para confirmar la normalidad de los sujetos por lo que no han sido mostrados en el presente estudio.

Tabla 14. Parámetros bioquímicos tradicionales, enzimas hepáticas y hematemetría estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

Parámetros	CER	CONTROL	P
Urea (mg/dL)	32,71±7,12	29,33±6,09	0,005
Creatinina (mg/dL)	0,57±0,07	0,58±0,11	0,323
Ácido úrico (mg/dL)	3,42±0,7	3,64±0,66	0,085
PT (g/dL)	7,16±0,4	7,29±0,44	0,105
TSH (mU/L)	1,93±0,74	2,09±0,98	0,587
T4 libre (ng/dL)	1,16±0,15	1,05±0,11	<0,001
Hierro (µg/dL)	82,08±25,63	87,1±31,02	0,531
Ferritina (ng/mL)	28,86±15,99	36,47±17,05	0,011
AST (U/L)	27,76±6,76	27,26±4,85	0,679
ALT (U/L)	18,39±5,85	17,41±5,5	0,224
GGT (U/L)	14,7±4,78	11,68±3,2	0,001
Hemoglobina (g/dL)	13,6±0,92	13,23±0,79	0,016
Hematocrito (%)	40,36±2,3	38,91±2,39	0,001
Leucocitos (10 ³ /µL)	6,92±1,68	6,48±1,73	0,114

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. ALT: Alanina aminotransferasa. AST: Aspartato aminotransferasa. GGT: Gamma-glutamyl transferasa. PT: Proteínas totales. TSH: Hormona estimulante del tiroides T4 libre: Tiroxina. Los datos son expresados como media±DS, siendo P el grado de significación estadística obtenida mediante pruebas t de Student para urea, ácido úrico, proteínas totales, aspartato aminotransferasa y hemoglobina, y mediante pruebas U de Mann-Whitney para el resto de parámetros. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.3.2) Perfil lipídico

El perfil lipídico incluyó colesterol total, HDLc, TG, LDLc, Apo A-1 y Apo B. Se compararon los niveles séricos en los grupos CER y control y los resultados se expresan en la figura 26. La concentración del HDLc fue significativamente menor en el grupo CER que en el grupo control. En el caso de los TG y del LDLc, aunque sus concentraciones fueron mayores en los sujetos del grupo CER, no se obtuvieron diferencias significativas, al igual que para el colesterol total, Apo A-1 y Apo B.

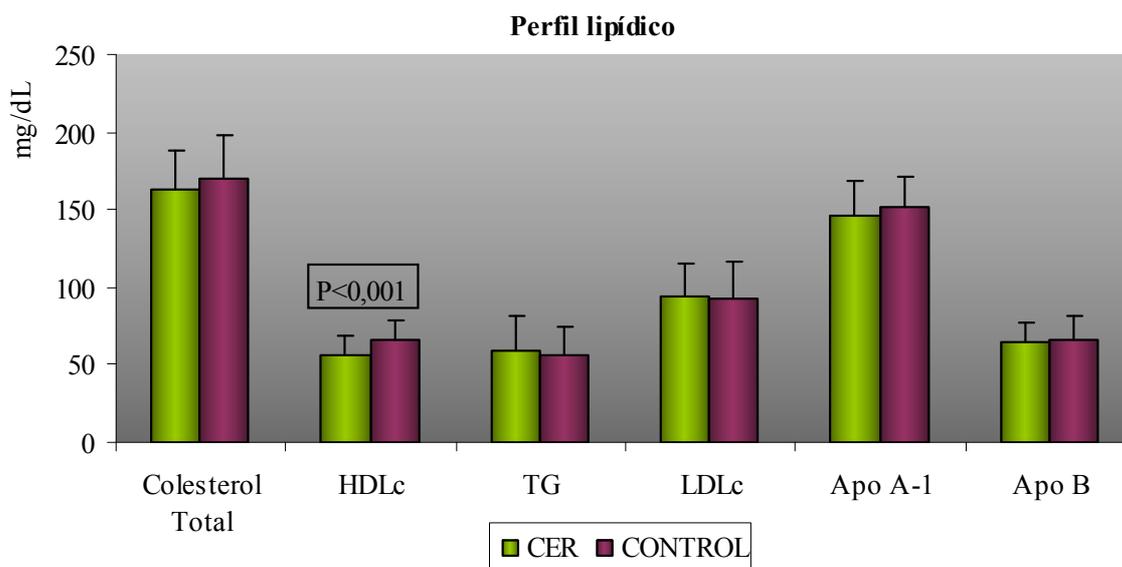


Figura 26. Perfil lipídico en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

Apo A-1: Apoproteína A-1. Apo B: Apoproteína B. CER: Crecimiento extrauterino retrasado. HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. LDLc: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad. p: percentil. TG: Triglicéridos.

Los datos se expresan como media±DS, siendo P la significación estadística, obtenida mediante la prueba U de Mann-Whitney. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.3.3) Marcadores del metabolismo hidrocarbonado

En la tabla 15 se muestran las concentraciones medias de los principales marcadores del metabolismo hidrocarbonado. La concentración basal de glucosa fue significativamente mayor en el grupo CER que en el grupo control, mientras que la insulina y el índice HOMA se encontraron algo más elevados en el grupo CER, sin presentar diferencias significativas.

Tabla 15. Marcadores del metabolismo hidrocarbonado en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

Marcadores	CER	CONTROL	P
Glucosa (mg/dL)	87,66±7,56	83,05±6,73	<0,001
Insulina (mU/L)	5,53±3,35	5,36±2,49	0,629
Índice HOMA	1,22±0,76	1,12±0,58	0,956

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. HOMA: Índice de resistencia a insulina.

Los datos son expresados como media±DS, siendo P el grado de significación estadística obtenida mediante la prueba U de Mann-Whitney. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.4) Adipoquinas

En cuanto a las adipoquinas, la adiponectina mostró concentraciones menores en el grupo CER respecto al grupo control (Figura 27A), mientras que los niveles de resistina fueron mayores en el grupo CER. Aunque los niveles plasmáticos de leptina de los niños del grupo CER fueron mayores que los del grupo control, no se encontraron diferencias significativas para esta citoquina (Figura 27C).

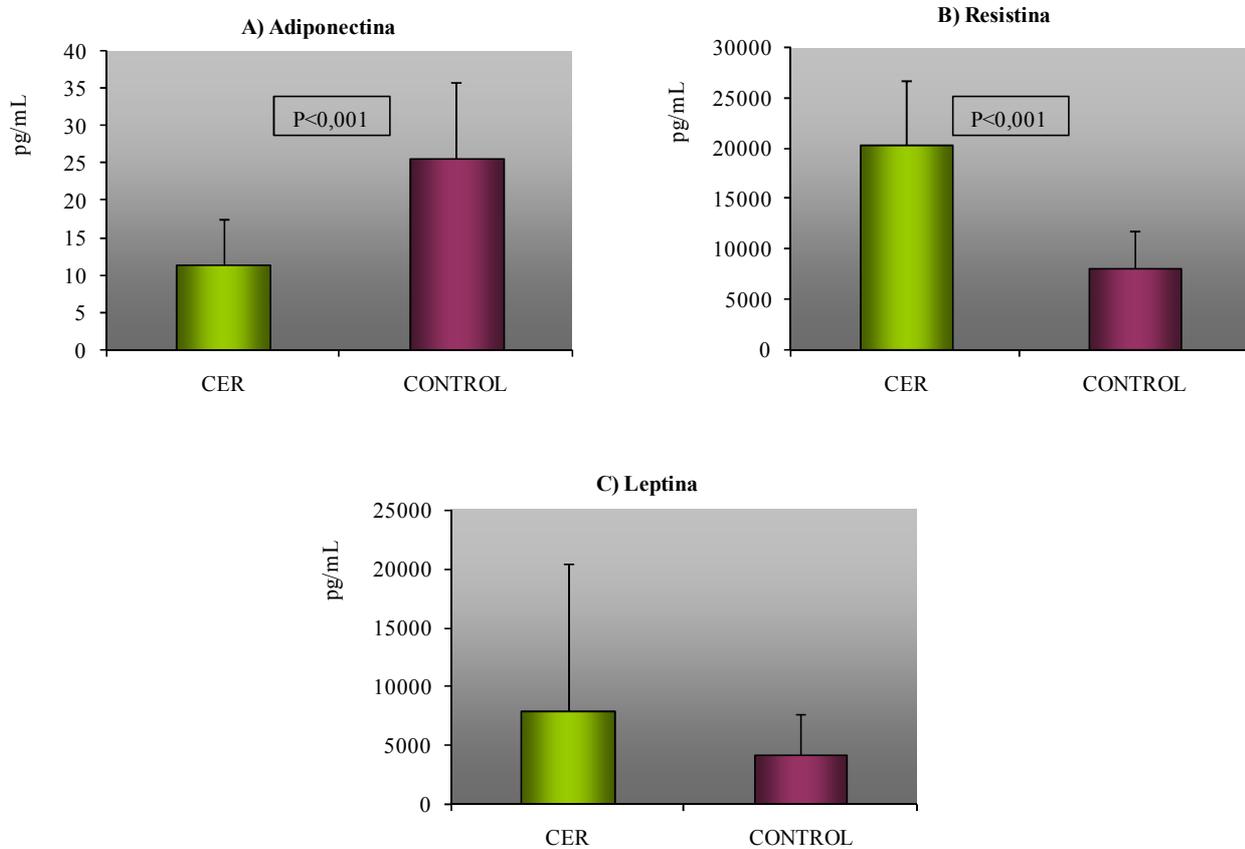


Figura 27. Concentración de adipoquinas en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) Adiponectina. B) Resistina. C) Leptina.

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. Los datos se expresan como $\text{media} \pm \text{DS}$, siendo P el grado de significación estadística, obtenida mediante la prueba U de Mann-Whitney. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.5) Biomarcadores de inflamación

En relación con los marcadores de inflamación, se encontraron valores significativamente más elevados entre el grupo CER y el grupo control para PCR, HGF, IL-8, MCP1 y TNF α (Figura 28). En el caso de la IL-1 β , los valores obtenidos en el grupo CER estuvieron dentro de los rangos de normalidad establecidos por el propio laboratorio (0-3 ng/mL). Para el 92% de los niños la concentración de IL-1 β obtenida fue de <0,64 ng/mL, es decir, inferior al límite de cuantificación de la técnica. Para IL-6, NGF y PAI1t no se encontraron diferencias significativas con respecto al grupo control (Tabla 16).

Tabla 16. Marcadores de inflamación en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

Marcadores	CER	CONTROL	P
IL-1 β (pg/mL)	0,66 \pm 0,2		
IL-6 (pg/mL)	1,97 \pm 1,61	4,42 \pm 7,92	0,282
NGF (pg/mL)	9,66 \pm 6,28	20,53 \pm 36,11	0,624
PAI1t (pg/mL)	16362,07 \pm 6810,43	18482,44 \pm 13614,09	0,575

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. IL-1 β : Interleuquina 1 beta, IL-6: Interleuquina 6. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total.

Los datos son expresados como media \pm DS, siendo P el grado de significación estadística obtenida mediante la prueba U de Mann-Whitney. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

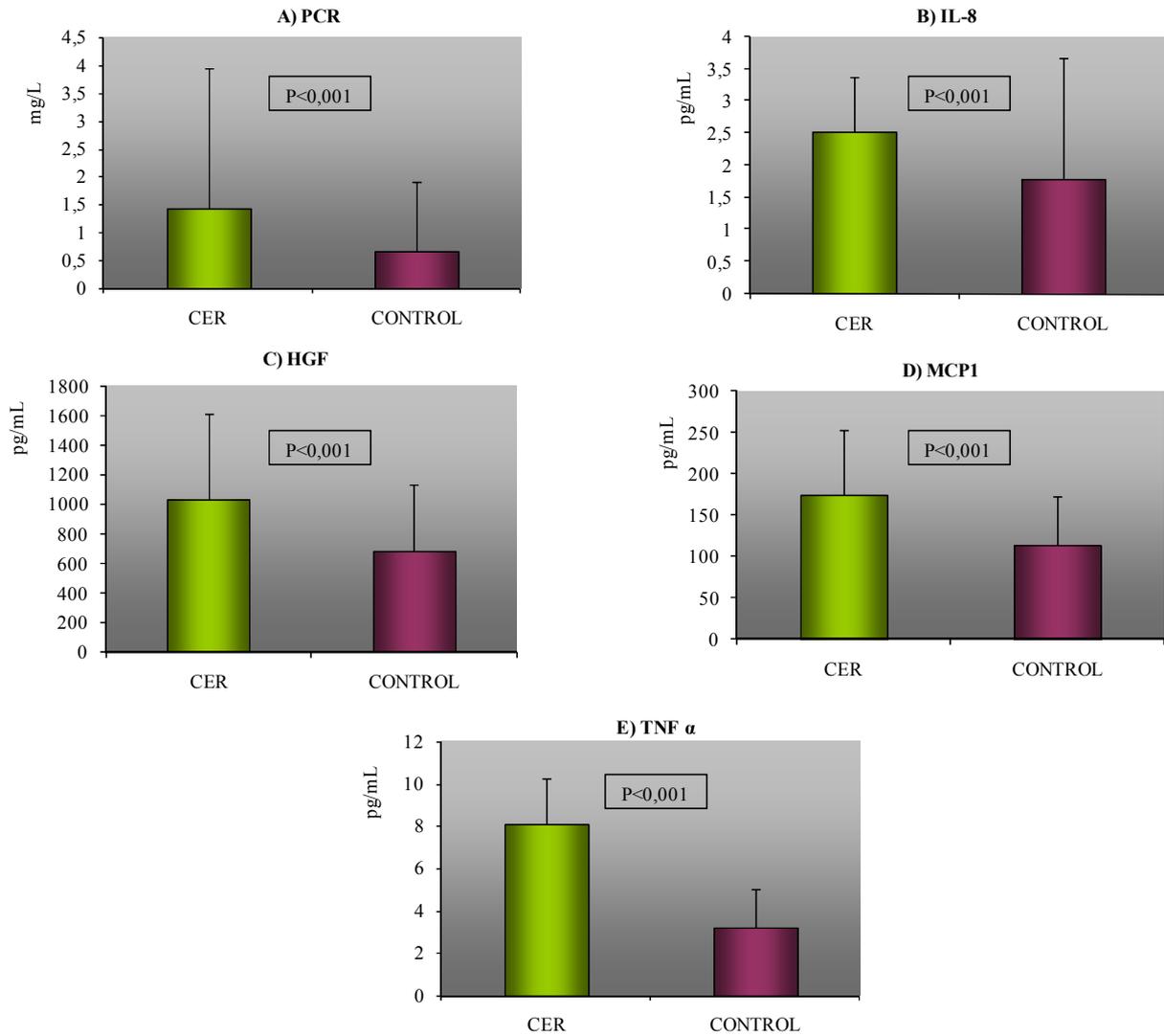


Figura 28. Parámetros bioquímicos de inflamación en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) Proteína C reactiva. B) Interleuquina 8. C) Factor de crecimiento hepatocitario. D) Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. E) Factor de necrosis tumoral alfa.

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. IL-8: Interleuquina-8. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

Los datos se expresan como media \pm DS siendo P el grado de significación estadística, obtenida mediante la prueba U de Mann-Whitney. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.6) Biomarcadores de oxidación

IV.6.1) Enzimas del sistema de defensa antioxidante

Las concentraciones de catalasa y GPox en el grupo CER fueron estadísticamente menores que las del grupo control. Los niveles de GR observados en los niños CER también fueron más bajos que los del grupo control, aunque los hallazgos no fueron significativos. Para la SOD no se encontraron diferencias entre ambos grupos (P=0,586). Las concentraciones de las enzimas se muestran en la figura 29.

IV.6.2) Parámetros exógenos del sistema de defensa antioxidante

Tanto β caroteno como tocoferol α se expresan además de referidos a 1 ml de plasma, por mg de TG ya que son vehiculizados asociados a lipoproteínas. Ambos parámetros fueron significativamente mayores en los niños pertenecientes al grupo CER que en los del grupo control, independientemente de sus unidades de expresión. Las concentraciones de β caroteno y tocoferol α referidas a 1 ml de plasma se muestran en la tabla 17. Por el contrario, las expresadas por mg de TG, junto con el retinol, se presentan en la figura 30. Como se muestra en la figura 30C, los niveles de retinol fueron significativamente menores en los niños con antecedentes de CER que en los controles.

Tabla 17. Concentraciones de β caroteno y tocoferol α expresadas por mililitro de plasma en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control).

Marcadores	CER	CONTROL	P
β Caroteno ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0,43 \pm 0,25	0,14 \pm 0,12	<0,001
Tocoferol α ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	13,80 \pm 2,92	8,20 \pm 1,83	<0,001

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. P: Significación estadística. Los datos son expresados como media \pm DS, siendo P el grado de significación estadística obtenida mediante la prueba U de Mann-Whitney para β caroteno y t de Student en el caso de tocoferol α . Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

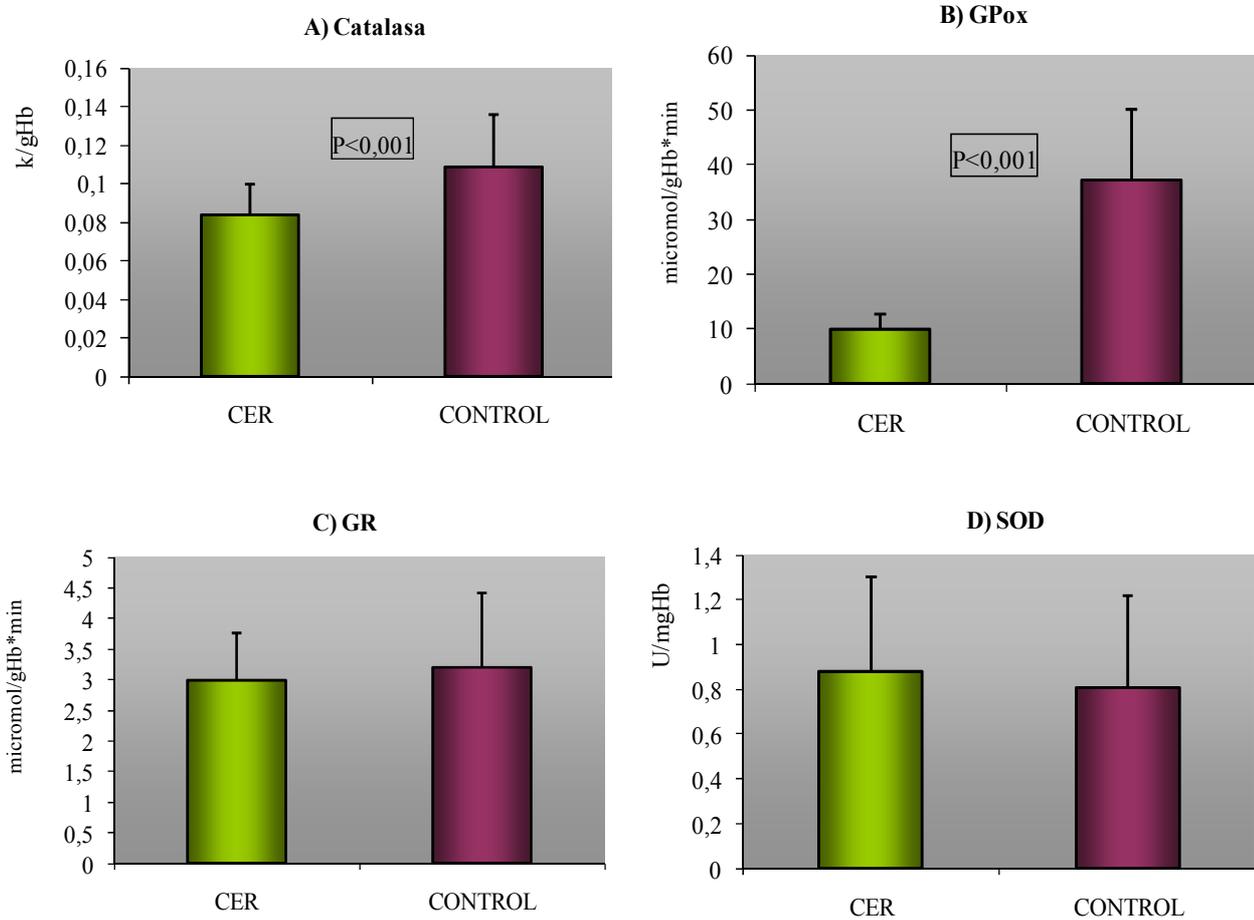


Figura 29. Enzimas del sistema de defensa antioxidante en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) Catalasa. B) Glutación peroxidasa. C) Glutación reductasa. D) Superóxido dismutasa.

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. GPox: Glutación peroxidasa. GR.: Glutación reductasa. SOD: Superóxido dismutasa.

Los datos se expresan como media \pm DS siendo P el grado de significación estadística, obtenida mediante la prueba t de Student para catalasa y U de Mann-Whitney para el resto de enzimas. Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

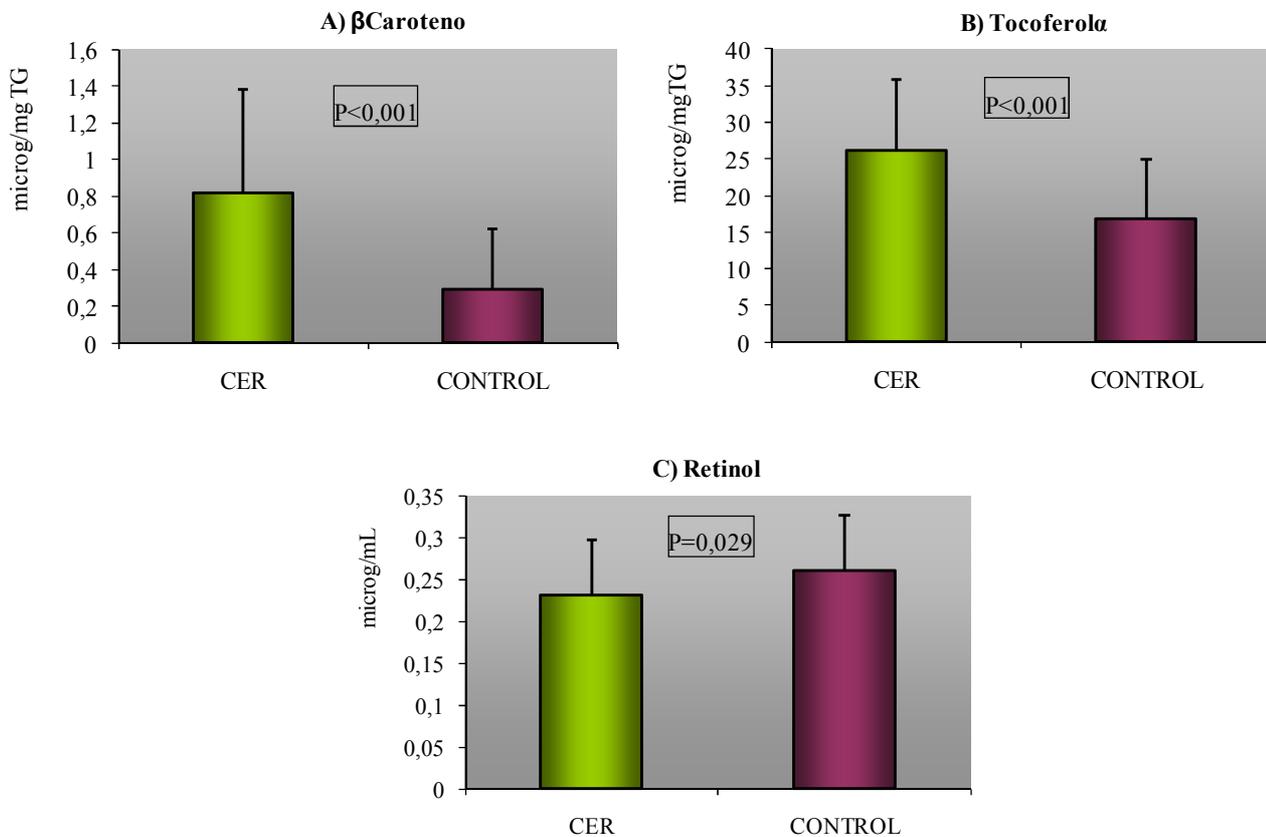


Figura 30. Parámetros exógenos del sistema de defensa antioxidante en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (grupo CER) y en los controles (grupo control). A) β Caroteno. B) Tocoferol α . C) Retinol.

CER: Crecimiento extrauterino retrasado.

Los datos se expresan como media \pm DS siendo P el grado de significación estadística, obtenida mediante la prueba t de Student para retinol y U de Mann-Whitney para β caroteno y tocoferol α . Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

IV.7) Análisis de correlación de las variables y biomarcadores estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado

Este análisis se realizó en los niños con antecedentes de CER y controles (por separado), y en todos los participantes en el estudio (de forma conjunta). Aunque las correlaciones obtenidas en el total de sujetos fueron más numerosas y más fuertes (posiblemente debido al mayor tamaño muestral) que las observadas en cada uno de los grupos por separado, se decidió mostrar más detenidamente las asociaciones observadas en el grupo de niños prepuberales con antecedentes de CER ya que se consideraron más específicas y relevantes para este trabajo. Los coeficientes de correlación (CC) que se presentan, corresponden a r de Pearson en los parámetros con distribución paramétrica y a ρ de Spearman para las variables cuya distribución es no paramétrica. Las correlaciones obtenidas entre dos marcadores se muestran una única vez, para no ser repetitivos con los resultados.

IV.7.1) Análisis de correlación entre los parámetros utilizados como criterio de la definición de crecimiento extrauterino retrasado y el resto de variables analizadas en el estudio

Se estudiaron las correlaciones existentes entre el peso en la semana 36 de EGC y el peso al alta de la Unidad de Neonatología (que son los dos parámetros que se consideraron como definatorios de la condición de ser CER en la etapa neonatal) con el resto de parámetros analizados en la etapa prepuberal. Las correlaciones más llamativas se muestran en la figura 31 y las demás en la tabla 18.

Tabla 18. Correlaciones entre el peso en la semana 36 de edad gestacional corregida y el peso al alta de la Unidad de Neonatología, y los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

Peso semana 36 EGC (g)	CC	P	Peso al alta (g)	CC	P
TAD (mmHg)	0,337	0,038	Ferritina (ng/mL)	0,421	0,009
			IL-1 β (pg/mL)	0,415	0,010
			NGF (pg/mL)	0,400	0,013

CC: Coeficiente de correlación. EGC: Edad gestacional corregida. IL-1 β : Interleuquina 1 beta. NGF: Factor de crecimiento neural. TAD: Presión arterial diastólica.

Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38).

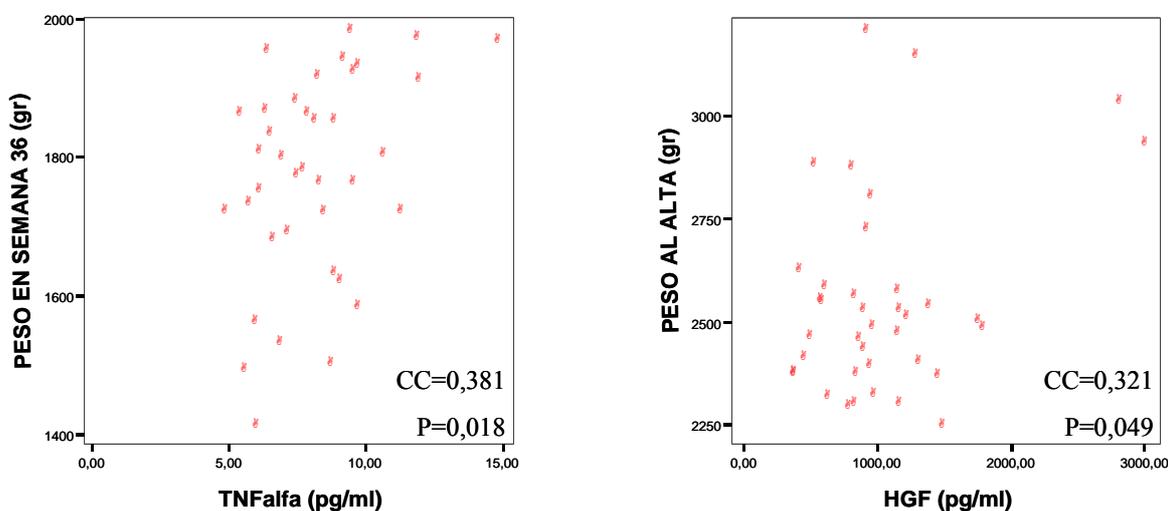


Figura 31. Correlaciones entre el peso en la semana 36 de edad gestacional corregida y el factor de necrosis tumoral alfa (izquierda) y entre el peso al alta de la unidad de neonatología y el factor de crecimiento hepatocitario (derecha).

CC: Coeficiente de correlación. HGF: factor de crecimiento hepatocitario. P: Significación estadística. TNF alfa: Factor de necrosis tumoral alfa.

IV. 7.2) Análisis de correlación de antropometría y tensión arterial

En el caso del IMC, las asociaciones obtenidas se muestran en la tabla 19. La TAS de los niños con antecedentes de CER presentó una asociación moderada (CC=0,486; P=0,002) con la TAD, así como con la glucosa (CC=0,356; P=0,031), insulina (CC=0,349; P=0,034), índice HOMA (CC=0,370; P=0,024) y GPox (CC=0,356; P=0,042). La TAD en el caso del grupo CER no presentó ninguna correlación significativa.

Tabla 19. Correlaciones del índice de masa corporal con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado participantes en el estudio.

IMC (Kg/m ²)	CC	P
Ácido úrico (mg/dL)	0,366	0,026
TG (mg/dL)	0,408	0,011
Apo A-1 (mg/dL)	0,331	0,042
Insulina (mU/L)	0,624	<0,001
HOMA	0,588	<0,001
Leptina (pg/mL)	0,844	<0,001
IL-8 (pg/mL)	-0,424	0,008
βCaroteno (μg/mg TG)	-0,355	0,029
Tocoferolα (μg/mg TG)	0,330	0,031
Retinol (μg/mL)	0,541	<0,001

Apo A-1: Apoproteína A-1. HOMA: Índice de resistencia a insulina. IMC: Índice de masa corporal. TG: Triglicéridos.
Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38).

En el análisis de correlación efectuado en el total de los niños participantes en el estudio (grupos CER y control), se observaron importantes asociaciones entre la TA y el resto de parámetros evaluados por lo que dichas relaciones se muestran en la tabla 20 y en la figura 32.

Tabla 20. Correlaciones entre la tensión arterial sistólica y diastólica con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en el total de los niños prepuberales participantes en este estudio.

TAS (mmHg)	CC	P	TAD (mmHg)	CC	P
Resistina (pg/mL)	0,451	<0,001	Adiponectina (µg/mL)	-0,370	<0,001
Leptina (pg/mL)	0,224	0,005	Resistina (pg/mL)	0,391	<0,001
PCR (mg/L)	0,192	0,016	TNF α (pg/mL)	0,425	<0,001
IL-6 (pg/mL)	-0,176	0,033	Catalasa (k/gHb)	-0,248	0,005
IL-8 (pg/mL)	0,168	0,037	GPox (µmol/gHb*min)	-0,445	<0,001
NGF (pg/mL)	-0,176	0,032	βCarotenos (µg/mg TG)	0,329	<0,001
Catalasa (k/gHb)	-0,248	0,002	Tocoferola (µg/mg TG)	0,255	0,001
SOD (U/mgHb)	0,181	0,029			
βCarotenos (µg/mg TG)	0,350	<0,001			
Tocoferola (µg/mg TG)	0,312	<0,001			

CC: Coeficiente de correlación. GPox: Glutación peroxidasa. IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. NGF: Factor de crecimiento neural. PCR: Proteína C reactiva. SOD: Superóxido dismutasa. TAD: Tensión arterial diastólica. TAS: Tensión arterial sistólica.

Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

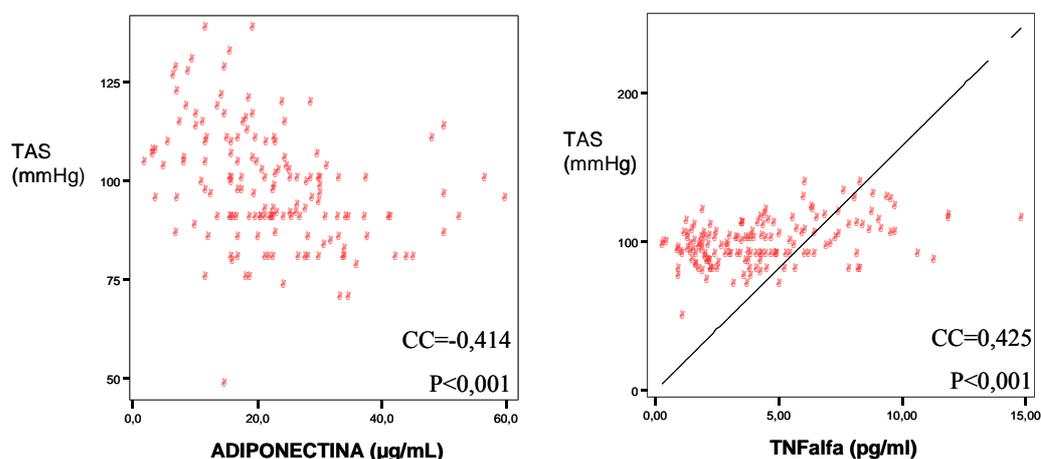


Figura 32. Correlaciones de la tensión arterial sistólica con la adiponectina (izquierda) y con el factor de necrosis tumoral alfa (derecha) en el total de los niños estudiados.

CC: Coeficiente de correlación. P: Significación estadística. TAS: Tensión arterial sistólica. TNF alfa: Factor de necrosis tumoral alfa.

IV.7.3) Análisis de correlación de los marcadores bioquímicos generales

En el grupo CER el ácido úrico presentó una asociación negativa y moderada con la catalasa (CC=-0,349; P=0,046) y con el β caroteno (CC=-0,512; P=0,001). En relación con el perfil lipídico, los niños del grupo CER presentaron diversas asociaciones. Los principales resultados del análisis de correlación para el HDLc se presentan en la tabla 21 y en la figura 33.

Tabla 21. Correlaciones del colesterol de lipoproteínas de alta densidad con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado participantes en el estudio.

HDLc (mg/dL)	CC	P
Glucosa (mg/dL)	0,379	0,019
Adiponectina (μ g/mL)	0,331	0,042
PCR (mg/L)	-0,401	0,013
IL-1 β (pg/mL)	0,373	0,021
IL-6 (pg/mL)	-0,358	0,035

CC: Coeficiente de correlación. HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. IL-1 β : Interleuquina 1 beta. IL-6: Interleuquina 6. PCR: Proteína C reactiva.

Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38).

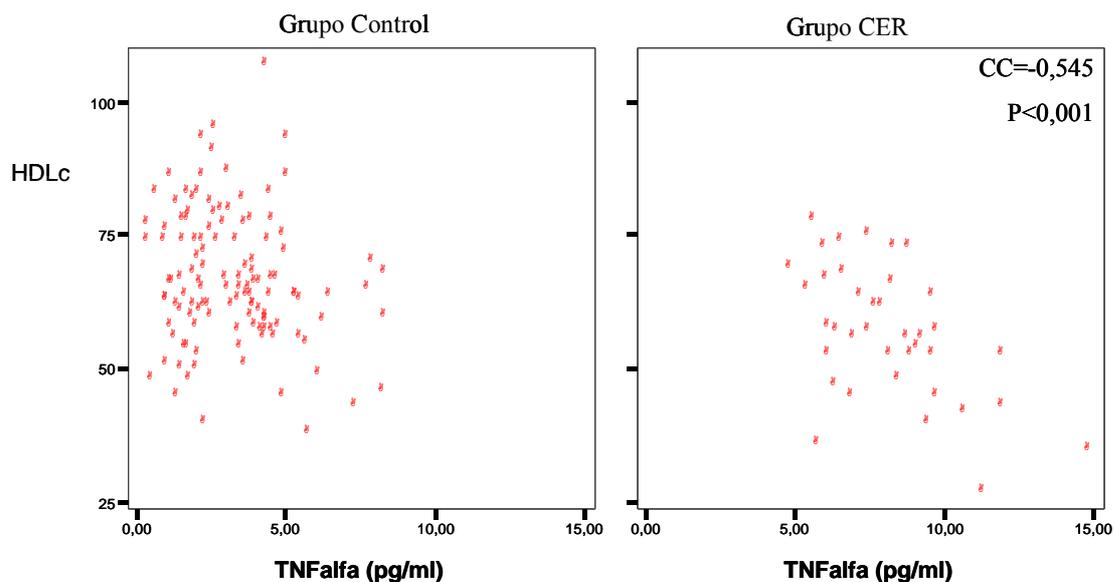


Figura 33. Correlación entre el colesterol de lipoproteínas de alta densidad con el factor de necrosis tumoral alfa en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (derecha) y en los controles (izquierda).

CC: Coeficiente de correlación. CER: Crecimiento extrauterino retrasado. HDLc: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. P: Significación estadística. TNF alfa: factor de necrosis tumoral alfa.

Por otro lado, en los niños con antecedentes de CER, la resistina se correlacionó moderadamente con los parámetros del perfil lipídico LDLc (CC=0,355; P=0,029) y Apo B (CC=0,442; P=0,005) y la leptina, presentó asociaciones moderadas con el colesterol total (CC=0,321; P=0,049) y TG (CC=0,630; P<0,001). En cuanto a los biomarcadores de inflamación, la PCR mostró una asociación inversa y moderada con la Apo A-1 (CC=-0,373; P=0,021), la IL-1 β se correlacionó moderadamente con los TG (CC=0,352; P=0,030), el HGF con los TG (CC=-0,428; P=0,007) y con la Apo B (CC=-0,358; P=0,027), el TNF α con la Apo A-1 (CC=-0,545; P<0,001) y el PAI1t con los TG (CC=0,429; P=0,007). El biomarcador de oxidación tocoferol α se correlacionó con el colesterol total (CC=-0,790; P<0,001), con el LDLc (CC=-0,797; P<0,001) y con la Apo B (CC=0,693; P<0,001).

Las principales correlaciones observadas en los niños prepuberales con antecedentes de CER en relación con los marcadores del metabolismo hidrocarbonado se muestran a continuación. En la tabla 22 se presentan las asociaciones obtenidas para la glucosa, mientras que en la tabla 23 y en la figura 34 se exponen las principales relaciones observadas en el caso de la insulina. Para el índice HOMA, las principales correlaciones obtenidas en los niños CER se exponen en la tabla 24.

Tabla 22. Principales asociaciones de la glucosa con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

GLUCOSA (md/dL)	CC	P
PCR (mg/L)	-0,369	0,023
NGF (pg/mL)	0,612	<0,001
TNF α (pg/mL)	-0,358	0,027
PAI1t (pg/mL)	-0,442	0,006
Tocoferol α (μ g/mgTG)	0,331	0,042

CC: Coeficiente de correlación. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa. Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38).

Tabla 23. Principales asociaciones de la insulina con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

INSULINA (mU/L)	CC	P
TG (mg/dL)	0,449	0,005
IL-8 (pg/mL)	-0,341	0,036
Catalasa (k/gHb)	-0,444	0,014
GPox (μ mol/gHb*min)	0,445	0,008
GR (μ mol/gHb*min)	-0,417	0,014
Retinol (μ g/mL)	0,376	0,020

CC: Coeficiente de correlación. GPox: Glutación peroxidasa. GR: Glutación reductasa. IL-8: Interleuquina 8. TG: Triglicéridos. Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38).

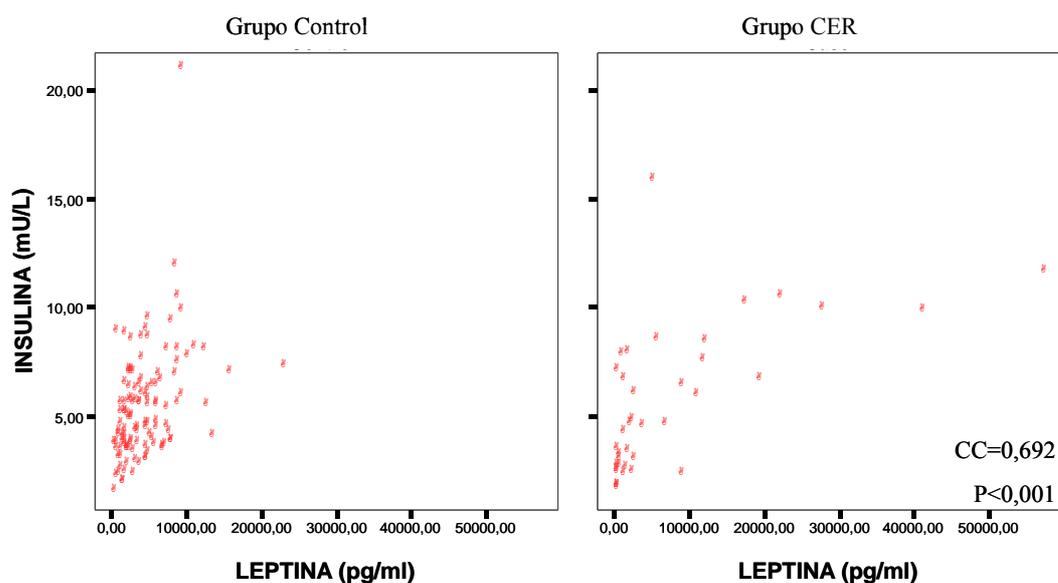


Figura 34. Análisis de correlación entre la insulina y la leptina en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (derecha) y en los sujetos del grupo control (izquierda).

CC: Coeficiente de correlación. CER: Crecimiento extrauterino retrasado. P: Significación estadística.

Tabla 24. Principales asociaciones del índice HOMA con los distintos parámetros y biomarcadores estudiados en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

ÍNDICE HOMA	CC	P
TG (mg/dL)	0,402	0,012
Leptina (pg/mL)	0,562	<0,001
IL-8 (pg/mL)	0,348	0,032
GPox ($\mu\text{mol/gHb}\cdot\text{min}$)	0,450	0,008
GR ($\mu\text{mol/gHb}\cdot\text{min}$)	-0,416	0,014
Retinol ($\mu\text{g/mL}$)	0,377	0,020

CC: Coeficiente de correlación. GPox: Glutación peroxidasa. GR: Glutación reductasa. HOMA: Índice de resistencia a la insulina. IL-8: Interleuquina 8. TG: Triglicéridos.

Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC) y significación estadística (P). Grupo CER (n: 38).

IV.7.4) Análisis de correlación de las adipoquinas con los biomarcadores de inflamación y de oxidación

En el grupo de niños con antecedentes de CER, la adiponectina únicamente se asoció a la resistina de forma moderada e inversa (Figura 35 arriba). En estos niños, la resistina se correlacionó de manera directa con los biomarcadores de inflamación PCR (CC=0,352; P=0,030) e IL-6 (Figura 35 abajo). Por otro lado, la leptina mostró asociación moderada en el grupo de niños CER con la IL-8 (CC=-0,401; P=0,008), el HGF (CC=0,351; P=0,031), tocoferola (CC=-0,397; P=0,014) y con el retinol (CC=0,531; P=0,001). Sin embargo, en la tabla 25 y en la figura 36 se muestran las correlaciones de las adipoquinas del total de los niños participantes en el estudio, ya que también se consideraron relevantes para este trabajo.

Tabla 25. Principales asociaciones significativas de las adipoquinas con los biomarcadores de inflamación y con los parámetros de oxidación en el total de los niños participantes en el estudio.

Marcadores	Adiponectina (µg/mL)	Resistina (pg/mL)	Leptina (pg/mL)
Adiponectina (µg/mL)		CC=-0,396; P<0,001	
Resistina (pg/mL)			
Leptina (pg/mL)		CC=0,251; P=0,001	
PCR (mg/L)		CC=0,343; P=0,035	CC=0,162; P=0,041
IL-1 β (pg/mL)			
IL-6 (pg/mL)	CC=0,180; P=0,028	CC=0,444; P=0,008	
IL-8 (pg/mL)	CC=-0,308; P<0,001	CC=0,223; P=0,005	CC=-0,180; P=0,023
HGF (pg/mL)	CC=-0,170; P=0,038	CC=0,248; P=0,002	CC=0,324; P<0,001
NGF (pg/mL)		CC=-0,173; P=0,033	
MCP1 (pg/mL)	CC=-0,194; P=0,014	CC=0,195; P=0,013	
TNFα (pg/mL)	CC=-0,426; P<0,001	CC=0,539; P<0,001	CC=0,179; P=0,023
PAI1t (pg/mL)			
Catalasa (K/gHb)	CC=0,354; P<0,001	CC=-0,257; P=0,004	CC=-0,257; P=0,004
GPox (µmol/gHb*min)	CC=0,439; P<0,001	CC=-0,542; P<0,001	CC=0,179; P=0,026
GR (µmol/gHb*min)		CC=-0,343; P=0,047	
SOD (U/mgHb)			CC=-0,187; P=0,022
βCaroteno (µg/mgTG)	CC=-0,377; P<0,001	CC=0,400; P<0,001	CC=-0,178; P=0,025
Tocoferola (µg/mgTG)	CC=-0,475; P<0,001	CC=0,034; P<0,001	CC=-0,344; P<0,001
Retinol (µg/mL)			

CC: Coeficiente de correlación. CER: crecimiento extrauterino retrasado. GPox: Glutación peroxidasa. GR: Glutación reductasa. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. IL: Interleuquina. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. TNFα: Factor de necrosis tumoral alfa. NGF: Factor de crecimiento neural. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. SOD: Superóxido dismutasa. TNFα: Factor de necrosis tumoral alfa. Los datos se expresan como coeficiente de correlación (CC); significación estadística (P). Grupo CER (n: 38) y grupo control (n: 123).

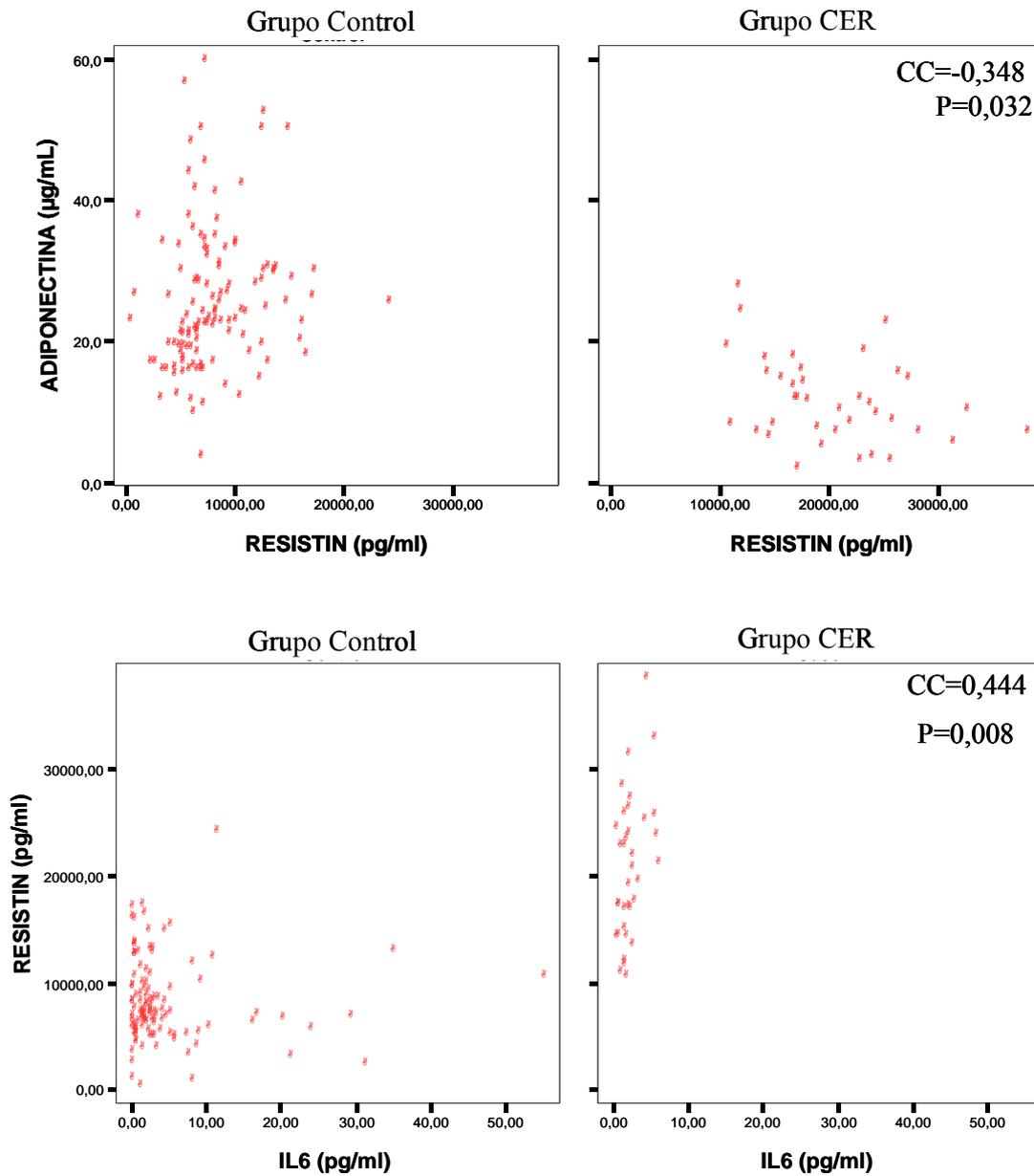


Figura 35. Correlación entre la adiponectina y la resistina (arriba) y entre la resistina y la interleuquina 6 (abajo), en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado (derecha) y en los niños control (izquierda).

CC: Coeficiente de correlación. CER: Crecimiento extrauterino retrasado. IL-6: Interleuquina 6. P: Significación estadística.

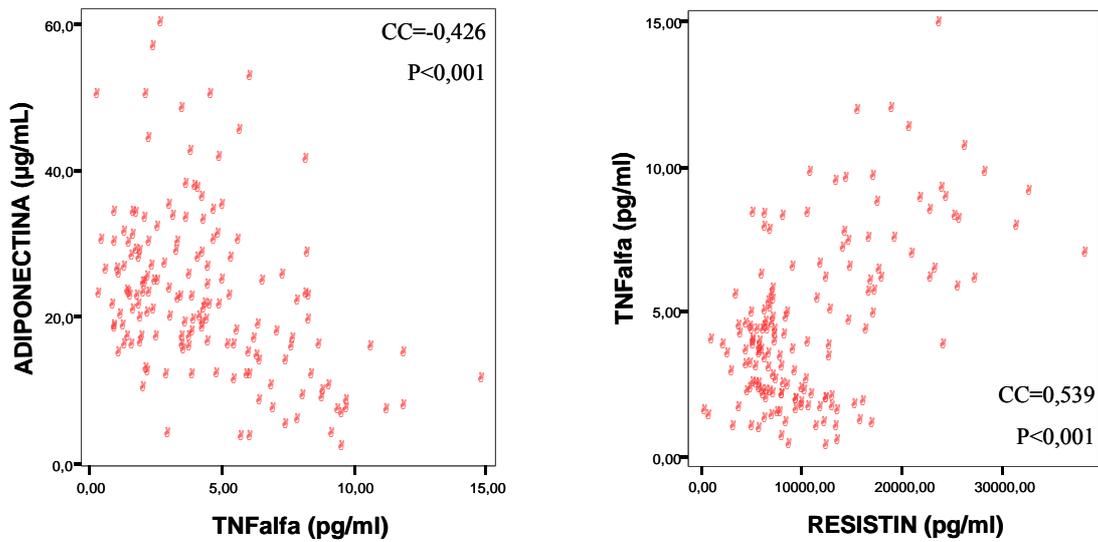


Figura 36. Correlaciones de la adiponectina (izquierda) y de la resistina (derecha) con el factor de necrosis tumoral alfa en todos los sujetos participantes en el estudio.

CC: Coeficiente de correlación. P: Significación estadística. TNF alfa: Factor de necrosis tumoral alfa.

IV.7.5) Correlaciones de los biomarcadores de inflamación

Los principales resultados del análisis de correlación se muestran en la tabla 26. Cómo puede observarse, las asociaciones fueron más numerosas en el total de los sujetos estudiados que en los niños prepuberales con antecedentes de CER, aunque en estos niños las relaciones fueron muy fuertes. Dos de las asociaciones más significativas de los biomarcadores de inflamación en los prepúberes con antecedentes de CER se presentan en la figura 37.

Tabla 26. Análisis de correlación entre los distintos biomarcadores de inflamación.

	PCR (mg/L)	IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)	HGF (pg/mL)	NGF (pg/mL)	MCP1 (pg/mL)	TNF α (pg/mL)	PAI1t (pg/mL)
PCR (mg/L)			0,667 <0,001					0,373 0,021	
IL-1 β (pg/mL)				-0,388 0,044		0,862 <0,001			
IL-6 (pg/mL)	0,650 ¹ <0,001 ²								0,346 0,042
IL-8 (pg/mL)		-0,328 0,044	0,666 <0,001				0,414 0,010	0,327 0,045	0,424 0,008
HGF (pg/mL)	0,193 0,018		0,211 0,013	0,382 0,001			0,422 0,008	0,423 0,008	
NGF (pg/mL)	0,373 0,021	0,790 <0,001	0,690 0,001	0,478 <0,001					
MCP1 (pg/mL)				0,430 <0,001	0,538 <0,001			0,417 0,009	0,424 0,008
TNF α (pg/mL)	0,220 0,005			0,554 <0,001	0,600 <0,001	0,208 0,010	0,616 <0,001		
PAI1t (pg/mL)			0,346 0,042	0,424 0,008	0,214 <0,001	-0,172 0,034	0,389 0,008		

CC: Coeficiente de correlación. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. IL-1 β : Interleuquina 1 beta. IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

Grupo CER (n: 38) y total (n: 161). En fondo amarillo se muestran las asociaciones obtenidas en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y en fondo azul las correlaciones observadas en el total de los niños participantes en el estudio.

⁽¹⁾, Coeficiente de correlación.

⁽²⁾, Significación estadística.

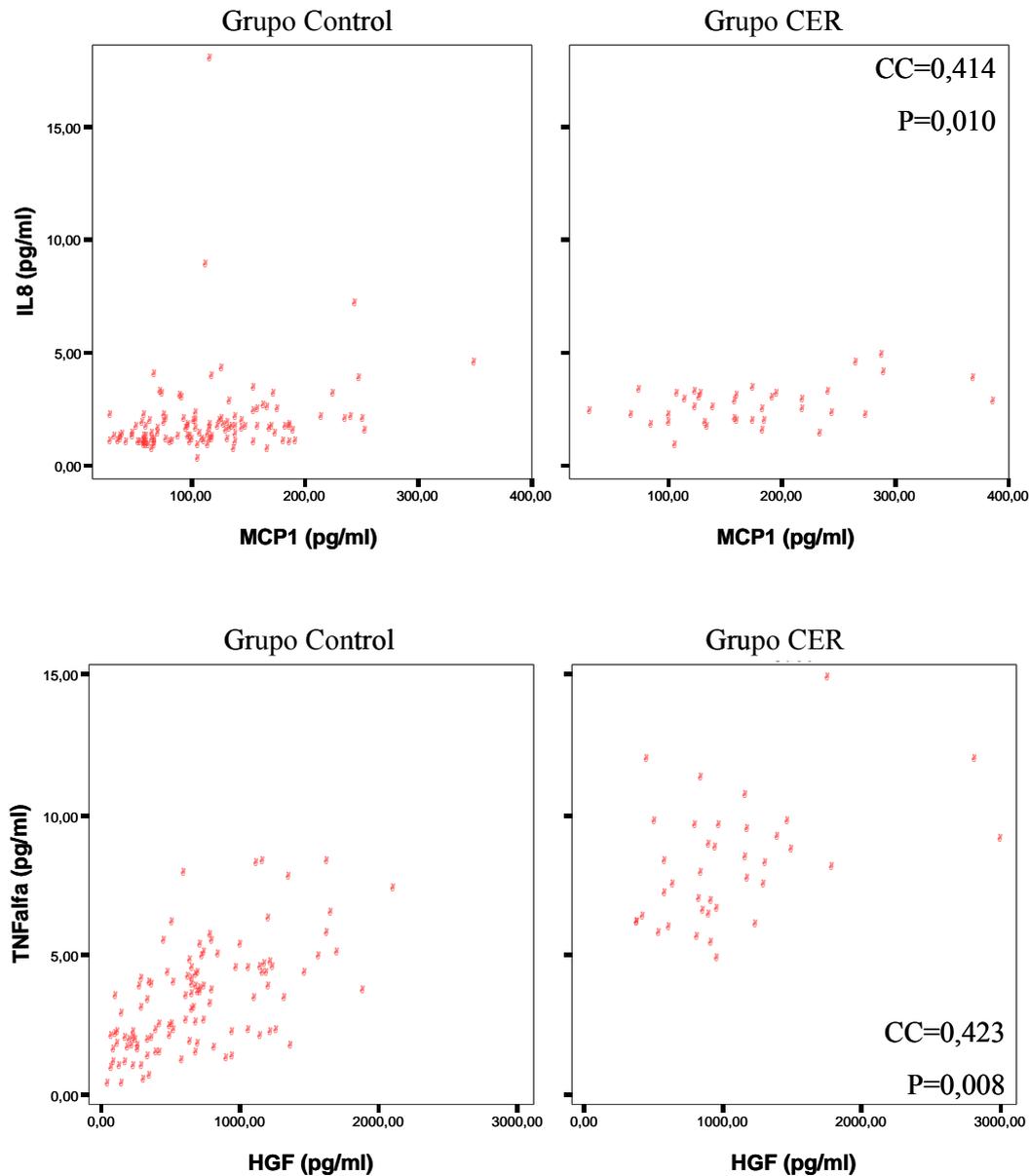


Figura 37. Correlación entre la interleuquina 8 y marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1 (arriba), y asociación entre el factor de crecimiento hepatocitario y el factor de necrosis tumoral alfa (abajo) en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

CC: Coeficiente de correlación. CER: Crecimiento extrauterino retrasado. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. IL-8: Interleuquina 8. MCP1: Marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1. P: Significación estadística. TNF alfa: Factor de necrosis tumoral alfa.

IV.7.6) Análisis de correlación de los biomarcadores de estrés oxidativo entre sí y con los biomarcadores de inflamación

IV.7.6.1) Antioxidantes enzimáticos

Los resultados significativos del análisis de correlación de las enzimas del SDA tanto en los niños prepuberales con antecedentes de CER como en el total de los participantes en el estudio se muestran en la tabla 27. Las asociaciones fueron más numerosas en el total de los sujetos estudiados, sin embargo, fueron más fuertes en los niños con antecedentes de CER, aunque en ambos casos relevantes.

IV.7.6.2) Antioxidantes exógenos no enzimáticos

Las asociaciones más relevantes de los marcadores exógenos del SDA entre sí y con los biomarcadores de inflamación se muestran en la tabla 28. Las correlaciones fueron más numerosas en el total de los niños estudiados, por lo que se decidió mostrar los resultados de ambos análisis, no sólo los de los niños con antecedentes de CER.

Tabla 27. Principales asociaciones de los antioxidantes enzimáticos entre sí, así como con los antioxidantes exógenos no enzimáticos y con los biomarcadores de inflamación.

	<i>Catalasa</i> (K/gHb)	<i>GPox</i> ($\mu\text{mol/gHb} \cdot \text{min}$)	<i>GR</i> ($\mu\text{mol/gHb} \cdot \text{min}$)	<i>SOD</i> (U/mgHb)
<i>GPox</i> ($\mu\text{mol/gHb} \cdot \text{min}$)	0,241 ¹ ; 0,003 ²			
<i>GR</i> ($\mu\text{mol/gHb} \cdot \text{min}$)	0,503; 0,002	0,386; <0,001		
<i>SOD</i> (U/mgHb)			0,221; 0,007 0,440; 0,009	
β Caroteno ($\mu\text{g/mgTG}$)	-0,305; <0,001	-0,372; <0,001 0,427; 0,012		
<i>Tocoferola</i> ($\mu\text{g/mgTG}$)	-0,162; 0,045 -0,487; 0,003	-0,489; <0,001		
<i>Retinol</i> ($\mu\text{g/mL}$)	-0,346; 0,045	0,172; 0,034		
<i>IL-1β</i> (pg/mL)				
<i>IL-6</i> (pg/mL)	-0,177; 0,033 0,446; 0,012			
<i>IL-8</i> (pg/mL)	-0,214; 0,008	-0,214; 0,008 -0,405; 0,018		
<i>HGF</i> (pg/mL)		-0,178; 0,033		
<i>NGF</i> (pg/mL)		0,355; <0,001	0,275; <0,001	-0,206; 0,014
<i>MCP1</i> (pg/mL)		-0,337; <0,001		-0,195; 0,017
<i>TNF α</i> (pg/mL)	-0,257; 0,001	-0,456; <0,001	0,354; 0,040	

GPox: Glutación peroxidasa. GR: Glutación reductasa. HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. IL-1 β : Interleuquina 1 beta. IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. SOD: Superóxido dismutasa. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

Los datos se expresan como (¹), coeficiente de correlación (CC); (²), significación estadística (P). Grupo CER (n: 38) y total (n: 161). En negro se muestran las correlaciones en el total de los sujetos y en azul las asociaciones en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

Tabla 28. Principales asociaciones de los antioxidantes exógenos entre sí y con los biomarcadores de inflamación.

	<i>β</i> Caroteno ($\mu\text{g}/\text{mgTG}$)	Tocoferola ($\mu\text{g}/\text{mgTG}$)	Retinol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>β</i> Caroteno ($\mu\text{g}/\text{mgTG}$)			
Tocoferola ($\mu\text{g}/\text{mgTG}$)	0,581 ¹ ; <0,001 ² 0,486; 0,002		
Retinol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		0,263; 0,001 0,472; 0,003	
PCR (mg/L)	0,171; 0,031	0,247; 0,002	-0,174; 0,028
IL-1 β (pg/mL)			-0,344; 0,034
IL-6 (pg/mL)		-0,363; 0,032	
IL-8 (pg/mL)	0,262; 0,001	0,327; 0,001	
HGF (pg/mL)	0,176; 0,032	0,331; 0,042	-0,205; 0,012
NGF (pg/mL)			0,349; 0,032
MCP1 (pg/mL)	0,158; 0,046	0,179; 0,024	-0,193; 0,015
TNF α (pg/mL)	0,410; <0,001	0,442; <0,001	-0,212; 0,007
PAI1t (pg/mL)		-0,342; 0,035	

HGF: Factor de crecimiento hepatocitario. IL-1 β : Interleuquina 1 beta. IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

Los datos se expresan como (¹), coeficiente de correlación (CC); (²), significación estadística (P). Grupo CER (n: 38) y total (n: 161). En negro se muestran las correlaciones en el total de los sujetos y en azul las asociaciones en los niños prepuberales con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado.

IV.8) Análisis factorial de las adipoquinas y biomarcadores de inflamación en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado y en el grupo control

Este estudio estadístico se realizó con las adipoquinas y los biomarcadores de inflamación, y en todos los participantes en el estudio. Se partió de un total de 11 parámetros a los que se les realizó una matriz de correlaciones, tras dicho estudio, los biomarcadores se sometieron a una extracción mediante el análisis de componentes principales. Los principales resultados obtenidos del análisis se muestran en la tabla 29. Los marcadores IL-6, IL-8, MCP1 y TNF α fueron los que presentaron mayor extracción; 0,861, 0,738, 0,805 y 0,798, respectivamente. Se extrajeron 4 componentes; el componente factorial formado por HGF, MCP1, TNF α y resistina explicaría el 26% de la variabilidad de la inflamación de los niños CER. Si se añadiese el componente formado por IL-6, IL-8 y NGF, dicho porcentaje ascendería hasta el 47% y con la suma del componente 3 (PAI1t) hasta el 59%. Por último, el componente formado por adiponectina y leptina junto con los demás componentes explicaría hasta el 69% de la variabilidad de la inflamación.

Tabla 29. Componentes del análisis factorial de los biomarcadores de inflamación y adipoquinas.

Parámetros	Componentes			
	1	2	3	4
PCR (mg/L)	0,303	-0,010	-0,56	0,4
HGF (pg/mL)	0,736	0,134	0,194	0,316
IL-6 (pg/mL)	-0,109	0,914	-0,077	0,084
IL-8 (pg/mL)	0,271	0,797	0,107	-0,136
MCP1 (pg/mL)	0,694	0,031	0,563	-0,075
NGF (pg/mL)	-0,122	0,812	-0,019	0,023
TNF α (pg/mL)	0,861	0,120	-0,059	-0,196
PAI1t (pg/mL)	0,204	-0,224	0,619	0,262
Adiponectina (μ g/mL)	-0,520	0,183	0,208	0,504
Leptina (pg/mL)	0,397	-0,083	-0,212	0,624
Resistina (pg/mL)	0,661	-0,098	-0,433	-0,184

HGF: Factor de crecimiento hepático. IL-6: Interleuquina 6. IL-8: Interleuquina 8. MCP1: Marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1. NGF: Factor de crecimiento neural. PAI1t: Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total. PCR: Proteína C reactiva. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

Discusión

V) DISCUSIÓN

V.1) VALORACIÓN DE LOS ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

V.1.1) Antecedentes relacionados con la gestación, el parto y la etapa perinatal

En la revisión bibliográfica efectuada se han consultado diversos trabajos que han estudiado la etapa perinatal de los neonatos con CER. Sin embargo, no se han encontrado estudios de niños, adolescentes y adultos con antecedentes de CER, por lo que el estudio de la edad prepuberal de trabajo es muy novedoso. Hasta el momento se ha considerado que los neonatos CER cuando alcanzan el catch up de crecimiento y son dados de alta no necesitan ninguna revisión y que su desarrollo y patología futura no estarán influenciados por esta condición de la etapa neonatal. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio no corroboran dichas afirmaciones.

La media de edad materna fue de 30 ± 4 años y el 66% presentaron una gestación única. No se ha descrito en la revisión bibliográfica realizada incremento de la incidencia de CER con la gestación múltiple. En la mayoría de los estudios, la tasa de embarazos gemelares se sitúa en torno al 29% (Olsen et al, 2002), por ello, nuestros datos concuerdan con los observados en la bibliografía. El 70% de las madres no presentaron ningún antecedente de interés durante la gestación y el 7% preclampsia. Esta última es una de las patologías más frecuentemente descrita en las madres de neonatos con CER. Se ha demostrado que su presencia aumenta la incidencia, así como también la escasa ingesta materna, las infecciones y los efectos de los fármacos (Wit et al, 2006). Dentro de los efectos farmacológicos, los esteroides prenatales son los que más interfieren con el crecimiento del niño (Meas et al, 2010 b). En el estudio de Costas y colaboradores la incidencia de medicación materna con corticoides prenatales se situó en el 78% (Costas et al, 2005), porcentaje similar al encontrado en el estudio de Bloom de 2003 (73%) y al 71% observado por Olsen y colaboradores en 2002. Otros autores afirmaron que la influencia de los corticoides en la etapa prenatal es positiva para el feto, y se observó en el 62% de las madres CER estudiadas (Clark et al, 2003 b). En este trabajo el porcentaje de corticoides prenatales se sitúa en el 57%; más bajo que la media encontrada por otros autores. En este trabajo el 61% de los partos fueron por cesárea, y

en otros la incidencia fue mayor (89% para Costas et al, 2005), aunque este dato parece irrelevante ya que ningún estudio publicado relaciona el tipo de parto con la incidencia de CER.

La EG se valora más frecuentemente mediante control ecográfico o bien a partir del último periodo menstrual (Martin et al, 2009; Sakurai et al 2008). En este trabajo dicha medida se realizó por control ecográfico. Los factores más importantes que influyen en el crecimiento extrauterino son el peso y la EG al nacimiento (Shan et al, 2007). Estos actúan de forma inversa, es decir, a menor peso al nacimiento y menor EG, mayor riesgo de padecer CER (Sakurai et al, 2008). En la tabla 30 se muestran los principales parámetros estudiados en la etapa perinatal y neonatal de los neonatos CER de este trabajo y de los diferentes estudios consultados. Las medias de la EG de los neonatos CER son muy similares entre las diferentes publicaciones. Por otro lado, el peso al nacimiento es variable, aunque parecido. No todos los estudios publicados valoran la talla y el perímetro craneal al nacimiento, sin embargo Sakurai y colaboradores si lo hacen, obteniendo de media una talla de 35,9 cm y un perímetro craneal de 26,4 cm. En nuestra población, ambos parámetros fueron muy similares (Talla: 36,9 cm y perímetro craneal: 26,5 cm). Algunos autores han encontrado una relación positiva entre CER y el género masculino (Shan et al, 2007; Shan et al, 2009). A excepción de Sakurai, el resto de autores, incluyendo este trabajo, han encontrado mayor prevalencia de CER en los neonatos de género masculino (Tabla 30).

Dado que los diferentes autores han empleado tablas de antropometría y poblaciones diferentes, así como criterios de inclusión variables (curvas utilizadas, percentiles usados en la definición o el parámetro antropométrico evaluado); la falta de uniformidad hace que la prevalencia del CER sea variable en los distintos estudios realizados. Sería importante distinguir y definir muy claramente la población a estudio, ya que los RN que experimentan CER pueden ser tanto RN a término nacidos PEG como consecuencia del CIR, como RN pretérmino con adecuado crecimiento al nacimiento para su EG que desarrollan CER en la etapa perinatal así como RN pretérmino que presentaron CIR y nacieron PEG, y que desarrollaron CER en el periodo perinatal (Wit et al, 2006). Como se ha comentado en el apartado introducción, no existe consenso en la definición del término, ya que los diferentes autores consultados consideran CER a los neonatos con peso inferior al p3-10 de la semana 36 y/o más

frecuentemente al alta de la Unidad de Neonatología. En este estudio se seleccionaron los RN con peso al nacimiento inferior a 1500 gr. sin CIR y que desarrollaron CER exclusivamente en la etapa neonatal, valorando la escasa ganancia ponderal tanto en la semana 36 de EGC como al alta de la Unidad de Neonatología. Estos datos son fundamentales a la hora de comparar los resultados obtenidos entre los diferentes estudios.

Tabla 30. Comparación de los principales parámetros estudiados en los neonatos con crecimiento extrauterino retrasado de los diferentes estudios publicados en la bibliografía y los obtenidos en este trabajo.

Parámetro	Ortiz-Espejo, 2011	Costas, 2005	Bloom, 2003	Clark, 2003	Ernst, 2003	Olsen, 2002	Sakurai, 2008
EG (semanas)	29	29	28	31	27	27	29
Género masculino (%)	64		51	60		54	50
Peso al nacimiento (gr.)	1144	1140	1060	1300	880	1008	1077
Peso al alta (gr.)	2532	2442	2290				
Sepsis (%)	64	26	61	61		25	
EMH (%)	60						47
BDP (%)	23	28					
HIV>2 (%)	13		6	14			
ECN (%)	9	1	5	4		4	
DAP (%)	23	22	64	63		27	
ROP (%)	33	10	6				
Estancia hospitalaria (d)	81±32	70	57	47±31	72±22		
Surfactante (%)	66		69	38			
VM (% o d)	70%/10±18 d			42,5±43 d		27%	
Oxígeno (% o d)	100%/12d	23 d	26 d	13%			16%
Esteroides postnatales (%)	29	9	29	24		79	14
NP (d)	41±23	15	36±21		23±10		
Inicio NE (d)	7±11				5±3		4
Máxima pérdida ponderal (%)	12				15		16
Días en recuperar peso al nacimiento (d)	15	16			15		24

BDP: Broncodisplasia pulmonar. d: Días. DAP: Ductus arterioso permeable. ECN: Enterocolitis necrotizante. EG: Edad gestacional. EMH: Enfermedad de membrana hialina. HIV: Hemorragia intraventricular. NE: Nutrición enteral. NP: Nutrición parenteral. ROP: Retinopatía del prematuro. VM: Ventilación mecánica.

En el trabajo realizado por Costas y colaboradores (2005) con un total de 130 neonatos nacidos con menos de 1500 gr.; el 20% fueron CIR al nacimiento y todos ellos CER al alta de la Unidad de Neonatología. Otros autores seleccionaron todos los RN CIR que continuaron con un crecimiento escaso, con peso al nacimiento comprendido entre 400 y 1500 gr., de más de 22 semanas de EG, y de diferentes razas (negros 19%, hispanos; 19% y caucásicos; 53%) (Bloom et al, 2003). Otro estudio seleccionó 220 pretérminos nacidos con <1000g (peso medio al nacimiento (729,5±15 gr.) y menos de 29 semanas de EG, en los que se definió CER como el peso inferior al p10 con las curvas de Lubchenco y con un 14% de CIR entre los participantes (Radmacher et al, 2003). Otros autores estudiaron 24.000 pretérminos norteamericanos con EG comprendidas entre 23-34 semanas y consideraron CER a todo RN con peso inferior al p10 según las tablas de crecimiento intrauterino para su EG en el momento del alta. (Clark et al, 2003 b). Ernst y colaboradores (2003) estudiaron un grupo de 42 pretérmino con peso al nacimiento entre 751 y 1000gr. Por otro lado en un estudio realizado con 564 prematuros CER con menos de 30 semanas de EG se seleccionaron un 4% de RN con CIR (Olsen et al, 2002), y en otro estudio realizado en Japón con 416 prematuros nacidos con menos de 32 semanas de EG el porcentaje de CIR fue 33% (Sakurai et al, 2008). En la selección de los prematuros CER para el grupo de Shan y colaboradores los criterios de exclusión fueron las malformaciones fetales y la enfermedad materna metabólica o endocrina (Shan et al, 2007). En este trabajo también se excluyeron los sujetos con estos antecedentes.

El 100% de los neonatos CER que cumplieron los criterios de inclusión en este trabajo precisaron algún tipo de reanimación al nacimiento (1-5). Diversos autores (Rellan et al, 2008) han indicado que el 68% de los CER requirieron alguna medida de reanimación, incluyendo el 34% que precisó intubación endotraqueal. La tasa de reanimación desciende a medida que se eleva el peso y la EG del RN con CER. En el presente trabajo, el 15% y el 33% de los CER presentaron un test de Apgar grave (0-3) y con sospecha de anoxia (4-6) en el minuto 1, respectivamente. Aunque en el minuto 5 ningún RN presentó un test de Apgar grave, el 16% de la serie presentó sospecha de anoxia. Algunos autores observaron que el 17% de los RN CER presentaron un test de Apgar grave en el minuto 1 y el 2% de los niños en el minuto 5 (Costas et al, 2005). Clark y colaboradores en 2003 observaron que la mayoría de los sujetos presentaron un test de Apgar de 8 en el minuto 5 y el 27% de los CER estudiados por Olsen y su grupo,

en 2002, mostraron un test inferior a 7 para el minuto 5. Otros autores observaron para el 46% de los CER un test de Apgar inferior a 6 para el minuto 1 y para el 13% a los 5 minutos (Rellan et al, 2008). Por ello, los datos de este test son concordantes entre los diversos estudios.

En cuanto a la antropometría al nacimiento de los niños CER de este estudio, se dispusieron de los datos de peso, talla, perímetro craneal y perímetro torácico. En la semana 36 de EGC y al alta de la unidad de Neonatología únicamente se obtuvieron los valores de peso. Por ello, para la selección de los posibles participantes se valoraron los datos de peso al nacimiento, en la semana 36 y al alta.

Es aconsejable que cada Comunidad disponga de sus propias tablas de crecimiento intrauterino; dada la elevada variabilidad que muestran los parámetros antropométricos neonatales, en relación con factores raciales, genéticos, sociales, ambientales y estilos de vida maternos (Carrascosa et al, 2008 c). Es importante para esta valoración el uso de datos antropométricos de niños de la misma área geográfica (Sauer, 2007). De igual forma, dados los cambios somatométricos que se producen periódicamente en la población, es preciso revisar las tablas de crecimiento frecuentemente. Por ello, en nuestro estudio, para la selección de los sujetos basándonos en percentiles que se ajustasen a los criterios de inclusión y exclusión en el CER, se utilizaron las tablas de A. Carrascosa publicadas en 2008, ya que se consideró que son las que más se asemejan a nuestra población y han sido revisadas recientemente. Estas se realizaron tras estudio de un total de 9.362 RN vivos de raza caucásica, (4.884 varones y 4.478 niñas), de 26-42 semanas de edad gestacional en hospitales de Barcelona y Zaragoza. (Carrascosa et al, 2008 c).

Algunos autores aconsejan la utilización de los datos somatométricos separados para cada edad y sexo, ya que diferentes trabajos han confirmado dimorfismo sexual para los parámetros antropométricos así como incremento en sus valores para las EG evaluadas (Carrascosa et al, 2008 b, d). Otros autores, en cambio, al comparar peso, talla y perímetro craneal con otras variables entre neonatos con CER y un grupo control observaron diferencias significativas en todas las categorías estudiadas respecto al peso, a excepción del género (Sakurai et al, 2008). Por ello, aunque para la selección de los sujetos de este trabajo se utilizaron diferentes tablas para cada género, la exposición de

los resultados se hizo de forma conjunta, ya que no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros ni en ninguna de las variables estudiadas entre ambos géneros al igual que en el estudio de Sakurai y colaboradores (2008).

Los parámetros antropométricos más habitualmente utilizados para valorar el crecimiento intrauterino son el peso y la talla al nacimiento. Estas mediciones y su relación con la EG han permitido clasificar a los RN en pretérmino, a término y post-término; con peso adecuado o bajo para su EG, así como RN con crecimiento fetal normal, CIR o CER. Esta clasificación es útil porque permite identificar no sólo a aquellos RN con mayor morbimortalidad en el periodo neonatal sino también aquellos con mayor riesgo para desarrollar trastornos de crecimiento, enfermedades metabólicas y/o cardiovasculares en edades posteriores. (Carrascosa et al, 2008 b). El crecimiento lo podemos considerar como un signo de desarrollo, es una combinación compleja de cambios de peso, talla, perímetro craneal, y de la composición corporal. El crecimiento está influenciado por diferentes factores; genéticos, hormonales, nutricionales y ambientales (Sauer, 2007).

El peso al nacimiento es una de las características más importantes en la valoración del RN. Este no es sólo un reflejo del desarrollo intrauterino, sino que también está determinado por la duración de la gestación. Aunque la EG depende por completo de la historia materna, parece que la talla al nacimiento aporta mejor información de la condición intrauterina del feto, sin embargo es difícil medirla de forma precisa (Sauer, 2007). El peso es la variable más comúnmente utilizada en neonatos para valorar el crecimiento nutricional, especialmente en RN de más de 2 semanas de vida. (Meas et al, 2010 b). En este trabajo para la valoración antropométrica de los niños CER se decidió valorar el peso en los distintos momentos del estudio neonatal (nacimiento, semana 36 de EGC y alta de neonatología), ya que la mayoría de los autores consultados que han estudiado el CER han seleccionado dicho parámetro y lo han considerado como el más adecuado (Olsen et al, 2002; Clark et al, 2003 b; Wit et al, 2006; Shan et al, 2007; Sakurai et al, 2008; Martin et al, 2009; Shan et al, 2009). Al nacimiento también se valoraron la talla y el perímetro craneal ya que algunos autores los consideran parámetros igual o más importantes que el peso (Sauer, 2007; Sakurai et al, 2008).

Por todas estas consideraciones, se debería tener en cuenta en la valoración de las curvas del crecimiento intrauterino que se realizan en prematuros. Un ambiente intrauterino no óptimo puede causar una reducción en la ganancia ponderal e incluso un nacimiento pretérmino. Por ello, sería imposible evaluar adecuadamente el potencial crecimiento intrauterino de un niño prematuro. Se considera que no se deberían utilizar las curvas de crecimiento intrauterino como “gold standard”, ya que los ambientes intra y extrauterinos son totalmente diferentes, así como la alimentación del feto y del RN, que parece ser beneficiosa para el desarrollo neurológico pero perjudicial para el riesgo cardiovascular (Sauer, 2007). El retraso del crecimiento es difícil de valorar, ya que está influenciado por muchos factores como la EG, las complicaciones neonatales, el estado nutricional y las curvas de crecimiento utilizadas, fundamentalmente (Meas et al, 2010 a).

En la etapa intrauterina, las hormonas que influyen el crecimiento son la IGF1 y 2, la proteína de unión 3 al factor de crecimiento insulínico (IGBP3) y la insulina. En el periodo postnatal, la tiroxina se convierte en el factor más determinante. Por otro lado, los nutrientes más importantes para el feto son glucosa, lactato y aminoácidos. Tras el nacimiento la grasa de la leche materna es la que aporta más energía. El ambiente fetal es completamente distinto a la situación tras el nacimiento; en el útero materno el feto crece en un ambiente estéril y a temperatura controlada, y tras el nacimiento el neonato debe defenderse de las infecciones y regular su propia temperatura, por lo que la piel del pretérmino madura muy rápidamente (en una o dos semanas) para no perder calor por evaporación. Por ello, el ambiente intrauterino no sería comparable con el extrauterino. Tras el nacimiento es imposible aportar al RN los mismos nutrientes que recibe el feto a nivel intrauterino, ya que estos requerimientos son desconocidos y además, por la adaptación a la vida extrauterina, dichas necesidades son superiores. Las niñas presentan menores pesos que los niños. El pretérmino interrumpe la nutrición fetal en el momento en que el feto experimenta un gran crecimiento. En los primeros días de vida tras el nacimiento se produce una pérdida ponderal, combinación de agua y sólidos. El grado de pérdida de peso y el tiempo en recuperarlo tienen implicaciones a largo plazo (Sauer, 2007). El objetivo principal en las Unidades de Neonatología suele ser aportar al RN nutrición hasta alcanzar la velocidad de crecimiento similar a la del feto de su misma EG (Martin et al, 2009). En la figura 38 se muestra la velocidad de crecimiento normal de un sujeto desde el momento de la

concepción hasta los 17 años de edad. También se presenta la talla de los neonatos CIR y CER hasta la semana 100 de EGC, ambos por debajo de 2 DS (Wit et al, 2006). La duración y la pérdida ponderal máxima asumible por el neonatólogo antes de instaurar intervenciones correctivas depende de su juicio clínico, y difiere de la práctica médica y del estilo de cada Unidad de Neonatología (Olsen et al, 2002).

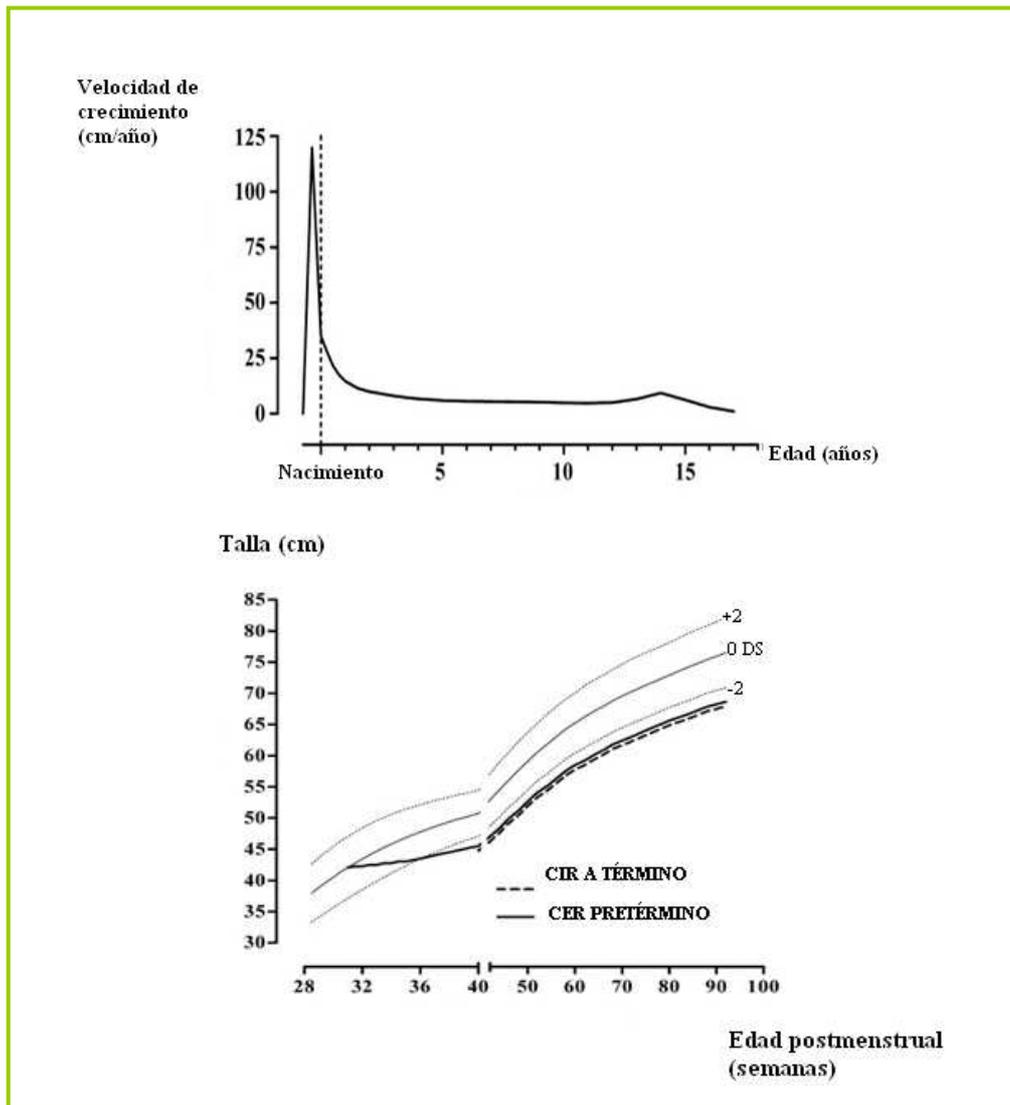


Figura 38. Arriba: Representación de la velocidad de crecimiento normal desde el momento de la concepción hasta los 17 años de edad. La velocidad de crecimiento fetal es máxima en la mitad de la gestación (10 cm por mes), y desciende hasta llegar a 35 cm por año en el momento del nacimiento. Abajo: Crecimiento de un niño nacido a término con crecimiento intrauterino retrasado (línea discontinua) y de un niño con crecimiento extrauterino retrasado (línea continua). Las curvas de referencia son para el género masculino; las del crecimiento prenatal de Niklasson y las del postnatal de Fiedriks (Modificado de Wit et al, 2006).

CER: Crecimiento extrauterino retrasado. CIR: Crecimiento intrauterino retrasado.

V.1.2) Antecedentes relacionados con la etapa neonatal

En los estudios evaluados, los neonatos CER son dados de alta de Neonatología con un peso superior a 2200 gr. (Tabla 30). De hecho, en el HURS son dados de alta con un peso mínimo de 2500 gr. En ese momento los neonatos tenían 40 semanas de EGC, mientras que en otros estudios eran dados de alta con 38 semanas (Costas et al, 2005) y 37 semanas (Bloom et al, 2003). De hecho, el 91% de los neonatos CER de este estudio fueron dados de alta con hasta 44 semanas. El 97% de los RN con menos de 1500 gr son dados de alta con un peso inferior al p10 para su EGC (Olsen et al, 2002). La información obtenida acerca de las principales patologías asociadas a la prematuridad y a la condición de ser CER de los diferentes trabajos se muestra en la tabla 30. Como puede observarse, en este estudio los neonatos CER presentaron mayor patología asociada que en el resto de los trabajos. En todos ellos la sepsis es una de las más frecuentes, (en torno al 60%). En el presente estudio la EMH es la segunda patología más observada, y también es muy prevalente en otros trabajos. La ECN es más frecuente en este estudio que en los demás consultados. Por el contrario el DAP presenta mucha variedad entre los diferentes trabajos publicados, desde el 20 hasta el 60%. El porcentaje de prematuros que padecieron ROP también es mayor en este trabajo, sin embargo el de HIV y BDP es muy similar al mencionado por el resto de autores. En el trabajo realizado por Radmacher y colaboradores (2003) observaron que el 31% de los neonatos CER presentaron hipotensión arterial, sin embargo, esta variable no ha sido recogida en la mayoría de los trabajos publicados. La patología asociada a la condición de ser CER interfiere con el crecimiento. Los que presentaron comorbilidades como BDP, HIV, ENC o sepsis presentan menor crecimiento que los neonatos sin patología asociada (Ehrenkarnz et al, 2010).

La duración de la estancia hospitalaria fue muy variable entre los diversos trabajos, siendo la más larga la referida en este estudio (Tabla 30). En cuanto al soporte respiratorio, la oxigenoterapia parece contribuir con una reducción significativa en la incidencia de ROP y en la integridad de mecanismos antioxidantes en los RN de riesgo (Schmidt et al, 2007). Los neonatos de este estudio requirieron mayor tiempo con oxigenoterapia y VM que los demás (Tabla 30). El 95% de los niños precisaron hasta 3 dosis de surfactante pulmonar y el 33% de los neonatos requirieron VM durante más de 5 días. Precisaron terapia con oxígeno durante una media de 12 días. En el 84% de los

CER de este estudio precisó terapia respiratoria el primer día de vida, sin embargo algunos autores (Clark et al, 2003 b) han señalado que dicho porcentaje se situaba en el 42%. El 18% de los neonatos CER de este trabajo precisaron soporte respiratorio durante el primer mes de vida, mientras que el porcentaje fue de 32% para Clark y colaboradores (2003) e incluso de 58% (Bloom et al, 2003). Otros autores indicaron que el 55% de los CER precisaron oxígeno en la semana 36 de EGC (Radmacher et al, 2003). Por ello, parece que los neonatos CER de este estudio precisaron soporte respiratorio en los momentos más próximos al nacimiento, y no tan prolongados como el resto de los trabajos. Sin embargo, el número de neonatos que precisaron estas medidas fue mucho mayor en este estudio, de hecho, todos los participantes precisaron oxígeno, mientras que en el resto de autores el porcentaje no supera el 20%.

En cuanto a la transfusión de hemoderivados, Costas y colaboradores (2005) indican una media de 2 unidades por neonato, mientras que en este estudio la media fue de 3 unidades. Los esteroides postnatales actúan de forma negativa en el CER (Clark et al, 2003 b) ya que influyen en el desarrollo del SNC, además de estimular el catabolismo proteico y retrasar el crecimiento. Se utilizan en los RN pretérmino para mejorar las complicaciones pulmonares y acortar el tiempo de soporte respiratorio si bien a expensas de producir una reducción del crecimiento óptimo (Olsen et al, 2002). La ingesta de esteroides postnatales se muestra en la tabla 30, y aunque es muy variable entre los distintos estudios, los datos relativos a este trabajo se pueden considerar en la media.

Los neonatos con CER de este estudio precisaron NP más tiempo y comenzaron más tarde la NE (Tabla 30). El 42% de los CER requirieron NP durante menos de 30 días. De hecho, sólo el 18% lo hizo más de 60 días. El 86% de estos niños comenzaron la NE antes de su décimo día de vida. La máxima pérdida ponderal y los días en recuperar el peso al nacimiento fueron muy similares entre los distintos autores consultados, al igual que los resultados observados en el trabajo de Martin y colaboradores (2009), que se situó en el 15% la máxima pérdida ponderal. Los niños CER de este estudio tardaron entre 1 y 29 días en recuperar el peso al nacimiento. De hecho, el 93% de los neonatos en su 7 día de vida presentaron el mayor porcentaje de pérdida ponderal. Otros autores observaron que el descenso de peso máximo ocurrió al 4 día de vida (Costas et al, 2005).

El CER es un problema muy importante en los neonatos prematuros, especialmente en los que presentan elevada morbilidad. Aunque los factores más influyentes son el peso al nacimiento y la EG, existen otros que también se asocian a esta condición como el género masculino, la necesidad de soporte respiratorio con VM y oxígeno, el comienzo de la NE, los días en alcanzar el peso al nacimiento, ECN, esteroides postnatales, duración de la hospitalización, número de días con NE y la severidad de la enfermedad (los RN críticos tienen mayor demanda metabólicas y raramente se alcanzan sus necesidades nutricionales; lo que desencadena malnutrición y falta de crecimiento) (Clark et al, 2003 b; Sakurai et al, 2008; Shan et al, 2009). Algunos autores observaron que los RN con deterioro del estado nutricional son más susceptibles de desarrollar BDP y sepsis. (Bloom et al, 2003). De hecho, el déficit nutricional que aparece en el CER influye en la progresión de la BDP y su evolución posterior (Sakurai et al 2008). La alveolización pulmonar se lleva a cabo dentro de los primeros 2 años de vida. (Costas et al, 2005). Otros autores encontraron asociación significativa entre la EG y muchas de las características clínicas de los neonatos con CER, como las medidas antropométricas alcanzadas al nacimiento, el inicio de la nutrición enteral, la ingesta de esteroides postnatales, la oxigenoterapia, el porcentaje máximo de pérdida ponderal y los días en recuperar el peso al nacimiento (Sakurai et al 2008).

Como se ha comentado anteriormente los factores que más influyen en el CER son el peso al nacimiento y la EG. Los niños CER que presentan menor peso al nacimiento son los que precisan mayor soporte respiratorio (VM y oxigenoterapia) y de forma más prolongada. También reciben NP durante más días y presentan una recuperación del peso al nacimiento más tardía. Por otro lado, la morbilidad es inversamente proporcional a la EG y al peso al nacimiento. La morbilidad se relaciona directamente con la inmadurez de los sistemas, por lo que se asocia a intervenciones terapéuticas más agresivas y prolongadas, así como la aparición de complicaciones (Costas et al, 2005).

En un estudio comparativo entre un grupo de neonatos CER y otro sano se observó que los CER recibieron menor soporte energético y proteico que los controles, los cuales ganaron más peso que los neonatos CER. Por otro lado, los niños del grupo

CER requirieron VM, oxigenoterapia y NP un periodo de tiempo más prolongado, lo que indicaría un mayor grado de enfermedad. Un mayor número de sujetos del grupo CER presentaron hipotensión arterial y sepsis, aunque recibieron menores dosis de surfactante pulmonar. Una de las posibles explicaciones para el lento crecimiento de los neonatos CER podría ser por la NE, ya que se introduce más tarde y su tolerancia y evolución es peor. Parece que la mejora nutricional por si misma disminuiría las comorbilidades asociadas. La sepsis también contribuye a la nutrición inadecuada y por tanto, al menor crecimiento (Radmacher et al, 2003).

El soporte nutricional de la etapa perinatal podría dividirse en tres etapas; NP, transición y NE. La fase de NP representa el primer momento, cuando la NE es pobremente tolerada por el RN. La transición a la NE es el momento crítico; es el tiempo en el que la NE es inadecuada como soporte nutricional y la NP es necesaria como suplementación. La fase enteral es aquella en la que la NE supone el soporte nutricional total (Clark et al, 2003 a). El soporte nutricional, así como la estancia hospitalaria, es un factor muy relacionado con la condición de ser CER, ya que este soporte reduce el riesgo de desarrollar CER en la etapa neonatal. Un hecho a tener en cuenta es que en todo RN se produce una disminución del peso tras el nacimiento, que se incrementa en la 2 o 3 semana de vida (Shan et al, 2009). En los prematuros, aun con grandes esfuerzos, la pérdida de peso habitualmente es superior al 15% de su peso al nacimiento, y además dicho peso no suele ser recuperado en las 2 semanas posteriores (Hay, 2008). Las comorbilidades asociadas a la prematuridad y al CER como la sepsis, el distrés respiratorio o la inadecuada nutrición podrían ocasionar que esta ganancia de peso fuese más lenta, e incluso que hubiese un decline (Shan et al, 2009). Por ello, aunque la administración temprana, en las primeras 24 horas de vida, de nutrición parenteral y enteral en los niños prematuros consigue una rápida recuperación del peso (Martin et al, 2009) y promueve el crecimiento postnatal (Martin et al, 2009) hay que tener en cuenta que las complicaciones clínicas interfieren con el crecimiento del neonato (Meas et al, 2010 a). También determinadas patologías, como la ECN y la HIV influyen negativamente en la ganancia de peso del neonato (Meas et al, 2010 a).

Se han descrito diferencias en la velocidad de crecimiento de los prematuros entre las distintas Unidades de Neonatología (Shan et al, 2007). El soporte nutricional, fundamentalmente el aporte proteico, es el mayor causante de dichas diferencias. La

ingesta de esteroides pre y postnatales, la raza negra y los embarazos únicos pueden interferir positivamente. Mientras que la severidad de la enfermedad es un predictor negativo de crecimiento ya que los niños sanos crecen más que los que presentan patología. Este factor también podría influenciar en los distintos resultados de crecimiento observados entre las diferentes Unidades (Olsen et al, 2002). Por otro lado, la ganancia de peso en los prematuros está influenciada por la cantidad de calorías suministradas, mientras que el aumento de la talla y del perímetro craneal están influenciadas por la ingesta proteica (Sauer, 2007).

Los avances en nutrición están limitados a la habilidad del neonato para metabolizar los nutrientes, y en otras ocasiones a la prioridad que da el neonatólogo a minimizar las posibles complicaciones. Existe una asociación entre los requerimientos energéticos y la severidad de la enfermedad, parece que el CER en ocasiones es inevitable (Martin et al, 2009). También se han descrito asociaciones entre la incidencia de CER y el tiempo que tarda el RN en recibir alimentación completa. Por ello, el uso de NP como terapia en el tratamiento de la desnutrición de los neonatos CER es considerada una buena medida terapéutica (Sakurai et al, 2008). Sin embargo, no todos los autores coinciden con esta recomendación, ya que algunos no aconsejan el uso agresivo de la NP precoz tras el nacimiento, ya que coincide con el periodo agudo de la patología neonatal. Aunque en este momento es cuando más energía necesita, se prefiere el inicio del soporte nutricional cuando el RN se ha estabilizado o ha mejorado su patología (Olsen et al, 2002). Por otro lado, la ECN disminuye con la leche materna y con la alimentación oral de forma temprana. La alimentación oral de forma continua aumenta la tolerancia gastrointestinal, promueve el crecimiento y el alcance de la alimentación enteral completa en un menor tiempo. Se recomienda el inicio de la NE de forma temprana, ya que promueve la maduración intestinal y reduce el tiempo necesario para alcanzar la alimentación enteral completa, acortando así el tiempo de hospitalización y previniendo la infección grave (Costas et al, 2005).

En la actualidad se considera que los cambios en el soporte nutricional (NP y NE) mejoraran el crecimiento. La combinación de ambos tipos de nutrición de forma temprana parece ser beneficiosa, por lo que la nutrición agresiva podría administrarse incluso a los RN muy críticos y con bajo peso al nacimiento sin aumentar por ello el riesgo de efectos clínicos adversos. En cuanto al soporte proteico, parece recomendable

aportar a los RN prematuros como mínimo 1,5 g/kg/d, aunque es preferible 3 g/kg/d y subir hasta 4 g/kg/d. La administración agresiva y temprana de aminoácidos es perfectamente tolerada y origina un balance positivo de nitrógeno que mejora la tolerancia a la glucosa sin alteraciones clínicas como acidosis metabólica. El aumento de los niveles de urea y amonio debe ser interpretado con cautela. El comienzo de la NE tempranamente es una práctica muy recomendada en los RN pretérmino. La tendencia actual del soporte nutricional en los prematuros y RN enfermos, es la nutrición agresiva y temprana, ya que puede mejorar el crecimiento sin aumentar el riesgo de efectos adversos (Ehrenkarnz et al, 2010).

La ingesta adecuada puede estar limitada por la inestabilidad clínica y la inmadurez, y por otro lado, los requerimientos nutricionales no están del todo bien establecidos. En relación a los RN CIR, es muy frecuente que no reciban la alimentación necesaria y debido al déficit nutricional acumulado, se mantengan por debajo de las curvas de referencia durante el comienzo de la estancia hospitalaria. El término programación fetal se ha propuesto para enfatizar que la nutrición temprana no debe ser entendida simplemente como el medio de proporcionar al RN sus necesidades energéticas, sino también como un proceso de efectos biológicos potenciales a largo plazo. Por ello, la nutrición agresiva en estos neonatos se ha propuesto para minimizar la interrupción de nutrientes que ocurre en el momento del nacimiento, y que reduciría el crecimiento y desarrollo del pretérmino en las primeras semanas de vida. La nutrición agresiva implica que el soporte nutricional es mayor que las recomendaciones, previniendo así el estado catabólico de los primeros días de vida, intentando de este modo asegurar un crecimiento adecuado. No se dispone de mucha información sobre el soporte nutricional recomendado tras el alta hospitalaria. En los RN CER parece que las fórmulas enriquecidas tienen efectos beneficiosos y mejoran el crecimiento aunque incrementan el tejido graso, especialmente el visceral, pudiendo tener también efectos adversos. Hay que tener en cuenta que la leche materna se asocia a una disminución de efectos adversos y reduce la estancia hospitalaria (Curtis et al, 2004).

En la vida postnatal de los RN CER la nutrición subóptima comienza pronto y contribuye a un déficit precoz del crecimiento. Estos déficits tempranos pueden contribuir a que los niños sean CER en el momento del alta de Neonatología, aunque en la estancia hayan logrado alcanzar el crecimiento intrauterino óptimo. (Olsen et al,

2002). Las prácticas nutricionales y las condiciones ambientales pueden hacer que el RN gane peso muy rápidamente, lo que contribuye a un exceso de la grasa corporal. De hecho, los neonatos alimentados con fórmulas especiales pueden presentar incremento en la grasa corporal así como un crecimiento menos lineal que los neonatos de su misma EG (Olsen et al, 2009).

El primer mes de vida puede tener efectos muy significativos para la salud en la infancia y durante la vida adulta. Como consecuencia de la ganancia de peso demasiado rápida se puede incrementar el riesgo de daño neurológico y de fallo en el desarrollo, así como de RI, obesidad y ECV (Meas et al, 2010 a). Los RN PEG después de una gestación normal (37-42 semanas) habitualmente experimentan un rápido crecimiento tras el nacimiento con el fin de alcanzar su crecimiento óptimo (catch-up). De hecho, el 90% de los PEG alcanzan dicho catch up en los 2 primeros años de vida (Wit et al, 2006). En el presente trabajo, los sujetos estudiados no alcanzaron el catch up de crecimiento, ya que los parámetros antropométricos estudiados en la etapa neonatal y en la prepupal se encontraban en percentiles muy inferiores a las curvas de referencia y a los controles sanos de la misma edad, respectivamente. En la figura 39 se muestran los posibles efectos a corto y largo plazo de la nutrición en los primeros momentos tras el nacimiento que podrían presentar los niños y adultos con antecedentes de CER.

En la actualidad existen evidencias de la importancia de los eventos acontecidos en la vida temprana para el desarrollo de enfermedades en la etapa adulta. Como se ha comentado en apartados anteriores, se conoce como “programación fetal” a la hipótesis de que la enfermedad adulta está relacionada con la adaptación en el desarrollo. Esta adaptación se acompaña de cambios en las características de los tejidos y en la expresión génica. A largo plazo puede originar el desarrollo de morbilidades en la edad adulta, especialmente de enfermedad metabólica (Barker et al, 2004). La programación fetal se centra en los acontecimientos prenatales, pudiendo también incluirse la prematuridad, e incluso el CER, como se propone en este trabajo. Un ambiente gestacional subóptimo, además de la deprivación nutricional, incrementa el riesgo de enfermedad metabólica en la etapa adulta. En la actualidad se conoce que el ambiente postnatal temprano, incluyendo la nutrición en esta etapa, es un factor determinante de enfermedad adulta; especialmente para los pretérmino y los RN que han estado ingresados en las UCIP. En relación con el manejo adecuado del RN prematuro, la

nutrición es un factor muy importante. En el caso de los ingresados, es vital que reciban los aportes necesarios para prevenir el CER y promover el desarrollo neurológico a la vez que se minimiza la predisposición la enfermedad metabólica en la edad adulta, ya que las estrategias de alimentación en los RN van a predisponer a esta patología en etapas posteriores (Wiedmeier et al, 2010).

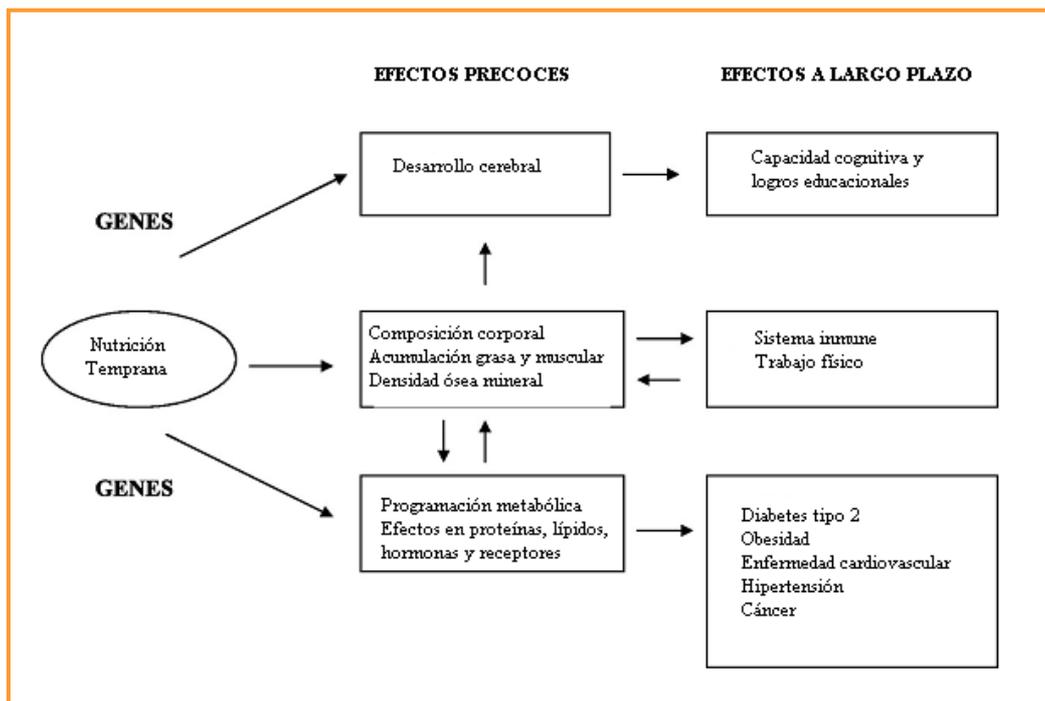


Figura 39. Interacciones entre la dieta temprana y los genes en los recién nacidos pretérmino y las posibles consecuencias a corto y largo plazo (Modificado de Sauer, 2007).

Aunque se disponen de las recomendaciones nutricionales de la AAP, existen controversias sobre si realmente estas son las más acertadas para los RN prematuros. De hecho, el crecimiento óptimo es difícil de alcanzar, y en ocasiones, aunque se lograra, el CER podría seguir apareciendo (Dusick et al, 2003). Esta condición podría ser el resultado de una insuficiente provisión de proteínas y energía para cubrir los requerimientos metabólicos de los prematuros. Por otro lado, el uso de leche materna fortificada, formulas especiales para prematuros y preparaciones específicas de aminoácidos ha mejorado el crecimiento postnatal del pretérmino así como ha mejorado el desarrollo neurológico y el crecimiento cerebral. Sin embargo, el uso de esta alimentación tan especializada se ha asociado con un incremento del tejido graso de los

prematuros respecto a los neonatos a término con un crecimiento adecuado y con la misma EG así como con un incremento del depósito del tejido adiposo visceral (Wiedmeier et al, 2010). Esta situación puede observarse en los neonatos con CER, ya que están sometidos a una sobrenutrición con el fin de alcanzar el catch up de crecimiento lo antes posible, y esto podría ocasionar cambios en el adipocito y en determinadas rutas metabólicas que originarían patología en el futuro, incluso en la etapa prepuberal.

La formación de microflora intestinal en los pretérmino así como en los CER depende de los microorganismos que colonicen primero el tracto gastrointestinal en los primeros días de vida. Una microflora sana es fundamental para el desarrollo y crecimiento normal del neonato. Puede verse influenciada por la NE y por la exposición a microorganismos en la UCIP así como en la piel y la boca materna, además de la leche. La excesiva nutrición parece incrementar el riesgo de patología en el futuro (Nobili et al, 2009). Un gran aporte energético junto con una suplementación proteica escasa para alimentar a los RN PEG supone un aumento de peso del neonato debido al incremento graso sin aumento de la masa corporal. El contenido elevado en proteínas está asociado a un incremento del crecimiento, aunque además del desarrollo neurológico, puede también aumentar el contenido graso y posteriormente ocasionar obesidad (Wiedmeier et al, 2010). Por otro lado, a los 2 años de edad se ha demostrado que las formulas con menor contenido proteico proporcionan un crecimiento que es similar al de los RN alimentados con leche materna, lo que se asocia a menor tasa de obesidad (Koletzko et al, 2009).

La leche materna presenta un efecto protector contra el desarrollo de enfermedades metabólicas en los RN a término. También se relaciona con menores niveles de TA, colesterol total y menor prevalencia de sobrepeso y obesidad (Leon et al, 2009). Por ello, la composición de la dieta en los neonatos se asocia no solo al crecimiento postnatal sino que se considera de gran importancia como un marcador predictor de salud en el futuro (Latal et al, 2003). El incremento de la ganancia de peso postnatal se puede asociar con la enfermedad metabólica en la etapa adulta; el rápido alcance del catch up se correlaciona con la aparición de enfermedades metabólicas (Uthaya et al, 2005), aumento de adiposidad visceral (Eriksson et al, 2003), diabetes tipo 2 y ECV (Singhal et al, 2007). Por ello, los sujetos con antecedentes de CER

podrían presentar un mayor riesgo de patología metabólica y de ECV, por lo que deberían estar en continuo seguimiento con el fin de prevenir estos estados patológicos. En la actualidad estos sujetos, alcanzasen o no el catch up de crecimiento, se han considerado sanos y sin ningún riesgo aumentado de eventos patológicos. Sin embargo, este trabajo confirma que estos RN con CER están expuestos a un mayor riesgo de patología, incluso en la etapa prepuberal. Por otro lado, los niños prematuros ganan peso más rápidamente que las niñas, por lo que podrían tener un mayor riesgo de enfermedades metabólicas en el futuro (Rigo et al, 2006).

La regulación de la expresión génica (epigenética) podría ser uno de los mecanismos que explicase la programación nutricional postnatal ya que los eventos prenatales pueden tener efectos en las características epigenéticas del desarrollo fetal. El feto es susceptible a cambios epigenéticos, por lo que el RN pretérmino también podría serlo. Se podrían originar cambios en la expresión génica como respuesta a diferentes dietas postnatales, considerándose éstas modificaciones epigenéticas. La nutrición temprana tiene la capacidad de alterar la estructura de la cromatina y la expresión génica, modulando de esta forma la salud a corto y largo plazo (Joss-Moore et al, 2009). Incluso la nutrición materna puede afectar a la programación, especialmente a nivel de histonas, por lo que el crecimiento prenatal puede estar implicado en la susceptibilidad a enfermedad en etapas posteriores. De hecho, los cambios epigenéticos en respuesta a alguna condición prenatal pueden modular a largo plazo la expresión génica y originar cambios en el fenotipo (Wiedmeier et al, 2010). El CIR puede estar determinado genéticamente a través de la programación fetal y la epigenética. Los genes que determinan el catch up de peso postnatal pueden ser el nexo entre el peso y talla al nacimiento y la enfermedad en etapas posteriores de la vida (Dunger et al, 2006). Por ello, la condición de ser CER puede influenciar en el desarrollo de patología futura a través de la epigenética y de los cambios postnatales tempranos que se originan como consecuencia de este estado. De hecho, en este trabajo, se encontraron correlaciones positivas, que se describen por primera vez, entre el peso en la semana 36 de EGC con la TAS (Tabla 18) y el TNF α (Figura 31 izquierda), así como entre el peso al alta de la Unidad de Neonatología con marcadores proinflamatorios, como HGF (Figura 314 derecha) y NGF (Tabla 18). Lo que evidencia la relación existente entre la condición de ser CER y el estado inflamatorio de bajo grado y elevación de la TA en la etapa prepuberal.

V.2) VALORACIÓN CLÍNICA DE LOS NIÑOS PREPUBERALES CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

Como se ha comentado anteriormente el CER es más frecuente en varones. Ello explicaría que el grupo de sujetos con antecedentes de CER estuviese formado por un porcentaje mayor de niños (71%) respecto al encontrado en los controles (48%). Ambos grupos tenían la misma edad, por lo que las diferencias encontradas entre ambos grupos no son debidas a posibles diferencias en el estado madurativo. La TA, el estado nutricional y la actividad física se han estudiado dentro de la valoración del riesgo de ECV en los niños prepuberales con CER, ya que han sido considerados componentes del mismo.

V.2.1) Estado neurológico

En los niños prepuberales con antecedentes de CIR se ha observado que el crecimiento postnatal rápido en los 4 primeros meses de vida predice el aumento de peso así como un retraso cognitivo a los 7 años de edad (Pylypow et al, 2009). De hecho, parece que los CIR presentan menor nivel cognitivo e inteligencia (Bie et al, 2010). Por otro lado, se ha descrito que una de las principales consecuencias de los prematuros nacidos con muy bajo peso al nacimiento es el peor desarrollo neurológico en la infancia (Fanaro et al, 2010). En relación con el CER, en este trabajo el 52% de los niños prepuberales presentaron algún tipo de secuela neurológica y el 48% un desarrollo escolar bajo con necesidad de adaptaciones como clases de apoyo escolar, obteniéndose diferencias significativas respecto al grupo control. Por ello, el antecedente de prematuridad y CER podría ser un factor decisivo en este tipo de secuelas. Una posible explicación sería que la privación nutricional en la etapa postnatal temprana interfiere en dicho estado. Se ha observado que tanto la composición dietética como el crecimiento interfieren a largo plazo. Un crecimiento postnatal lento, como el que se observa en estos niños, se asocia a la disminución cognitiva y al menor desarrollo neurológico (Latal et al, 2003).

En la etapa postnatal, el rápido aumento de peso, talla y perímetro craneal se asocia con el crecimiento en etapas posteriores y con el desarrollo cognitivo (Olsen et al, 2002). Los cambios en el soporte nutricional, tanto de NP como de NE, mejorarán el crecimiento y el desarrollo neurológico (Ehrenkarnz et al, 2010). La desnutrición

postnatal junto con el CER, se asocia a consecuencias adversas a largo plazo, como a nivel neurológico y del desarrollo. La alimentación es un pilar básico para el desarrollo neurológico, de hecho, se ha observado a los 7-8 años de edad, que los niños que fueron pretérmino y que se alimentaron con formulas enriquecidas especiales para prematuros presentan mejoría a nivel cognitivo con respecto a los niños que recibieron una fórmula estándar (Lucas et al, 1998). Los prematuros con muy bajo peso al nacimiento presentarán en etapas posteriores de la vida consecuencias en el desarrollo neurológico, lo que podrían ser de origen inflamatorio (Carlo et al, 2011).

V.2.2) Antropometría

Para evaluar el crecimiento en la infancia, se utilizan parámetros antropométricos como el peso, la talla y el IMC (Olsen et al, 2009). En la actualidad, ante la elevada prevalencia de obesidad infantil es imprescindible valorar el IMC en función de la edad y el género, a través de tablas regionales percentiladas, como las de Hernández y colaboradores para la población española. Además es importante el estudio del PC, ya que su aumento supone un riesgo incrementado de ECV y de diabetes tipo 2 en la etapa adulta (Krebs et al, 2007). En relación con el crecimiento, los niños con antecedentes de CIR suelen ser más pequeños que aquéllos nacidos con peso adecuado a su EG (Nobili et al, 2008). Por otro lado, la mayoría de los prematuros con muy bajo peso al nacimiento alcanzan el catch up, especialmente al final de la infancia y en la adolescencia, aunque suelen quedarse más pequeños en etapas posteriores comparado con los niños que fueron RN a término (Fanaro et al, 2010). En los niños con antecedente de CER se ha observado que esta condición no solo es propia de las Unidades de Neonatología, sino que el escaso crecimiento persiste en la infancia (Martin et al, 2009).

Como se muestran en la tabla 11 y figura 24 de este estudio, los niños prepuberales con antecedentes de CER crecen menos, no solo en la tapa neonatal, sino también durante la infancia, que los niños del grupo control. Ya que, aunque no se obtuvieron diferencias significativas en el peso ni en el PC entre ambos grupos, si se observaron en la talla y en el IMC. Este menor crecimiento es más fácil de observar mediante la división de los sujetos participantes en percentiles. El 74% y el 71% de los niños del grupo CER se encontraron por debajo de un p50 para peso y talla,

respectivamente. En el caso del IMC los datos obtenidos fueron más llamativos, ya que el 54% de los niños CER estaban por debajo del p25. En el caso del grupo control, el 37% y el 28% de los niños se situaron en un percentil inferior a p50 para peso y talla, respectivamente, mientras que el 26% lo hacían por debajo del p25 de IMC. Un gran porcentaje de los niños del grupo CER (33%) presentaron retraso pondero y/o estatural. Estos hallazgos demuestran que los niños prepuberales con antecedentes de CER crecen menos respecto a los controles de su misma edad. Por otro lado, las secuelas de la prematuridad y de la condición de ser CER, como los problemas respiratorios observados en el 48% de los sujetos de este grupo también podrían influir en el menor crecimiento. Ya que las complicaciones médicas como la BDP y la HIV pueden afectar negativamente al crecimiento tras el alta de la Unidad de Neonatología.

El análisis de correlación mostró que el IMC se asocia positivamente a marcadores de dislipidemia, como los TG, a los parámetros del metabolismo hidrocarbonado insulina y HOMA, y a la adipocina leptina (Tabla 19). Dado que el IMC en los niños prepuberales con antecedentes de CER está bajo, esto podría explicar que no se encontrasen estos parámetros incrementados, como cabría esperar. Además se observó una correlación inversa con la IL-8, lo que podría explicar parcialmente su elevación plasmática. Por otro lado, en este grupo de niños con alteraciones en el crecimiento, el IMC también se correlacionó con los antioxidantes exógenos (Tabla 19). Ello podría ser debido a la vehiculación de algunos de ellos en los lípidos y a su origen, ya que se son aportados con la dieta.

Por ello, el CER tiene un impacto potencialmente negativo en el posterior desarrollo y crecimiento del niño en otras etapas de la vida. El crecimiento es un indicador de un desarrollo nutricional adecuado y a su vez, la situación nutricional condiciona la evolución de los diferentes sistemas y aparatos del organismo, fundamentalmente durante los periodos críticos (Costas et al, 2005). Algunos autores indican que es la malnutrición de los niños con antecedentes de CER, especialmente con déficit proteico, la que origina talla baja, así como problemas en el desarrollo de los diferentes órganos, déficits neurosensoriales y de las conexiones dendríticas, y problemas cognitivos y de comportamiento en etapas posteriores (Olsen et al, 2002; Olsen et al, 2009).

En relación con el CIR, los niños nacidos PEG tienen un mayor riesgo de presentar corta estatura en la etapa prepuberal y en la vida adulta en comparación con controles con peso adecuado a su EG al nacimiento. Aunque la mayoría de estos niños alcanzan el catch up tras el nacimiento, un subgrupo continuará con un crecimiento lento, por lo que serán bajos en la etapa adulta. También presentan una tendencia a ser más delgados y a tener menor cantidad de grasa corporal en comparación de los niños nacidos con peso adecuado a su EG (Boguszewski et al, 1997; Maiorana et al, 2007; Nobili et al, 2008). Los RN pretérmino con CIR pueden presentar un fallo severo en el crecimiento extrauterino. Bertino y colaboradores (2009) observaron que estos niños desarrollaron efectos negativos sobre el crecimiento incluso a los 2 años de edad. Jordan y colaboradores, en 2005, lo corroboraron hasta los 3 años. Ya que los niños CIR fueron más delgados, bajos y con un menor perímetro craneal que los que nacieron con peso adecuado a su EG, incluso aunque su tasa de crecimiento postnatal fuese mayor que la de los controles. Hack (2003) demostró que incluso a los 20 años de edad, los jóvenes que nacieron con CIR no alcanzaron el catch up de crecimiento. Aproximadamente del 10% de los niños nacidos CIR son bajos de adultos; de hecho la condición de ser CIR puede influenciar la GH en la etapa prepuberal. Los niveles de IGF-1 y de IGBP3 reflejan la secreción de la GH en los niños sanos. En los RN, la IGF-1 se correlaciona con el peso al nacimiento y su concentración es menor en los CIR que en los RN de peso adecuado a su EG (Tenhola et al, 2005).

La alimentación del niño es crítica en la etapa prenatal y postnatal temprana, ya que una buena y rápida alimentación hasta el alcanzar el catch up de crecimiento en los RN con muy bajo peso al nacimiento mejora a largo plazo el estado neurológico y el desarrollo del niño (Sauer, 2007). Algunos autores han afirmado que los pretermino con peso adecuado al nacimiento para su EG que experimentaron CER en la etapa neonatal, recuperaban la talla y el perímetro craneal en los 3 primeros meses de vida (Roggero et al, 2011). Estos autores realizaron su estudio con prematuros que consideraron que no presentaban ninguna complicación clínica que interfiriera con el crecimiento, lo que también se realizó en este trabajo. Sus datos sugieren que los prematuros CER igualan el crecimiento a los controles rápidamente. Lo que podría reflejar, en base a sus resultados, que la influencia de la programación fetal no se afecta permanentemente por el desarrollo del CER postnatal. Por el contrario, la persistencia de CER en los RN con CIR puede sugerir que estos niños presentan un potencial intrínseco de crecimiento

escaso o bien que el retraso del crecimiento en la vida intrauterina puede perjudicar el extrauterino (Roggero et al, 2011). Sin embargo, otros autores, como Latan-Hajnal y colaboradores (2003) estudiaron un grupo de niños con antecedentes de CER y con peso al nacimiento bajo, aunque adecuado para su EG y observaron que a los 2 años de edad, el peso se encontraba por debajo del p10.

En la revisión bibliográfica efectuada, el estudio de Roggero y colaboradores (2011) fue el único que defiende que los niños CER alcanzan el catch up de crecimiento. De hecho, nuestros resultados coinciden con el resto de autores consultados. Una posible explicación de los distintos hallazgos puede ser la diferente metodología en la selección de los sujetos participantes en los estudios. Roggero y colaboradores (2011) seleccionaron únicamente a los niños que no presentaron problemas de crecimiento, mientras que el resto de autores incluyeron el total de los niños con antecedentes de CER, asumiendo que algunos alcanzarían el catch up y que otros no. Por ello, la mayoría de autores hemos observado que de forma global los niños con antecedentes de CER crecen menos que los del grupo control. Si bien es cierto que algunos niños con antecedentes de CER presentan un crecimiento normal o incluso superior a los controles, al igual que muchos niños sanos sin antecedentes de CER son bajos, como puede observarse en la figura 24 de nuestro trabajo.

V.2.3) Maduración sexual

La edad sexual corresponde a la época en que los caracteres sexuales se hacen patentes, tanto los primarios como los secundarios. Son los caracteres secundarios los que sirven de referencia para catalogar a los individuos dentro de los diferentes grupos de edad. Este concepto se utiliza a partir del estado prepuberal, dado que es cuando estos caracteres se inician (vello pubiano, tamaño del pene o mamas, pilosidad facial y cambios asociados). Para evaluar el estado de desarrollo puberal se utilizaron las tablas diseñadas por Tanner (Tanner, 1962), quien dividió en 5 grados el desarrollo sexual; grados I y II que corresponderían a niños prepuberales y grados III-V a puberales (Tabla 7). Estas tablas son usadas universalmente y permiten una evaluación objetiva de la progresión. De los 44 niños con antecedentes de CER participantes en este estudio, 38

se encontraban en un Tanner grados I-II y 6 en grados III-V. Los 132 controles se encontraron en grado I.

En la parte descriptiva de los antecedentes peri-neonatales se seleccionaron el total de los participantes, mientras que para la valoración de los niños y comparación con los controles se estudiaron únicamente los 38 niños que se encontraban en un estado del desarrollo sexual prepuberal. La pubertad puede intervenir de forma fisiológica en determinados procesos que se valoran en este trabajo, como en la inflamación (Gil-Campos et al, 2004 a) y en el EO (Pérez-Navero et al, 2009), por lo que podrían falsearse los resultados de muchos de los parámetros analizados. Por ello, al seleccionar en nuestra serie únicamente los niños prepuberales se intenta observar si dichas patologías se relacionan con el antecedente de CER y pueden ser detectados mediante la medición de marcadores específicos en la etapa prepuberal. Hasta el presente trabajo no se habían considerado de riesgo los niños con antecedentes de CER en la etapa prepuberal.

V.3) PARÁMETROS BIOQUÍMICOS GENERALES Y HEMATIMETRÍA EN LOS NIÑOS PREPUBERALES CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

El ácido úrico, el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo hidrocarbonado no se han estudiado en este apartado como correspondería, ya que al estar relacionados con la ECV o con alguno de sus componentes, se ha preferido evaluarlos en dicha sección. Los parámetros bioquímicos estudiados, así como los pertenecientes al hemograma se encontraron, en todos los casos, dentro de los rangos de normalidad (Tabla 14). En cuanto a la bioquímica general, los niños del grupo CER presentaron mayores concentraciones séricas de urea que los del grupo control. Este hallazgo no ha sido descrito previamente en la bibliografía. Aunque la urea es un marcador de función renal, sus concentraciones pueden estar aumentadas en respuesta al estrés o secundariamente al aumento de la TA. También pueden verse elevadas cuando existe catabolismo excesivo de proteínas, o ante dietas con elevado contenido proteico. De hecho, los niños con antecedentes de CER presentaron un mayor aporte proteico que las recomendaciones (Tabla 12), lo que podría explicar estos hallazgos.

Por otro lado, la concentración de ferritina fue significativamente menor en los niños del grupo CER. Su concentración es reflejo de la cantidad de hierro almacenado músculo esquelético y aunque puede encontrarse disminuida en algunos casos de malnutrición, su valoración en estados de inflamación crónica, como es el caso de los niños prepuberales CER, carece de utilidad. En cuanto a las hormonas tiroideas, la T4 libre presentó concentraciones séricas más elevadas, aunque dentro de la normalidad, en el grupo CER respecto al control, lo que podría ser explicado por el estado inflamatorio crónico subyacente en estos niños, que también podría afectar a la glándula tiroidea. Por otro lado, dentro de los marcadores hepáticos la GGT presentó niveles más elevados en los niños del grupo CER respecto al grupo control. Esta enzima, que se encuentra principalmente en el hígado, es muy sensible a cambios en la función hepática por lo que podría estar más elevada en los niños con antecedentes de CER como indicadora de una mayor producción hepática de marcadores relacionados con la inflamación y el riesgo de ECV. En cuanto al hemograma, la hemoglobina y el hematocrito presentaron valores más elevados en el grupo CER que en el control, estos resultados no han sido descritos previamente y parece que carecen de significación clínica.

V.4) EL TEJIDO ADIPOSO Y LAS ADIPOQUINAS EN LOS NIÑOS PREPUBERALES CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

V.4.1) El tejido adiposo

En la actualidad se ha relacionado el tejido adiposo visceral con el aumento de la morbilidad en etapas posteriores de la vida. Estos hallazgos pueden deberse a que tiene diferentes funciones endocrinas en los distintos depósitos grasos. La localización anatómica afecta por si misma a la funcionalidad. De hecho, las hormonas endocrinas derivadas del tejido adiposo visceral son secretadas a la circulación portal con acceso directo al hígado, mientras que las derivadas del tejido subcutáneo se secretan a la circulación sistémica (Kershaw et al, 2004). La grasa central, como la producida por el incremento de la adiposidad visceral abdominal, se ha asociado con el aumento del riesgo de ECV, fundamentalmente a través del desarrollo de otros desordenes metabólicos que se caracterizan por la RI, así como diabetes tipo 2, dislipidemia e HTA, además de alteraciones en la homeostasis, fibrinólisis e inflamación (Panagiotakos et al, 2005; Briana et al, 2008).

Existe controversia con respecto a cual es el periodo del desarrollo más sensible durante el que se produce la programación y sobre cual es la contribución a la misma de la vida pre y postnatal. De hecho, la composición corporal, en términos de masa grasa puede contribuir a esta programación (Roggero et al, 2011). La programación fetal contribuye al desarrollo de la obesidad. Esta predisposición se ha observado en niños que nacieron PEG con una distribución de grasa central, por lo que la vida fetal es crítica para la programación posterior de la adiposidad corporal. La nutrición también puede influir, ya que una mayor ganancia de peso en la infancia se asocia con un mayor riesgo de obesidad en la edad adulta. Existe relación entre la administración temprana de sólidos al RN y el incremento del tejido adiposo a los 7 años de vida, así como una menor incidencia de obesidad en niños alimentados con lactancia materna. La sobrealimentación programa la obesidad, de hecho se ha observado una relación entre el alcance del catch up precozmente, derivado del incremento de la ingesta, y el desarrollo de obesidad en etapas posteriores de la vida (Singhal et al, 2002). El escaso peso al nacimiento así como el rápido alcance del catch up en la infancia se ha asociado

al aumento del riesgo de SM en la etapa adulta. En estos niños con retraso del crecimiento y con desnutrición puede aparecer adiposidad, que a su vez es un factor de riesgo de ECV por si mismo (Roggero et al, 2011).

Algunos autores afirman que en el CIR se altera el desarrollo del tejido adiposo fetal. Los fetos CIR presentan una marcada reducción de la masa grasa visceral, que se refleja en una menor acumulación de lípidos en el adipocito. Sin embargo, aunque el porcentaje corporal total de grasa está disminuido, el tejido adiposo visceral está incrementado. Por ello, los niños con antecedentes de CIR, que alcanzan el catch up de crecimiento rápidamente, presentan una mayor distribución centralizada de la grasa, incluso aunque no presenten sobrepeso. Las adipocinas también se relacionan con el crecimiento fetal (Briana et al, 2008). Los RN pretérmino CIR también presentan mayor riesgo de incrementar el tejido adiposo. De hecho, en los niños CIR que experimentan un rápido catch up se ha observado una composición corporal anormal así como una sensibilidad a la insulina alterada (Roggero et al, 2011).

Ibáñez y colaboradores (2011) observaron que los neonatos CIR que experimentan el catch up de forma espontánea a los 2 años de edad presentan una composición corporal similar a los controles sanos nacidos a término y con peso adecuado al nacimiento. Sin embargo, obtuvieron diferencias en la adiposidad visceral entre los CIR de los 2 a los 4 años con los controles. Esas diferencias en la adiposidad central se incrementaron con el aumento de la edad entre los 4 y 6 años. Sin embargo, Willemsen y colaboradores (2008) observaron una disminución en el porcentaje total de masa grasa en niños de 7 años de talla baja con antecedentes de prematuridad y CIR en comparación con controles de la misma edad. Meas (2008) describe una rápida progresión de la adiposidad, mayor porcentaje de masa grasa, de los 22 a los 30 años en adultos que fueron CIR a término en comparación con adultos sin antecedentes en el nacimiento. Por ello, nacer con CIR puede afectar a la composición corporal de diferentes maneras en función del periodo de desarrollo. La acumulación o la mala distribución de la grasa en los niños prepuberales o en los adultos nacidos CIR pueden reflejar la “programación fetal” a largo plazo de las alteraciones del tejido adiposo, tanto en cantidad como en funcionalidad. Todo ello puede favorecer el aumento del riesgo de diversas patologías, como la ECV y el SM en etapas posteriores de la vida (Roggero et al, 2011).

En relación con la prematuridad, se ha observado que estos niños también presentan un mayor riesgo de patología en etapas posteriores de la vida como la RI, debido a las condiciones estresantes y a los déficits nutricionales que experimentan en la etapa postnatal temprana. Como consecuencia puede aparecer hiperinsulinemia y una mala regulación de los receptores adrenérgicos que puede incrementar la adiposidad intraabdominal (Roggero et al, 2011). Por ello, los niños que fueron RN pretérmino PEG presentan, en comparación con niños que fueron RN a término y PEG, un mayor riesgo de incremento de la adiposidad, lo que es además un factor de riesgo de SM (Gianni et al, 2009). Otros autores han descrito que la adiposidad no estaba alterada en los neonatos pretérmino alimentados con fórmulas enriquecidas tras el alta de la Unidad de Neonatología (Cooke et al, 2010). Sin embargo, en el momento del alta, los neonatos pretérmino presentaron un incremento de masa grasa global y central, lo que influye en padecer posteriormente RI y SM (Cooke et al, 2009). El catch up influye en el desarrollo de la adiposidad, ya que los pretérmino nacidos PEG que presentan un crecimiento muy rápido hasta alcanzarlo, pueden desarrollar RI y adiposidad visceral (Cooke et al, 2010). Por ello, parece que los RN prematuros tendrán un mayor contenido graso que los RN a término. No sólo difieren en la cantidad de grasa total, sino también en su distribución, ya que estos niños presentan mayor porcentaje de tejido adiposo visceral; lo que también se ha relacionado con mayor riesgo de ECV (Sauer, 2007).

En la revisión bibliográfica realizada no se han descrito trabajos que traten de la adiposidad en los niños prepuberales, adolescencia y etapa adulta con antecedentes de CER. Sin embargo, algunos autores la han evaluado en la etapa neonatal. Con respecto a la composición corporal, estos autores han observado que tanto los neonatos con CER que nacieron CIR cómo los niños CER sin CIR presentaron un porcentaje de masa grasa significativamente menor que los RN de peso adecuado a su EG, sugiriendo que los CER presentan una falta de aumento de la masa grasa en la etapa neonatal. El aumento de la masa grasa está influenciado por la ingesta energética y puede depender parcialmente de las diferencias entre la nutrición fetal y la postnatal. Parece que los neonatos CER que no fueron CIR pueden recuperarse más fácilmente de su periodo neonatal temprano, mientras que los que fueron CIR son más susceptibles de ganar más grasa debido a que su situación prenatal se agrava con la postnatal. El depósito de grasa

puede representar un mecanismo adaptativo en la vida postnatal. El tercer mes de vida, los neonatos con CER presentaron cambios en la masa grasa con respecto a los controles sanos. Sin embargo según estos autores, a partir de este tiempo, los resultados fueron similares (Roggero et al, 2011).

En base a nuestros resultados y a los hallazgos en los niños con antecedentes de prematuridad y/o CIR, los sujetos prepuberales con antecedentes de CER presentan una alteración cuali y cuantitativa del tejido adiposo, fundamentalmente visceral. Se supone que el CER es en sí mismo un mecanismo de programación de diversas patologías en etapas posteriores de la vida. Algunas, incluso, como la HTA pueden observarse ya desde la etapa prepuberal. La desnutrición postnatal temprana hace que los neonatos se sobrealimenten con el fin de alcanzar el catch up de crecimiento lo antes posible, y esto puede desencadenar cambios en el tejido adiposo que originan alteraciones en las adipoquinas y en los marcadores de inflamación que son sintetizados por el adipocito, y por tanto, predisposición a patología en etapas posteriores. A pesar de que el perfil de adipoquinas y de marcadores de inflamación estén alterados, los parámetros como el IMC y el PC, que son indicadores de la adiposidad, sean normales podría indicar que la etapa prepuberal es muy precoz y que aún no se han manifestado dado la cara totalmente estas alteraciones por lo que debe realizarse seguimiento a estos niños, ya que posiblemente se produzcan alteraciones en etapas posteriores.

V.4.2) Las adipoquinas

En los CIR la regulación de las adipoquinas puede ser predictiva de enfermedad en la etapa adulta, aunque la inexistencia de estudios longitudinales desde la vida temprana hasta esta última hace difícil evaluar la existencia de estas asociaciones (Briana et al, 2008). La concentración de adipoquinas puede programarse desde la vida prenatal, ya que las adipoquinas están presentes en la sangre de cordón umbilical a partir de la semana 22 de EG. La condición de ser CIR influye en la concentración de adipoquinas. De hecho, la EG y el peso al nacimiento son los mayores determinantes del perfil de adipoquinas en sangre del cordón. Los niveles de adiponectina son determinados fundamentalmente por la EG, mientras que el peso al nacimiento influye en los niveles de leptina (Martos-Moreno et al, 2009). En los RN prematuros se ha observado dimorfismo sexual para adiponectina y leptina, ya que las niñas presentan

concentraciones más elevadas, lo que sería indicativo de que madura antes el tejido adiposo. Sin embargo, en este estudio se han valorado las concentraciones de adipoquinas de forma conjunta para ambos géneros, ya que la mayoría de artículos consultados lo hacen así y además el mayor porcentaje de sujetos en el estudio era del género masculino, por lo que no se falsean los resultados por exceso. La inmadurez del tejido adiposo en los RN prematuros determina una situación de lipodistrofia, lo que podría favorecer la RI, ya incluso en la prematuridad, además de cambios en el perfil de adipoquinas en la sangre del cordón umbilical, lo que puede perjudicar el metabolismo de la glucosa y la adaptación metabólica a la vida extrauterina (Martos-Moreno et al, 2009).

Los RN con bajo peso al nacimiento pueden tener un aumento de la reserva grasa, fundamentalmente visceral, así como elevación de las adipoquinas, como adiponectina, leptina y visfatina, lo que relaciona el depósito de grasa con la RI y sensibilidad a la insulina, así como con un estado inflamatorio (Boutsikou et al, 2010). Aunque la relación entre las adipoquinas y el EO aun no está aún esclarecido, estudios recientes han demostrado que el EO en el tejido adiposo induce una mala regulación en la producción de adipoquinas, como la adiponectina (Yanagawa et al, 2010). Fagnoli y colaboradores (2010) estudiaron diversas adipoquinas como adiponectina, resistina y leptina por su posible alteración en la etapa prepuberal y su relación con el SM. Por todo ello, en este estudio se han valorado las adipoquinas tales como adiponectina, resistina y leptina en la etapa prepuberal de niños con antecedentes de CER. En estos sujetos el perfil de adipoquinas está alterado como consecuencia de la patología en la etapa postnatal temprana, con consecuencias sobre la salud a largo plazo, que se manifiestan incluso en la etapa prepuberal.

V.4.2.1) Adiponectina

En la actualidad se ha propuesto que la adiponectina tiene un papel en el crecimiento fetal y en el desarrollo. Por otro lado, en el momento del alta de Neonatología, los RN prematuros presentan menores niveles plasmáticos de adiponectina que los neonatos nacidos a término de la misma EG (Martos-Moreno et al, 2009; Siahaniidou et al, 2009). Esta disminución puede ser debida a la reducción en la síntesis y en la secreción de adiponectina como resultado de una disminución de la adiposidad. Los niveles

plasmáticos de esta adipoquina en los prematuros son mayores que los de niños y adultos. Los niveles elevados de adiponectina en los RN se atribuyen a la falta de feed back negativo en su producción, apareciendo hipertrofia en el adipocito. Además estos niños presentan un bajo porcentaje de grasa corporal y una distribución diferente, con al menos el 90% de la grasa corporal total subcutánea, en comparación con el 4% en el abdomen (Kotani et al, 2004). Otra posible explicación para la hiperadiponectinemia sería la gran presencia del tejido adiposo marrón productor de dicha citoquina en los RN, que progresivamente se va atrofiando en la infancia, y la producción el mismo tiempo de adiponectina por una serie tejidos no adiposos, incluyendo el músculo esquelético, células del intestino delgado, de la pared arterial, del tejido conectivo y de la epidermis. La producción de adiponectina disminuye mientras avanza la gestación (Siahanidou et al, 2009). Además, los factores implicados en la inhibición de la adiponectina, que principalmente están relacionados con la cantidad y distribución de la grasa corporal, no son operativos en los RN (Siahanidou et al, 2007). De hecho, las concentraciones de adiponectina se correlacionan negativamente con el tejido adiposo visceral (Medina-Bravo et al, 2011).

La ganancia de peso en los pretérmino influye positivamente en los niveles séricos de adiponectina. Ello puede ser debido al aumento del número de adipocitos o bien al incremento de su diferenciación. Otros factores como IGF1, GH y la insulina estimulan su expresión génica y el crecimiento por lo que pueden ser responsables de la correlación hallada entre la adiponectina y la ganancia de peso en los RN prematuros. El que se sugiera un papel de la adiponectina en el crecimiento fetal se debe a que existe una correlación positiva entre los niveles de esta citoquina en la sangre de cordón con el tamaño del RN y la adiposidad al nacimiento. Por ello, hay una fuerte evidencia del papel de la adiponectina en el crecimiento y en su regulación de manera directa y/o incrementando la sensibilidad de los tejidos a reguladores endocrinos del crecimiento, como la insulina y el IGF1 (Siahanidou et al, 2009).

Algunos autores han defendido que la EG es el mayor predictor de los niveles de adiponectina ya que se ha demostrado que la EG presenta la mayor influencia en las concentraciones de esta citoquina en la sangre del cordón y que incluso tiene mayor efecto que el peso fetal. Como la adiponectina es producida exclusivamente por adipocitos maduros y no por sus precursores, estos hechos podrían indicar que esta

citoquina es el primer marcador que indica la maduración de tejido adiposo. Las niñas pretérmino tienen los niveles significativamente mayores que los niños prematuros, lo que podría indicar que la maduración del tejido adiposo fetal puede comenzar antes en las niñas, teniendo ellas, por tanto, mayor habilidad para la adaptación metabólica (Martos-Moreno et al, 2009). La gran expresión de adiponectina en los tejidos fetales combinado con la menor y diferente distribución de la grasa en los RN en comparación con los adultos podría explicar por que las concentraciones de esta citoquina en la sangre de cordón son hasta 2-3 veces mayor que en los adultos. Se ha observado que sus concentraciones son hasta 20 veces mayores en los RN a término que en la semana 24 de gestación, todo ello junto con el hecho de que no atraviesa la barrera placentaria sugiere su papel en el origen fetal (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

La adiponectina se sintetiza en la etapa intrauterina, tanto la placenta como el feto la sintetizan en grandes cantidades (Briana et al, 2008). En el desarrollo fetal la adiponectina se ha observado también en una gran variedad de tejidos no adiposos como la epidermis, pared del intestino delgado y los vasos arteriales, sugiriendo su papel en el crecimiento fetal y en el desarrollo (Brochu-Gaudreau et al, 2010; Saito et al, 2011). Algunos autores no han encontrado diferencias significativas en las concentraciones de adiponectina entre los grupos CIR y control en las etapas fetal y neonatal (Kyriakakou et al, 2008). Aunque en relación con el CIR, parece que estos neonatos presentan menores concentraciones que los controles, y su concentración en sangre de cordón va a depender de la maduración y del peso fetal (Martos-Moreno et al, 2009). De hecho, se ha analizado en la sangre de cordón, obteniéndose una correlación positiva entre la concentración de adiponectina fetal en relación con el peso al nacimiento (Briana et al, 2008). La adiponectina puede tener un papel en la regulación del CIR. Algunos autores han demostrado la ausencia de diferencias en las concentraciones plasmáticas de adiponectina fetal entre los neonatos CIR y los nacidos con peso adecuado a su EG, probablemente debido a la falta de RI presente en la vida temprana (Lindsay et al, 2003). Otros, afirman que la concentración de adiponectina está alta o normal en la etapa neonatal de los CIR, probablemente con implicaciones en la susceptibilidad al desarrollo futuro de obesidad y de RI (Briana et al, 2008). Street y colaboradores (2011) observaron una concentración reducida de adiponectina en las placentas de los fetos con CIR respecto a los fetos con peso adecuado a su EG.

La severidad del CIR es un factor que debería tenerse en consideración en la valoración de las concentraciones de adiponectina, glucosa y de los parámetros del metabolismo lipídico (Evangelidou et al, 2007). De hecho, los niveles de adiponectina pueden ser significativamente más bajos en niños prepuberales con antecedentes de CIR que alcanzan el catch up de crecimiento que en niños que continúan con un crecimiento escaso durante la infancia. Ello puede indicar que la concentración disminuida de adiponectina en estos niños puede predecir el desarrollo posterior de la grasa visceral y de RI (Sancakli et al, 2008). Algunos autores han observado que en los niños prepuberales con antecedentes de CIR los niveles de adiponectina pueden estar iguales o aumentados en comparación con los niveles de controles apareados por edad, género e IMC (Evangelidou et al, 2007). En este estudio se seleccionó una muestra representativa de los niños CIR, no solo los que continuaron con un crecimiento escaso, lo que podría ser la causa de las diferencias encontradas en los distintos trabajos publicados. Se observaron en los prepúberes con antecedentes de CIR mayores niveles de insulina e índice HOMA en relación con los controles. Esta elevación se debería acompañar de una reducción en los niveles de adiponectina. Otros autores han indicado que los niños prepuberales que fueron CIR con peso al nacimiento inferior al p3 presentaron mayores concentraciones de adiponectina que los controles (Challa et al, 2009). Por ello, aunque los estudios sean algo contradictorios, parece que los niños con CIR tienen un tejido adiposo que tanto morfológica como funcionalmente podría estar alterado (Jaquet et al, 2001).

En la actualidad existen muy pocos estudios que valoren los niveles de adiponectina en niños prepuberales que fueron CIR, a pesar del hecho de que presentan mayor riesgo de RI. Tras valorar los diferentes trabajos publicados, parece que la deficiencia de adiponectina es más probable en los niños que fueron CIR, y esta es la explicación más atractiva para justificar las anomalías metabólicas observadas en estos niños (Briana et al, 2008). De hecho, en un estudio realizado en niñas prepuberales que alcanzaron el catch up espontáneamente y que nacieron CIR se observó menor concentración de adiponectina que en las controles (Ibañez et al, 2011). Por el contrario, Challa y colaboradores (2009) constataron mayores niveles plasmáticos de adiponectina en los niños prepuberales con antecedentes de CIR. López-Bermejo y colaboradores (2004) apuntaron que no había diferencias significativas entre los CIR y los controles prepuberales sanos nacidos con peso adecuado a su EG, incluso, tras ajustar por género,

edad e IMC. Otros autores indican que los niveles de adiponectina son menores en los niños con talla baja que fueron CIR respecto a un grupo control de niños obesos y con talla baja que fueron RN con peso adecuado para su EG (Cianfarani et al, 2004). Uno de los problemas de este estudio fue la selección no solo de los pacientes, sino también de los controles. Por otro lado, en jóvenes puberales se ha observado que las concentraciones de adiponectina se encuentran elevadas en los sujetos que fueron CIR en comparación con controles sanos. Incluso un porcentaje de estos sujetos presentaron RI a pesar de la concentración de esta citoquina (Jaquet et al, 2006), ello podría interpretarse como un mecanismo de adaptación, tras un periodo previo en el que las concentraciones de adiponectina estaban disminuidas. Existen trabajos publicados en relación con los niveles de adiponectina en la etapa prepuberal en niños obesos, en los que sus niveles se encontraban disminuidos (Murdolo et al, 2011; Medina-Bravo et al, 2011), ya que la concentración de adiponectina se relaciona inversamente con el tejido adiposo visceral.

La adiponectina no sólo interviene en el crecimiento prenatal, sino que también lo hace en el crecimiento postnatal. De hecho, en un estudio realizado con neonatos pretérmino se observó que los niveles de adiponectina se incrementaban significativamente tras el nacimiento hasta el momento en que la EGC equivalía a ser a término, y este incremento era mucho mayor en el grupo de pretérmino nacidos con peso adecuado a su EG que en los que fueron CIR. Además, en el momento en el que su EGC se correspondía con la de un RN a término. Los neonatos nacidos con peso adecuado a su EG presentaban mayores concentraciones de esta adipoquina que los pretérmino con CIR. Por ello, los niveles plasmáticos de adiponectina son un reflejo del crecimiento postnatal (Saito et al, 2011). De hecho, según Yoshida y colaboradores (2009) los neonatos prematuros en el momento del nacimiento tienen menores concentraciones de adiponectina que los RN a término y que estos pretérmino con la EGC equivalente a término. Por todo ello, la calidad del crecimiento postnatal y las características del tejido adiposo en los prematuros son distintos de los de los RN a término. Otros autores observaron que las concentraciones de adiponectina estaban disminuidas en los pretérmino en comparación con los RN a término (Wang et al, 2010; Savino et al, 2010).

En relación con el CER, no existen trabajos en la bibliografía consultada que valoren la adiponectina en la etapa prepuberal. Sin embargo, un estudio la ha estudiado en la etapa neonatal. Los RN prematuros que desarrollan CER presentan mayores concentraciones plasmáticas de adiponectina que ellos mismos en el momento del alta de Neonatología (con la ECG a término), por ello los cambios tempranos en el peso tras el nacimiento pueden alterar la concentración de adiponectina (Yoshida et al, 2011). Así mismo, la concentración de adiponectina puede programarse en la vida postnatal temprana, y la desnutrición originada por la condición de ser CER puede influir en la producción de cambios metabólicos a largo plazo.

En este trabajo se observó que los niños prepuberales con antecedentes de CER presentan menor concentración de adiponectina que los controles sanos. Por lo que la condición de ser CER predispone a la alteración en el perfil de adipocinas, con consecuencias para la salud. De hecho, la hipoadiponectinemia se ha asociado con el SM, diabetes tipo 2, HTA, dislipidemia, hígado graso y enfermedad coronaria isquémica, así como con un mayor riesgo de ECV (Challa et al, 2009; Arnaiz et al, 2010; Lau et al, 2011). En este estudio, la hipoadiponectinemia se ha asociado a componentes del SM, como la HTA así como al riesgo aumentado de ECV. De hecho, la asociación negativa de la adiponectina con la TAS es independiente de la adiposidad que presenten los sujetos (Wang et al, 2011). Existen motivos para pensar que la adiponectina puede que no sea un marcador de riesgo de ECV, sino una causa de riesgo, ya que disminuye mejorando la sensibilidad a la insulina y la TA. La secreción adecuada de esta citoquina previene el desarrollo de diabetes tipo 2 e IAM (Gnacinska et al, 2009).

Las asociaciones observadas en los niños prepuberales con antecedentes de CER es la primera vez que se describen en la bibliografía. La adiponectina, que está muy relacionada con la sensibilidad a la insulina, se asocia de forma inversa con la RI en adultos, ya que los niveles disminuidos de adiponectina son predictores del posterior desarrollo de RI (Kyriakakou et al, 2008; Siahaidou et al, 2009). Los niveles plasmáticos bajos de adiponectina se asocian con el incremento de la RI, no sólo en los adultos, sino también en los niños, incluso con un perfil lipídico alterado (Gil-Campos et al, 2004 b). En los individuos con diabetes tipo 1 se han visto concentraciones de adiponectina significativamente aumentadas (Díez et al, 2003). Sin embargo, en los

adultos con obesidad y diabetes tipo 2 las concentraciones plasmáticas de adiponectina se encuentran disminuidas. Estudios en adultos apuntan que la elevación de la adiponectina se asocia con una disminución importante del riesgo de diabetes tipo 2, incluso tras ajustar por género, edad, IMC, consumo de alcohol, hábito tabáquico, estado educacional y hemoglobina glicosilada (Gil-Campos et al, 2004 b).

La secreción de la adiponectina, al igual que la de otras citoquinas, esta regulada hormonalmente. Diferentes estudios coinciden en que la insulina es un regulador positivo de esta citoquina. De hecho, los niveles de insulina se asocian negativamente con los de adiponectina en los niños en estado prepuberal (Gil-Campos et al, 2004 b; Arnaiz et al, 2010). Sin embargo, dicha correlación no se ha observado en este estudio de niños prepuberales, posiblemente debido a los antecedentes que presentaban los mismos. Los efectos de la adiponectina y de su activación, hacen que la gluconeogénesis hepática se reduzca y que se incremente la utilización de glucosa por parte del músculo, con lo que se consigue una reducción de los niveles de glucosa y un incremento de la oxidación de los AG en los tejidos (Gil-Campos et al, 2004 b). De hecho, la asociación entre la adiponectina y la glucosa también se observó en este trabajo.

Diversos autores han descrito una relación inversa en adultos de la adiponectina con el IMC y con el PC (Cnop et al, 2003; Challa et al, 2009; Yanagawa et al, 2010; Arnaiz et al, 2010), lo que indicaría la gran relación que existe entre esta citoquina con el grado de adiposidad, fundamentalmente con la grasa abdominal o la obesidad central, independientemente del peso al nacimiento. En niños prepuberales obesos españoles la adiponectina también se correlacionó negativamente con el IMC, PC, insulina y TG y positivamente con el HDLc (Torres et al, 2008). La adiponectina disminuye los TG y el LDLc, mientras que aumenta el HDLc, incluso en individuos no obesos (Maiorana et al, 2007; Pyrzak et al, 2010; Arnaiz et al, 2010). Por ello, parece que existe un mecanismo de feed back negativo entre el tejido adiposo y la producción de adiponectina, ya que los cambios en esta citoquinas se relacionan con cambios en el IMC y PC (Díez et al, 2003). Sin embargo, en los niños prepuberales con antecedentes de prematuridad y CER no se observaron asociaciones entre esta adipoquina con el IMC, insulina y TG. También se describió una correlación positiva entre adiponectina y HDLc.

En los niños prepuberales con antecedentes de CIR también se obtuvo una correlación inversa entre la adiponectina y el IMC, peso y altura. Lo que podría estar relacionado con el crecimiento en estos niños. De igual forma se observó en este grupo de niños con peso al nacimiento $<p3$, mayor sensibilidad a la insulina que los niños nacidos con peso al nacimiento entre $p3$ - $p10$. En los niños pretérmino, los niveles de esta citoquina no se correlacionaron con los niveles de insulina o leptina. Sin embargo, durante los primeros días de vida los niveles plasmáticos de adiponectina se correlacionaban positivamente con el peso y talla al nacimiento, con la adiposidad neonatal y con las concentraciones de leptina. (Siahanidou et al, 2009). Estos datos concuerdan con los hallazgos de este estudio, ya que en los niños CER, que también fueron prematuros, no se encontraron asociaciones entre la adiponectina con la insulina y leptina. Otros autores en cambio observaron una relación negativa entre adiponectina y leptina en los niños que fueron CIR (Challa et al, 2009) y en los niños prepuberales (Gil-Campos et al, 2004 b), sugiriendo que la asociación entre estas dos hormonas es más consecuente de la adiposidad (Gil-Campos et al, 2004 a).

En los adultos los niveles circulantes de adiponectina se relacionan inversamente con los niveles de leptina. Incluso en los niños prepuberales, la concentración plasmática de adiponectina sigue las pautas de los niveles en los adultos, correlacionado negativamente con el grado de adiposidad. En los niños de este estudio en cambio, presentan antecedentes de crecimiento retrasado, que les hace comportarse de manera distinta. Por otro lado, la adiponectina inhibe a la PCR (Tilg et al, 2006). De hecho, en las mujeres sanas, los niveles de adiponectina se asocian de forma significativa e inversa con los de la PCR. También se ha observado dicha correlación en pacientes con diabetes tipo 2, o en riesgo de diabetes, en pacientes con alguna ECV o dislipidemia, así como en varones sanos de unos 40 años (Fargnoli et al, 2010). Sin embargo, en los niños prepuberales con antecedentes de CER no se ha observado esta asociación. La elevada concentración de adiponectina de alto peso molecular se correlaciona con el empeoramiento de la función endotelial, así como con la inflamación. Estas asociaciones entre la adiponectina con la inflamación y la RI pueden estar mediadas directamente por la PCR, E-Selectina y los biomarcadores de RI (Fargnoli et al, 2010). En el total de los sujetos de este estudio se ha observado una asociación entre la adiponectina con una inflamación sistémica de bajo grado, ya que esta adipoquina se asocia de forma inversa con marcadores proinflamatorios como HGF y MCP1 (Tabla

25), aunque no se correlacione con la PCR, como ya se ha descrito en varios trabajos publicados.

El TNF α es una de las moléculas responsables de la RI. Esta citoquina proinflamatoria reduce la expresión y secreción de adiponectina por parte de los adipocitos también la adiponectina reduce la producción y actividad del TNF α (Maeda et al, 2001; Pyrzak et al, 2010). Por ello, el incremento del TNF α en la obesidad puede ser parcialmente responsable de los niveles disminuidos de adiponectina observados en este estado patológico (Díez et al, 2003). En este estudio también se observó esta asociación (Figura 36 izquierda). El TNF α inhibe la transcripción de la adiponectina, lo que influiría en la presentación de bajos niveles en individuos obesos, así como en los niños con antecedentes de CER, aunque no se observase dicha asociación. La expresión de la adiponectina es regulada también por otros mediadores proinflamatorios, como la IL-6, que inhibe su transcripción y transducción y la adiponectina que a su vez inhibe a la PCR, con la que se correlaciona negativamente (Gilardini et al, 2006; Sowers, 2008). De hecho, en este estudio se observó una asociación positiva entre las concentraciones de adiponectina e IL-6 en los niños participantes en el estudio, posiblemente debido a que los niveles de ambas estaban disminuidos y por el contrario no se observó ninguna correlación con la PCR (Tabla 25). La pérdida de peso es un potente inductor de la síntesis de adiponectina. Por otro lado, su efecto antiinflamatorio se debe a que inhibe la expresión de moléculas de adhesión inducidas por el TNF α en las células endoteliales. En determinadas situaciones, la adiponectina puede tener efectos proinflamatorios, ya que aumenta la transducción de la IL-8 por los macrófagos y la secreción de IL-6 por parte de los monocitos (Tilg et al, 2006). En este estudio se observó una asociación negativa con la IL-8 en los niños prepuberales.

Por otra parte la adiponectina presenta un papel crucial suprimiendo la actividad de los macrófagos, no sólo en el tejido adiposo, sino también en otros como en el hígado. Su síntesis, como se ha comentado anteriormente, está disminuida en individuos obesos, lo que indicaría una disregulación que inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias, lo que también podría suceder en los niños prepuberales con CER. Por otro lado, tiene efectos opuestos a la resistina en las células endoteliales y en el adipocito (Tilg et al, 2006), lo que explicaría la correlación inversa observada en los

niños prepuberales con antecedentes de CER (Figura 35 arriba). Las concentraciones plasmáticas de adiponectina se correlacionan negativamente con la TAS, TAD, glucosa, colesterol total, LDLc y ácido úrico. Por el contrario, la correlación es positiva con los niveles de HDLc, no sólo en los individuos obesos como se había descrito anteriormente (Díez et al, 2003; Sancakli et al, 2008; Brochu-Gaudreau et al, 2010). En un estudio realizado en mujeres no diabéticas con dislipidemia, se observó que los niveles plasmáticos de adiponectina se correlacionaban negativamente con la concentración sérica de TG, Apo B, Apo E y positivamente con los de HDLc y Apo A-1. Estos datos sugirieron que las concentraciones disminuidas de adiponectina se asocian con los factores de riesgo de aterosclerosis, como el HDLc y la hipertrigliceridemia (Matsubara et al, 2002; Gil-Campos et al, 2004 a). En niños puberales tanto obesos como normopeso la adiponectina se asoció negativamente con la TAS y TG y positivamente con el HDLc (Rubin DA et al, 2011). En los sujetos de este estudio también se observó una asociación negativa entre los niveles de adiponectina con la TAS (Figura 32 izquierda), TAD (Tabla 20) y glucosa (datos no mostrados). De hecho, la adiponectina se incrementa con la exposición a bloqueantes del receptor de la angiotensina 2 y puede considerarse como un factor de riesgo independiente de HTA (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

Por el contrario, también se obtuvieron correlaciones positivas con dos de las enzimas del SDA (catalasa y GPox), así como negativa con el β caroteno (Tabla 25). De hecho, algunos autores han observado una fuerte relación entre la expresión de los receptores de adiponectina y la concentración de GPox (Carazo et al, 2011), así como entre la adiponectina de elevado peso molecular con el β caroteno (Suzuki et al, 2010), aunque en este trabajo la asociación fue negativa. La relación de la adiponectina con la catalasa no se había descrito previamente. La expresión de adiponectina se induce en los adipocitos tras la exposición a la vía de los tocoferoles. Por ello la inducción de adiponectina por los tocoferoles es PPAR gamma dependiente (Landrier et al, 2009). De hecho, en este estudio, en el total de los niños prepúberes, los niveles de adiponectina se correlacionaron negativamente con los de tocoferol α , lo que podría estar relacionado con las concentraciones observadas de ambos parámetros.

La adiponectina, como se ha comentado anteriormente, presenta propiedades antihiperlipidémicas, antiaterogénicas y antiinflamatorias. Por ello, el incremento en su

concentración se asocia con el aumento de la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa. Podría especularse que incluso la adiponectina, o los fármacos que estimulasen su secreción y acción, pueden tener un importante papel terapéutico contra estados patológicos asociados con la RI, fundamentalmente la diabetes tipo 2 y la obesidad. La terapia con adiponectina puede jugar un papel en revertir la RI en los desórdenes lipodistróficos. Los efectos antiinflamatorios de esta citoquina la señalan como un factor protector en el desarrollo de la aterosclerosis. Por ello, es concebible que el uso de la adiponectina recombinante pueda ser beneficioso en la prevención de la ECV en determinados pacientes (Diez et al, 2003).

V.4.2.2) Resistina

Los órganos diana de la resistina son el hígado, el tejido adiposo y el músculo esquelético. Esta citoquina aumenta la producción hepática de glucosa y disminuye el metabolismo de los AG en el músculo esquelético. Por ello, la resistina puede ser un importante factor en la patogénesis de alteraciones metabólicas, aunque el mecanismo exacto aún es desconocido, además tiene una acción proinflamatoria (Gnacinska et al, 2009). En los individuos obesos se ha observado que los niveles plasmáticos de resistina se encuentran incrementados (Felipe et al, 2004; Caja et al, 2005). De hecho, la condición de ser CER se asemeja mucho metabólicamente a la obesidad, y en los niños prepuberales la concentración plasmática de resistina también se observó elevada en comparación con los controles sanos. Algunos autores han asociado la elevación de la resistina en la obesidad con la RI, así como acciones metabólicas de la resistina con la insulina (Felipe et al, 2004). También se ha propuesto que la resistina es el nexo de unión entre la RI y la obesidad (Caja et al, 2005), aunque esta afirmación es controvertida. Otros autores han defendido que la concentración circulante de resistina no se asocia con la insulinemia ni con la glucemia (Fargnoli et al, 2010). Sin embargo otros autores indican que la hiperglucemia favorece su liberación (Guzik et al, 2006). En el total de los sujetos de este trabajo se observó una relación positiva entre la resistina con la insulina y la glucosa (resultados no mostrados). En los prematuros se ha descrito una asociación positiva entre los niveles de resistina y los de leptina (Ng et al, 2005), sin embargo, en los niños prepuberales valorados en este trabajo no se observó esta relación

Algunos autores observaron que las concentraciones de resistina estaban disminuidas en los pretérmino en comparación con los RN a término (Ng et al, 2005; Wang et al, 2010; Savino et al, 2010), mientras que otros defienden que están aumentadas, relacionado esta citoquina con la inflamación de esta etapa y con el crecimiento (Gursoy et al, 2011). Parece que los niveles de resistina están aumentados en los prematuros nacidos por parto vaginal respecto a las cesáreas, por lo que podría estar relacionada con el estrés o la inflamación inducidos por el parto (Ng et al, 2005). En la actualidad no existen estudios que valoren la resistina en el CER, ni en la etapa neonatal ni en la prepuberal. Sin embargo, en relación con el CIR, aunque no se hallan encontrado trabajos que valoren esta adipoquina en la etapa prepuberal, se ha propuesto que esta adipoquina se expresa en la placenta, por lo que podría tener un papel en la regulación del metabolismo energético durante la gestación (Caja et al, 2005). La elevada presencia de esta citoquina en las muestras umbilicales indica el papel potencial de la resistina en el control de la homeostasis energética fetal y en el acumulo del tejido adiposo uterino. En los neonatos con CIR hay una disminución de la masa grasa y cambios en mecanismos metabólicos y endocrinos que predisponen a la RI y al SM en la vida adulta. Sin embargo algunos autores no han encontrado diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de resistina entre los neonatos CIR y los controles nacidos con peso adecuado a su EG. Tampoco se encontró asociación entre la resistina y la insulina en comparación con los neonatos nacidos con peso adecuado a su EG. Lo que podría indicar que la resistina no está directamente relacionada en la regulación de la sensibilidad a la insulina y la adipogénesis en el periodo perinatal (Briana et al, 2008; Martos-Moreno et al, 2009). Otros autores, por el contrario han observado concentraciones plasmáticas de resistina menores que en los neonatos control (Willemsen et al, 2007). De hecho, en los niños prepuberales con CER tampoco se observó una asociación entre esta citoquina con los niveles de glucosa e insulina. Por el contrario, los RN prematuros parece que presentan mayores niveles plasmáticos de resistina que los controles con peso adecuado para su EG (Martos-Moreno et al, 2009). Por lo que, en el caso del CER, los neonatos continuarían con la elevación en los niveles de resistina, incluso hasta la etapa prepuberal.

Se ha sugerido que la resistina requiere de la presencia de leptina para ejercer algunas de sus funciones (Gualillo et al, 2007). Respecto a la relación entre la resistina y el resto de componentes del SM, se ha observado una asociación positiva con la TAS

(Norata et al, 2007; Bo et al, 2009; Rubin DA et al, 2011) y TAD (Norata et al, 2007; Bo et al, 2009). La insulina inhibe su expresión en los adipocitos (Maiorana et al, 2007; Willemsen et al, 2007). De hecho, en el total de los sujetos participantes en este estudio la resistina se correlacionó positivamente con la TA, tanto sistólica como diastólica (Tabla 25) y negativamente con los niveles de ácido úrico y HDLc (resultados no mostrados). Algunos autores han observado una relación positiva de resistina con biomoléculas de activación endotelial (Gómez-Ambrosi et al, 2005), mientras que otros no (Fargnoli et al, 2010). Algunos autores han descrito asociaciones positivas entre la resistina y diferentes componentes del SM como los TG y PC y una correlación negativa con los niveles de Apo A-1 y HDLc (Norata et al, 2007). Por ello, las concentraciones plasmáticas de resistina incrementadas se relaciona fuertemente con el mayor riesgo de SM y de ECV en etapas posteriores de la vida (Lau et al, 2011).

Aunque el papel de la resistina en la RI se ha demostrado, se ha propuesto a raíz de esos hallazgos que favorece la activación de las células endoteliales y que regula diferentes moléculas de adhesión y citoquinas (Fargnoli et al, 2010), como la secreción y expresión del MCP1 en las células endoteliales (Fantuzzi et al, 2005; Tilg et al, 2006; Gualillo et al, 2007). De hecho en este trabajo también se observó que los niños prepuberales presentan una correlación positiva entre la resistina y el MCP1 (Tabla 25). Asimismo, se ha evidenciado una la relación positiva con diversos biomarcadores inflamatorios como el TNF α y la IL-6 (Gómez-Ambrosi et al, 2005; Fargnoli et al, 2010), ya que la resistina estimula su síntesis y regula su expresión (Martos-Moreno et al, 2009), y viceversa (Guzik et al, 2006). Incluso se ha observado la asociación de resistina con la IL-6 en los RN prematuros (Gursoy et al, 2011). Aunque esta asociación parece ser la más aceptada otros autores la han descrito inversa (Nogueiras et al, 2005). Otros autores defienden que la expresión de resistina está incrementada por estas citoquinas, además de por la IL-1 β , mientras que la leptina no tiene ningún efecto sobre ella (Tilg et al, 2006). También se han asociado sus concentraciones a las de PCR, tanto en adultos sanos como en pacientes con enfermedad coronaria arterial o diabetes tipo 2, e incluso en prematuros (Gursoy et al, 2011). La relación positiva entre la resistina y la PCR puede estar mediada en parte por la asociación de la resistina con el TNF α y con la IL-6, ya que con ambas se correlaciona la PCR (Fargnoli et al, 2010). Por ello, la resistina tiene un papel favorecedor del proceso inflamatorio (Tilg et al, 2006; Gursoy et al, 2011) e incluso la respuesta inflamatoria puede estimular la secreción de resistina

(Fargnoli et al, 2010). En los niños prepuberales valorados en este estudio también se observó una correlación positiva y moderada de la resistina con el TNF α (Figura 36 derecha). Los niños con antecedentes de CER, así como el total de los participantes, presentaron una asociación positiva con la IL-6 (Figura 35 abajo) y con la PCR, tal y como se describe en la bibliografía. En el total de los sujetos estudiados, la resistina también mostró una asociación inversa con la adiponectina y NFG, y positiva con leptina y HGF (Tabla 25). Sin embargo, de estas últimas correlaciones sólo se ha descrito en la bibliografía la relación entre la resistina y la leptina (Ng et al, 2005).

En relación con los marcadores de EO, la resistina se asoció negativamente con algunas de las enzimas del SDA (catalasa, GPox y GR), así como positivamente con β caroteno y tocoferol α (Tabla 25). Algunos autores la han relacionado con el retinol, aunque en este estudio no se observase dicha relación. De hecho, la vitamina A es un nutriente con importantes efectos sobre el desarrollo y metabolismo del tejido adiposo, ya que influencia la adiposidad corporal y la expresión de factores de transcripción adipogénicos y lipogénicos. El ácido retinoico, que es la forma carboxílica, promueve o inhibe la adipogénesis de los preadipocitos en función de su concentración. De hecho, la suplementación crónica con vitamina A reduce la expresión de resistina (Felipe et al, 2004). Otros autores también han relacionado la resistina con el EO, ya que puede inducir disfunción mitocondrial y un mal balance en las enzimas, como en la NO sintasa (Chen et al, 2010), pero no se han encontrado trabajos que la relacionen con los antioxidantes valorados en este trabajo.

V.4.2.3) Leptina

Aunque existen estudios contradictorios acerca de las concentraciones de leptina en los obesos, la mayoría de ellos apuntan a que estos sujetos tienen las concentraciones aumentadas. La resistencia a la leptina se puede atribuir parcialmente a las interacciones entre la leptina y los factores plasmáticos circulantes. Estos factores pueden unir la leptina impidiendo su transporte y neutralizando su acción (Chen et al, 2006). En un estudio realizado en España con niños prepuberales obesos también se observó que las concentraciones plasmáticas de leptina se encontraban elevadas respecto a niños controles normopeso, lo que se traduce en un aumento de la leptinorresistencia en los

niños obesos (Torres et al, 2008). Por ello, la obesidad se correlaciona con el incremento de los niveles de leptina. La leptina se ha estudiado en relación con la masa grasa y la nutrición durante el periodo postnatal (Siahanidou et al, 2007), aunque en la revisión bibliográfica efectuada no se han encontrado artículos que valoren las concentraciones de leptina en los niños con CER. En este estudio los niños prepuberales con antecedentes de CER, aunque tenían mayores concentraciones de leptina que los niños control, no presentaron diferencias significativas entre ambos grupos. La leptina presenta efectos antiinflamatorios (Kyriakakou et al, 2008). Los niños con antecedentes de CER presentan una inflamación sistémica de bajo grado, por lo que cabe esperar que los niveles de esta citoquina no estén elevados respecto a los controles.

La desnutrición prenatal asociada al CIR puede originar en el futuro susceptibilidad a la obesidad y otros desórdenes relacionados a través de alteraciones en la regulación de la secreción y sensibilidad a leptina. Por ello, la leptina puede jugar un papel en la regulación de la masa grasa antes del nacimiento, produciendo cambios permanentes que conciernen a la adiposidad y a la composición corporal en la vida adulta (Briana et al, 2008). Se ha sugerido que la deficiencia en leptina en los neonatos CIR interviene en la programación. A las 2 semanas tras el nacimiento en los neonatos con CIR se podría observar una alteración en el tejido adiposo. La proliferación excesiva de adipocitos en estos niños puede estar diseñada para mejorar a largo plazo la capacidad de almacenamiento lipídico, constituyendo una ventaja adaptativa en un ambiente de restricción dietética. Al mismo tiempo, la inducción del catch up por mecanismos desconocidos aumenta el depósito de la grasa, ya que si los suplementos nutricionales son abundantes, esta adaptación promueve el exceso de adiposidad (Djiane et al, 2008). Algunos autores objetivaron que la concentración venosa de leptina en sangre de cordón de RN con CIR y controles nacidos con peso adecuado a su EG no mostró diferencias significativas, aunque en los neonatos CIR se observó un incremento en su síntesis, por lo que su actividad biológica podría estar reducida en estos niños, contribuyendo a la perturbación de la regulación del apetito (Tzschope et al, 2011).

Una de las últimas hipótesis en relación con la leptina, le atribuye una función en la mejora de la diferenciación celular de los órganos diana. Otra, que promueve el crecimiento del organismo a través de una acción central mediante la estimulación del eje hipotálamo-hipófisis. La leptina ejerce un papel crucial durante los últimos pasos del

desarrollo fetal y maduración de los órganos. En el RN, gracias a la leche materna, la leptina interviene en la maduración final de diferentes órganos como el intestino y estructuras hipotalámicas que regulan la ingesta alimentaria. Por ello, los RN alimentados con leche materna tiene mayores concentraciones plasmáticas de leptina que los alimentados con fórmulas, que a su vez presentarán mayor riesgo de obesidad. La leptina de la leche materna va a ejercer un importante papel en la programación del desarrollo y a su vez explicaría parcialmente el efecto protector de la alimentación materna contra la obesidad (Djiane et al, 2008).

La producción de leptina es tanto materna, cómo fetal y placentaria. Por lo que la contribución de los distintos tejidos es difícil de evaluar (Tsai et al, 2004). La leptina esta presente en la circulación fetal a partir del segundo trimestre de la gestación. Sus niveles fetales aumentan sobre todo a partir de la semana 34 de EG, coincidiendo con el mayor aumento de la masa grasa fetal y comienzan a detectarse en la sangre de cordón a partir de la semana 19 de EG. Por ello, el aumento de la masa grasa fetal se asocia con el aumento de la producción de leptina fetal (Cetin et al, 2000). Las concentraciones fetales de leptina se van incrementando con el paso del tiempo, sugiriendo que se puede producir una adaptación beneficiosa de resistencia a leptina conforme se va alcanzando el catch up o bien por causa de la disfunción en el adipocito asociada al CIR (Alexe et al, 2006).

Los niveles de leptina están aumentados durante el final de la vida fetal. Según algunos autores, tras el nacimiento, los RN con CIR presentan concentraciones de leptina más bajas que los RN con peso adecuado a su EG (Djiane et al, 2008). Existen estudios que han demostrado que las concentraciones plasmáticas circulantes de leptina en los neonatos CIR tras el nacimiento son bajas, lo que podría ser debido a una reducción de la masa grasa y/o al descenso de la producción placentaria (Valuniene et al, 2007). De hecho, la mayoría de los estudios sugieren que las concentraciones de leptina están más bajas en la etapa neonatal de los niños con CIR, probablemente con implicaciones de susceptibilidad al desarrollo futuro de obesidad y de RI (Javaid et al, 2005; Briana et al, 2008; Martos-Moreno et al, 2009). Estos hallazgos también fueron confirmados en un meta-análisis de los estudios publicados en la literatura más importantes entre 1996 y 2007 (Ren et al, 2010).

Otros autores observaron un aumento en las concentraciones de leptina en los fetos CIR comparado con los RN con CIR el primer día de vida. Las concentraciones de leptina son menores en la etapa neonatal que en la fetal, y además tras el nacimiento descienden sus valores. Esta disminución de leptina en los primeros días tras el nacimiento puede ser un reflejo de una pérdida de peso transitoria durante este primer periodo de vida. Tras el nacimiento, la leptina limita el gasto energético conservando las reservas nutricionales para el crecimiento y el desarrollo. Parece que los neonatos CIR, en comparación a los de peso adecuado a su EG, presentan una disminución de la grasa corporal total, mientras que el tejido adiposo intraabdominal no se reduce (Kyriakakou et al, 2008). A diferencia del estudio de Djiane y colaboradores (2008), no se observaron diferencias significativas en los niveles de leptina entre los neonatos con CIR y los controles, lo que podría ser un reflejo de que la síntesis de leptina es más activa en el tejido adiposo intraabdominal de los neonatos con CIR (Kyriakakou et al, 2008). Briana y colaboradores (2008) también demostraron que no había diferencias significativas en la concentración de leptina entre los niños CIR y los controles con peso adecuado a su EG. Por el contrario, algunos autores afirmaron que los niveles de leptina son mayores en los neonatos CIR que en los controles; en estos momentos no se correlacionan con el peso corporal ni con el IMC, lo que se podría deberse a la resistencia a leptina en los neonatos CIR (Siahanidou et al, 2009).

Existen resultados contradictorios entre algunos autores, ya que parece que los niveles de leptina en sangre de cordón umbilical son mayores en las niñas que en los niños, mostrando un dimorfismo sexual exclusivamente en los niños nacidos con peso adecuado y no en los RN pretérmino (Martos-Moreno et al, 2009). Sin embargo en los RN con CIR parece que no se han encontrado diferencias en las concentraciones de leptina entre ambos géneros (Kyriakakou et al, 2008). En relación con la prematuridad y los niveles de leptina existen estudios contradictorios, ya que algunos autores afirman que los RN prematuros presentan menores concentraciones de leptina que los controles (Martos-Moreno et al, 2009; Savino et al, 2010) y otros defienden que los niveles de leptina no son menores en los pretérmino que en los controles a término (Siahanidou et al, 2009).

En relación con la concentración de leptina en la etapa prepuberal de los niños con antecedentes de CIR, algunos autores observaron que no existían diferencias en

comparación con los controles sanos (Sancakli et al, 2008; Challa et al, 2009). Estos hallazgos coinciden con los obtenidos en este estudio, ya que, como se ha comentado anteriormente, no se observaron diferencias significativas entre los niños prepuberales con antecedentes de CER y los controles sanos. Sin embargo, en los prepúberes que fueron CIR que alcanzaron el catch up de crecimiento, se observó una elevación en los niveles de leptina. De hecho, en un estudio realizado en niñas prepuberales que alcanzaron el catch up espontáneamente y que nacieron CIR se observó mayor concentración de leptina que en las niñas control (Ibañez et al, 2011). Otros autores observaron que los niños prepuberales con antecedentes de CIR y que continuaron con un crecimiento escaso presentan los niveles de leptina reducidos en comparación con niños control (Boguszewski et al, 1997). Por otro lado, los niños prepuberales que nacieron grandes para su EG tienen mayor concentración de leptina que los controles (Evangelidou et al, 2010). En este trabajo los niños con antecedentes de CER no alcanzaron el catch up de crecimiento y las concentraciones de leptina se observaron más altas que en los niños control, aunque sin significación estadística. En la etapa puberal, algunos autores observaron que a los 13-16 años, los niños que fueron pretérmino y con bajo peso al nacimiento, no presentaban concentraciones aumentadas de leptina; y esto podía ser debido a la programación y a la nutrición postnatal temprana. La manipulación dietética en el primer mes de vida influencia los niveles de leptina incluso en la etapa puberal, por lo que las concentraciones de leptina son programables en las dietas tempranas (Singhal et al, 2002).

La secreción de leptina es proporcional al porcentaje de tejido adiposo corporal, y se relaciona con la RI, inflamación crónica, diabetes tipo 2, HTA, aterotrombosis y enfermedad miocárdica (Gualillo et al, 2007; Martin et al, 2008; Kyriakakou et al, 2008; Challa et al, 2009). También juega un papel importante en la génesis del SM y de la ECV (Challa et al, 2009). Existen trabajos de leptina en la etapa prepupal de niños obesos, en los que sus niveles se encontraban aumentados, ya que es un importante marcador del grado de adiposidad (Murdolo et al, 2011). Por ello, el hecho de que en este trabajo su concentración plasmática no está incrementada podría deberse a que en los niños prepuberales con antecedentes de CER los cambios que se observan en el adipocito serían fundamentalmente cualitativos. En los RN con peso adecuado, así como en los neonatos con CIR se han descrito relaciones positivas entre la concentración de leptina con la EG (Kyriakakou et al, 2008), así como con el peso al

nacimiento y con la adiposidad (Cetin et al, 2000; Tsai et al, 2004). En los prematuros se observó una asociación inversa entre los niveles de leptina y la ganancia de peso (Siahanidou et al, 2009). De hecho, algunos autores defienden que la leptina es una hormona que se relaciona con el peso en etapas posteriores de la vida y no en el momento del nacimiento (Challa et al, 2009).

La leptina se correlaciona de forma positiva con el IMC (Cetin et al, 2000; Frühbeck et al, 2006), ya que sus niveles circulantes se asocian fuertemente con la grasa corporal, y con sus marcadores antropométricos (Gil-Campos et al, 2004 a). En los niños prepuberales con antecedentes de CER también se observó una asociación positiva muy fuerte entre la leptina y el IMC (Tabla 19). De hecho, esta correlación tan marcada podría explicar en parte que, aunque los niveles de leptina en los niños que fueron CER estaban elevados, no fueron significativos, ya que estos niños presentan un crecimiento escaso, como muestra el IMC. La leptina se asocia positivamente a algunos de los marcadores lipídicos del SM, y negativamente con el HDLc (Gil-Campos et al, 2004 b). De hecho, se ha relacionado con todos los parámetros lipídicos a excepción de la Apo B (Gil-Campos et al, 2004 a). En el total de los niños prepuberales valorados en este trabajo se obtuvo una asociación positiva entre la leptina con el colesterol total y los TG, y negativa con el HDLc, como se describe en la bibliografía (resultados no mostrados). Además, la leptina se asoció a la TAS (Tabla 20), al igual que en el trabajo de Wang y colaboradores (2011), en niños puberales. De hecho, estos autores observaron una relación positiva entre la leptina y la TAS y TAD en los niños puberales, que fue dependiente de la adiposidad.

Por otro lado, la leptina puede modular la acción de la insulina (Kyriakakou et al, 2008). Algunos autores han afirmado que la leptina inhibe la secreción de insulina (Challa et al, 2009). Mientras que otros defienden que la síntesis de leptina es estimulada por la insulina (Fantuzzi et al, 2000). Sin embargo, los niveles de insulina se asocian positivamente a los de leptina, incluso en los niños en estado prepuberal (Gil-Campos et al, 2004 b), lo que podría indicar que la leptina es una señal de los adipocitos a los islotes pancreáticos para la sobreproducción de insulina cuando el contenido en grasa está elevado y la sensibilidad a insulina disminuida (Gil-Campos et al, 2004 a). En este trabajo se observó que en los niños con antecedentes de CER la leptina se asoció de forma positiva con la insulina (Figura 34 derecha) y con el índice HOMA (Tabla 19).

Como en este estudio ninguno de estos marcadores se encontraba elevado, la asociación existente entre ellos, podría contribuir a estos hallazgos. En el total de los niños prepuberales la leptina y la glucosa se correlacionaron positivamente. En relación con la inflamación, las concentraciones plasmáticas de PCR se correlacionan positivamente con las de leptina, ya que la producción de leptina induce la expresión hepática de PCR (Fantuzzi et al, 2000; Chen et al, 2006). De hecho, en el total de los niños prepuberales valorados en este trabajo también se observó dicha correlación (Tabla 25). Se correlaciona también positivamente con el PAI1t (Fantuzzi et al, 2000). La leptina induce la expresión de la IL-6, de la IL-8 (Guzik et al, 2006; Tilg et al, 2006; Tong et al, 2008) y de la IL-12, fundamentalmente a nivel de monocitos y macrófagos (Tilg et al, 2006). Y su síntesis es estimulada por la IL-1 β (Fantuzzi et al, 2000). Sin embargo, en este estudio no se observó asociación de los niveles plasmáticos de leptina con la IL-6, y la relación con la IL-8 fue negativa, tanto en el total de los prepúberes (Tabla 25) como en los niños con antecedentes de CER. Se obtuvo una relación positiva entre la leptina y el HGF, que no se ha observado en otros estudios.

Por el contrario, la relación causa-efecto entre la leptina y el TNF α es ampliamente conocida, ya que recíprocamente estimulan su propias síntesis (Fantuzzi et al, 2000; Gil-Campos et al, 2004 a; Tilg et al, 2006; Guzik et al, 2006), y también queda patente en el total de los niños prepuberales estudiados (Tabla 25). Esta adipocina induce la expresión hepática de otros factores proangiogénicos y proinflamatorios, como la MCP1 y factores de crecimiento del endotelio vascular (Aleffi et al, 2005; Tilg et al, 2006; Guzik et al, 2006). Sin embargo, esta relación no se observó en este estudio. En el endotelio vascular, tanto el TNF α como la IL-6 son capaces de favorecer la producción de leptina adipocitaria (Antua-Puente et al, 2008). En relación con el EO, en los niños con antecedentes de CER se observó una relación de la leptina con el tocoferol α y con el retinol y en el total de los niños prepuberales (Tabla 25) con la catalasa, GPox, SOD, β caroteno y tocoferol α . Lo que indicaría que la leptina se relaciona con el EO. Ben y colaboradores (2009) también observaron una relación negativa entre la leptina y el tocoferol α , por lo que esta vitamina podría tener un control negativo en la secreción de leptina. En ratones se ha demostrado que el retinol inhibe la expresión de leptina en el tejido adiposo, aunque estos hallazgos no habían sido demostrados en humanos (Felipe et al, 2005). El resto de asociaciones entre la leptina con los antioxidantes no se han descrito previamente.

V.5) LA INFLAMACIÓN Y SUS BIOMARCADORES EN LOS NIÑOS PREPUBERALES CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

V.5.1) La inflamación

En la revisión bibliográfica realizada no se ha encontrado información sobre el comportamiento de la inflamación de bajo grado ni de sus biomarcadores en los niños con antecedentes de CER, ni de su posible aparición en edades posteriores de la vida. Los mecanismos que favorecen el desarrollo de enfermedad inflamatoria y cardiovascular derivados de la programación fetal aún no han sido dilucidados (Levy Marchal et al, 2006; Antua-Puente et al, 2008), aunque se implica directamente al tejido adiposo. De hecho, la inflamación de bajo grado puede predecir en desarrollo de la diabetes tipo 2 y de la ECV en etapas posteriores de la vida, y el papel del tejido adiposo en la inflamación, ya que secreta o incrementa los mediadores de la misma, apoyan el concepto de que el tejido adiposo *per se* es un fuerte determinante de la inflamación sistémica (Murdolo et al, 2011). Estos cambios metabólicos e inflamatorios también podrían estar influenciados por la propia prematuridad, aunque hasta ahora la bibliografía indica un mayor riesgo de padecer ECV y diabetes tipo 2 en etapas posteriores de la vida en sujetos con un crecimiento anómalo, sobre todo intrauterino (Clark et al, 2003 a), por lo que la condición de ser CER sería la responsable de la inflamación en estos niños.

Aunque las citoquinas son difíciles de predecir y de medir (Wärnberg et al, 2004), se conoce que el incremento del tejido adiposo visceral conlleva un aumento en la secreción de diversas citoquinas proinflamatorias, como IL-6, IL-8, TNF α , PAI1t y PCR, así como de otras moléculas que desempeñan un papel importante en el desarrollo de la RI, como algunas adipoquinas (Despres et al, 2006; Charo et al, 2006; Chudek et al, 2006; Berg et al, 2007), así como niveles disminuidos de adiponectina (Despres et al, 2006). Un aumento del tejido adiposo al igual que una alteración cualitativa en el mismo, pueden alterar el metabolismo y ocasionar un perfil proinflamatorio que contribuye a la RI y alterar la homeostasis de la glucosa. Por lo que algunos de los biomarcadores de inflamación como TNF α , IL-6 y PCR estarán aumentados en los sujetos con RI, por lo que predicen el desarrollo de diabetes tipo 2 y

de ECV (Tilg et al, 2006). La inflamación de bajo grado se deriva de la acción de estas citoquinas proinflamatorias, producidas directa y localmente por el tejido adiposo y no vía circulación sanguínea. Se ha evidenciado una mayor infiltración de macrófagos en el tejido adiposo visceral que en el tejido subcutáneo, lo que es reflejo de un mayor estado inflamatorio (Van Gaal et al, 2006). El tejido adiposo subcutáneo, sin embargo, expresa mayor cantidad de adiponectina que el visceral (Hernández-Morante et al, 2008). Por ello, en la inflamación sistémica de bajo grado intervienen tanto el tejido adiposo visceral, como el subcutáneo y los macrófagos infiltrados. En la obesidad se produce una liberación de adipoquinas, TNF α , IL-6, IL-1 β e IL-8, como parte de un proceso inflamatorio complejo y coordinado, pudiendo entrar en un “círculo vicioso” de inflamación por la respuesta autocrina y paracrina de las citoquinas proinflamatorias (Lee et al, 2007 a).

En los puberales españoles se ha descrito que la grasa corporal se asocia a una mayor producción de moléculas inflamatorias, lo que sugiere una acción proinflamatoria en los puberales aparentemente sanos con sobrepeso. Existe evidencia de que la inflamación crónica subclínica se asocia en estos con una disfunción metabólica, lo que une la RI con el SM. La adolescencia es un periodo crítico para la obesidad y otras patologías de origen metabólico así como para sus morbilidades (Wärnberg et al, 2006). Por lo que la etapa prepuberal en la condición metabólica de ser CER podría ser crítica para estos niños, ya que en ella se observan alteraciones derivadas de esa condición neonatal. La obesidad infantil, fundamentalmente visceral, también se asocia a un estado de inflamación sistémica crónica de bajo grado de origen metabólico. Esta condición se caracteriza por una producción anormal de citoquinas, un aumento de reactantes de fase aguda y la activación de los mecanismos de inflamación (Wärnberg et al, 2004; Valle et al, 2007). Una gran cantidad de desórdenes metabólicos se asocian a esta patología, tanto en adultos como en edades muy tempranas (Valle et al, 2007). Se han descrito grandes asociaciones entre los índices antropométricos y los marcadores de inflamación, como la PCR, TNF α y la IL-6 (Panagiotakos et al, 2005).

Por otra parte, existen alteraciones en el adipocito que pueden llevar al desarrollo de aterosclerosis; proceso multifactorial con un gran componente inflamatorio crónico que se caracteriza por la aparición de partículas de LDLc oxidadas que conducen al desarrollo de alteraciones en la funcionalidad del endotelio vascular.

Los cambios en el sistema vascular asociados al inicio de la aterosclerosis pueden presentarse en la infancia, influenciados por los factores de riesgo cardiovascular, y por las alteraciones asociadas al SM (Sacheck, 2008). Las células inflamatorias infiltrantes son comunes de la aterosclerosis crónica (Pellanda et al, 2009). Entre ellos pueden verse implicadas algunas citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF α y el MCP1 (Sacheck, 2008). También la inflamación de bajo grado participa en la patofisiología de la ECV, diabetes tipo 2, HTA y en el proceso de la coagulación anormal. Los parámetros de inflamación se correlacionan con los componentes del SM. Se ha propuesto a la inflamación como uno de los mecanismos causales en la patogénesis de la RI (Pellanda et al, 2009). De hecho, ha sido considerada como uno de los componentes del SM (Panagiotakos et al, 2005).

Los prematuros presentan un perfil de biomarcadores inflamatorios (IL-6, IL-1 β , IL-8 y MCP1) alterado (Narendran et al, 2010), lo que podría indicar que presentan un mayor estado inflamatorio, en respuesta al estrés del nacimiento. En relación con la etapa perineonatal, las infecciones y otras causas de estrés ambiental provocan activación del sistema inmune innato. Si esta activación ocurre durante un periodo crítico de expresión génica, se podría producir de forma transitoria o permanente una tendencia al estado proinflamatorio. Por ello, el bajo peso al nacimiento puede producir una tendencia a la inflamación de bajo grado en los niños sometidos a estrés en un periodo crítico del desarrollo (Pellanda et al, 2009). De hecho, nuestros resultados confirmarían estos hallazgos, ya que se ha observado un estado inflamatorio en niños con antecedentes de estrés neonatal derivado de la desnutrición tras el nacimiento. Por ello, Pellanda y colaboradores (2009) señalaron que la programación del sistema inmune también podría modular la expresión genética de los marcadores proinflamatorios. Esta expresión genética es cada vez un fenómeno más dinámico, que incluye alteraciones cuali y cuantitativas para promover la adaptación funcional a los cambios ambientales. De hecho, se ha observado que la expresión de numerosos genes se altera en la aterosclerosis, en la formación de la placa de ateroma y en la migración de los macrófagos, lo que se conoce como “el fenotipo proinflamatorio de las células endoteliales”.

En el CIR, la desnutrición y otros factores que causan estrés durante el desarrollo fetal originan alteraciones en la expresión génica, lo que desencadena un

estado de inflamación crónica de bajo grado, que puede a su vez predisponer al desarrollo de SM, diabetes tipo 2 y ECV (Pellanda et al, 2009). El bajo peso al nacimiento predice la gran inflamación sistémica y la activación endotelial en los adultos de mediana edad, permitiendo la especulación de que el estrés fetal puede programar la alteración de la expresión génica, produciendo una gran respuesta del sistema inmune innato. Este estado puede ayudar a explicar la asociación del bajo peso al nacimiento con la RI, elementos del SM y del la ECV, ya que todas estas condiciones presentan un importante componente inflamatorio (Pellanda et al, 2009). Otro autores en relación con la inflamación en la etapa neonatal de los CIR, han observado en la sangre de cordón elevaciones significativas de estos biomarcadores (Amarilyo et al, 2011), lo que pondría de manifiesto un estado inflamatorio en los neonatos con esta patología, que podría observarse en etapas posteriores de la vida. Esta asociación de los factores inflamatorios también está siendo estudiada en relación al peso al nacimiento para valorar si constituye un factor de riesgo (Pellanda et al, 2008). Por ello, al igual que en estas patologías, los niños prepuberales con antecedentes de CER, dado a una posible alteración en el tejido adiposo en la etapa neonatal a causa de la sobrealimentación para alcanzar el catch up en el menor tiempo posible, podrían presentar cambios en determinados mecanismos inflamatorios y metabólicos.

En este estudio se observó que los niños prepuberales con antecedentes de CER presentan una elevación significativa de los biomarcadores proinflamatorios PCR, IL-8, HGF, MCP1 y TNF α (Figura 28), en comparación con prepúberes sanos. Aunque no se obtuvieron diferencias para IL-1 β , IL-6, NGF y PAI1t (Tabla 16), se puede afirmar que los niños con antecedentes de CER presentan un estado inflamatorio crónico de bajo grado, ya incluso en la etapa prepuberal. Ello puede indicar, que de forma muy precoz en la etapa perinatal, existe una alteración en el adipocito, como se ha observado en niños de bajo peso para su EG, tanto al nacimiento (Maiorana et al, 2007) como en etapas posteriores de la vida (Meas, 2010 a).

Por otra parte, tras el análisis factorial efectuado en las adipoquinas y biomarcadores (Tabla 29) con objeto de determinar si todas estas moléculas presentaban significación biológica en la inflamación sistémica de bajo grado en la edad prepuberal, se observó que todos los marcadores analizados, a excepción de la PCR, influyen en el 70% de la variabilidad de la inflamación. Estos hallazgos acentuarían la hipótesis de que

el tejido adiposo puede jugar un papel clave en el estado metabólico e inflamatorio de los niños en la etapa prepuberal, incluso en los que hayan tenido en la etapa perinatal, un crecimiento extrauterino alterado. De hecho, en este estudio se han observado evidencias de cambios cualitativos en el adipocito en los niños con antecedentes de CER, que podrían contribuir en la explicación de los resultados de este análisis.

V.5.2) Biomarcadores de inflamación

V.5.2.1) Proteína C reactiva

La PCR es considerada como el mayor reactante de fase aguda en humanos. Es una molécula de defensa de primera línea, que reconoce patógenos, daña las células y promueve su eliminación activando el sistema del complemento (Boutsikou et al, 2010). Algunos autores la han considerado como el biomarcador inflamatorio por excelencia (Soto et al, 2006; Hirose et al, 2009), mientras que otros sólo han defendido que presenta gran sensibilidad y poca especificidad en la inflamación (Boutsikou et al, 2010). Su síntesis hepática es inducida por citoquinas proinflamatorias (Fagnoli et al, 2010). De hecho, el tejido adiposo visceral vía portal ejerce una regulación positiva sobre esta proteína (Guilherme et al, 2008). La PCR se asocia con el aumento del riesgo de ECV (Panagiotakos et al, 2005; Bhuiyan et al, 2011), de hecho es un emergente marcador predictor de riesgo cardiovascular (Wärnberg et al, 2006; Hirose et al, 2009), así como de SM (Soto et al, 2006), diabetes tipo 2 (Soto et al, 2006; Charo et al, 2006), RI (Chen et al, 2006) y obesidad (Soto et al, 2006; Chen et al, 2006) en la infancia o en etapas posteriores de la vida. La síntesis de PCR en los niños parece seguir las pautas de los adultos (Wärnberg et al, 2004) y no existen diferencias entre los géneros (Hirose et al, 2009).

En relación con la obesidad numerosos estudios han valorado sus niveles séricos, observando que aumentan en esta patología, y además la adiposidad origina un estado de inflamación de bajo grado, en el que se libera PCR en adultos (Kim et al, 2006; Boutsikou et al, 2010), así como en puberales con sobrepeso (Wärnberg et al, 2006) y con obesidad (Wärnberg et al, 2004). En la obesidad infantil también se ha observado el incremento de la PCR (Valle et al, 2007; Mauras et al, 2010; Galcheva et

al, 2011) respecto a los controles. En los prematuros parece que la concentración de PCR es menor que en los nacidos a término (Skogstrand et al, 2008; Hofer et al, 2011).

El bajo peso al nacimiento afecta a la inflamación sistémica, y por ello a la concentración de PCR. De hecho jóvenes asintomáticos que nacieron con CIR presentan elevación en sus niveles, lo que podría relacionar el retraso en el crecimiento con la inflamación sistémica, así como con un mayor riesgo de ECV (Bhuiyan et al, 2011). Los niveles circulantes de PCR, que están involucrados en el estrés fisiológico perinatal, probablemente reflejan la inflamación del tejido adiposo y cerebral, pueden ser distintos en los neonatos CIR en comparación con los sanos (Boutsikou et al, 2010). Sin embargo, los resultados son controvertidos, ya que algunos autores han observado elevaciones significativas en comparación con los controles (Amarilyo et al, 2011), mientras que otros no (Boutsikou et al, 2010). Algunos autores han referido que en niños y adultos los niveles de PCR se relacionan negativamente con el peso al nacimiento (Bhuiyan et al, 2011). Como los CIR tienen menor cantidad de masa grasa total y visceral a pesar del bajo peso al nacimiento, la falta de diferencia entre ambos grupos indicaría que los CIR tienen un mayor estado inflamatorio. Además, el incremento gradual de las concentraciones de PCR a lo largo de los días tras el nacimiento puede ser atribuido al estrés adaptativo a la vida extrauterina (Boutsikou et al, 2010). Esta hipótesis concuerda con nuestros resultados en los niños CER, ya que se obtuvieron concentraciones elevadas en comparación con los controles (Figura 28), lo que podría ser debido al estrés originado por la desnutrición postnatal. Sin embargo, en el análisis factorial efectuado (Tabla 29), la PCR fue el único biomarcador estudiado que no contribuyó a la inflamación en estos niños. Lo que podría ser debido al origen mayoritariamente hepático del mismo, poniendo de manifiesto que es el tejido adiposo el mayor responsable de la inflamación en estos niños, aunque la PCR este involucrada en la regulación de la adiposidad a través de interacciones con otras citoquinas, como la leptina y la promoción de la resistencia a la misma (Chen et al, 2006).

La secreción de PCR por parte del tejido adiposo es más elevada cuanto mayor es el IMC (Berg et al, 2005; Panagiotakos et al, 2005; Wärnberg et al, 2006). De hecho, en los niños prepuberales participantes en este estudio la PCR se correlacionó positivamente con el IMC (resultados no mostrados), lo que concuerda con estos autores. Asimismo, el incremento de PCR se ha asociado con el incremento de TAS y

TAD de forma precoz en niños y adolescentes (Freedman et al, 2004; Wärnberg et al, 2006; Galcheva et al, 2011). Sin embargo en los niños prepuberales participantes en este estudio, la PCR únicamente se correlacionó con la TAS (Tabla 20). Por otro lado también existe asociación entre el PC y la PCR en los niños y adolescentes (Wärnberg et al, 2006). En relación con el perfil lipídico, en los niños con antecedentes de CER, la PCR se relacionó negativamente con el HDLc, lo que explicaría las concentraciones de ambos así como con la Apo A-1 (Tabla 21). Los niveles plasmáticos de PCR se correlacionan con los parámetros de RI; insulina, índice HOMA (Soto et al, 2006) y glucosa (Gnacinska et al, 2009). Sin embargo en los niños con antecedentes de CER participantes en este estudio la PCR se asocio negativamente a la glucosa (Tabla 22).

La PCR es secretada principalmente por el hepatocito en respuesta a IL-6 y TNF α , ambos de síntesis adipocitaria (Wärnberg et al, 2004; Panagiotakos et al, 2005; Lee et al, 2007 a; Lee et al, 2010). De hecho, tanto en el total de los niños estudiados en este trabajo, como en los prepúberes con antecedentes de CER se observaron dichas asociaciones (Tabla 26). Induce la expresión de PAI1 (Soto et al, 2006; Boutsikou et al, 2010), IL-6, IL-1 β , TNF α , y MCP1 (Berg et al, 2005). Aunque en este estudio no se observó la relación de la PCR con el PAI1t y MCP1, y por el contrario, en el total de niños la PCR mostró asociación con los factores de crecimiento.

V.5.2.2) Las interleuquinas

- Interleuquina 6

La elevación plasmática de IL-6 pueden originar inflamación sistémica de bajo grado por sí misma, y por su acción sobre otras biomoléculas (Antua-Puente et al, 2008), lo que podría incrementar también el riesgo de patología coronaria (Panagiotakos et al, 2005). Aunque algunos autores han afirmado que el incremento de la IL-6 en estados inflamatorios crónicos de bajo grado suele ser moderado (Hoene et al, 2008). Por ello, esta podría ser la causa, junto con la corta edad de los pacientes, de no haber observado cambios en los niveles de IL-6 en el grupo CER de este estudio respecto al grupo control. Parece que la producción de esta interleuquina en los niños sigue las pautas de los adultos (Wärnberg et al, 2004). El tejido adiposo, fundamentalmente el visceral, es

el mayor productor de esta citoquina. De hecho, el 30% de la concentración total de la misma se sintetiza en este tejido (Kershaw et al, 2004; Wärnberg et al, 2006; Chudek et al, 2006; Berg et al, 2007) y el tejido adiposo visceral produce hasta 3 veces más IL-6 que el tejido adiposo subcutáneo (Panagiotakos et al, 2005). En los niños prepuberales con obesidad se ha descrito tanto el aumento de citoquinas proinflamatorias como el de IL-6 (Aygün et al, 2005; Valle et al, 2007; Mauras et al, 2010) así como la falta de diferencias respecto a controles sanos (Wärnberg et al, 2004).

En relación con el CIR y las citoquinas existen muy pocos trabajos publicados y son muy contradictorios. Street y colaboradores (2011) observaron una concentración de IL-6 aumentada en las placentas de los fetos con CIR respecto a fetos con peso adecuado a su EG. Algunos autores en cambio, afirman que los neonatos con CIR presentan menor concentración de IL-6, comparado con RN con peso adecuado para su EG (Odegard et al, 2001; Martos-Moreno et al, 2009). Sin embargo, otros defienden que han observado elevaciones significativas en estos frente a los controles (Street et al, 2006; Amarilyo et al, 2011). Aunque ambos aportan la hipótesis de que la IL-6 debe estar relacionada con el crecimiento fetal. Algunos autores defienden que no existe asociación entre los niveles de IL-6 y la prematuridad (Matoba et al, 2009). Aunque parece que los RN prematuros presentan mayores niveles plasmáticos IL-6 que los RN control (Martos-Moreno et al, 2009; Skogstrand et al, 2008; Narendran et al, 2010) y respecto a los adultos (Narendran et al, 2010), los niños prepuberales con antecedentes de prematuridad y CER no mostraron diferencias significativas con el grupo control (Tabla 16).

Por otro lado, los niveles plasmáticos de IL-6 también se han relacionado con un riesgo incrementado de SM (Lee et al, 2009), diabetes tipo 2 (Charo et al, 2006; Gualillo et al, 2007), RI (Gualillo et al, 2007; Fargnili et al, 2010), HTA, dislipemia (Goyenchea et al, 2005), obesidad y ECV (Kershaw et al, 2004). De hecho, en este estudio los niveles de glucosa se correlacionaron positivamente con los de IL-6, mientras que el índice HOMA lo hizo de forma negativa (resultados no mostrados). De igual forma se observó una asociación negativa entre IL-6 y TAS (Tabla 20) en los niños prepuberales y entre la IL-6 y el HDLc en los CER (Tabla 21). Diversos autores han descrito una asociación positiva entre la IL-6 y la TAS (Rubin et al DA, 2011; Cheung et al, 2011), aunque en este trabajo la asociación fuese negativa. La IL-6 se correlacionó

positivamente con el IMC (Berg et al, 2005; Gualillo et al, 2007), sin embargo en este estudio no se obtuvo esta asociación.

En relación con el resto de los biomarcadores de inflamación, la IL-6 favorece la síntesis de PCR (Hoene et al, 2008), y de otras citoquinas proinflamatorias como el MCP1 (Hoene et al 2008), la IL-8 (Antua-Puente et al, 2008) y el NGF (Bulló et al, 2007). El TNF α también incrementa su síntesis (Hoene et al, 2008). En este estudio, tanto los niños con antecedentes de CER como el total de los prepúberes presentaron una asociación positiva con la PCR y con el PAI1t (Tabla 26), ya que se ha descrito que la IL-6 favorece la producción de PAI1t (Chudek et al, 2006), así como de MCP1. Además, en el total de los niños estudiados la IL-6 se correlacionó con la IL-8, NGF (ambas estudiadas por otros autores) y con el HGF (Tabla 26), siendo esta última asociación la primera vez que se describe.

- Interleuquina 8

La IL-8 también es considerada una citoquina proinflamatoria. Las concentraciones elevadas de IL-8 también se asocian con apoptosis, activación de neutrófilos y con daño, así como aumento de la permeabilidad y disfunción celular endotelial. Es considerada una citoquina quimiotáctica, favoreciendo la migración transendotelial leucocitaria y la infiltración macrofágica en diversos tejidos (Charo et al, 2004). Es sintetizada en mayor cantidad por el tejido adiposo visceral, comparado con el tejido adiposo subcutáneo (Chudek et al, 2006; Berg et al, 2007). La IL-8 puede tener un papel en la patogénesis y en las secuelas de la preclampsia, especialmente en las madres de los RN CIR (Laskowska et al, 2007). De hecho, la mayoría de los estudios de esta IL en relación con el CIR y con la prematuridad son en las madres de estos niños, donde se han observado valores incrementados de IL-8 en comparación con mujeres con una gestación normal (Faulhaber et al, 2011). En los neonatos prematuros se han observado niveles significativamente más elevados de IL-8 que en los nacidos a término y que en los adultos (Skogstrand et al, 2008; Matoba et al, 2009; Narendran et al, 2010). Por el contrario, no hemos encontrado publicaciones que valoren esta citoquina en relación con los niños con antecedentes de CIR y/o CER. En este estudio se ha demostrado que los niños prepúberes con antecedentes de CER presentan elevación de IL-8 en sus concentraciones plasmáticas (Figura 28B).

Aunque la secreción de IL-8 por parte del tejido adiposo es más elevada cuanto mayor es el IMC (Berg et al, 2005), en los niños prepuberales con antecedentes de CER se observó una asociación inversa (Tabla 19). El total de los sujetos estudiados se correlacionó positivamente con la TAS (Tabla 20). La insulina induce la expresión de la IL-8 (Kobashi et al, 2009), de hecho, los niños con antecedentes de CER mostraron en nuestro trabajo una asociación con el índice HOMA, aunque la relación observada con la insulina fue negativa (Tabla 24). Su liberación es estimulada por la IL-1 β y por el TNF α (Trayhurn et al, 2004), como muestran las asociaciones observadas entre estos biomarcadores en los niños con antecedentes de CER.

Se ha descrito que la PCR y la IL-8 inducen su propia expresión (Kobashi et al, 2009), aunque en este estudio no se observó esta asociación. Por otro lado, la IL-8 favorece la migración leucocitaria a través del MCP1 (Kim et al, 2006), lo que coincide con la relación mostrada en la tabla 26 y en la figura 37 (arriba) entre la concentración plasmática de IL-8 y de MCP1 en el total de niños estudiados y en los prepúberes con antecedentes de CER. Por el contrario, la asociación observada tanto en los niños con antecedentes de CER como en el total entre IL-8 y PAI1t, no está descrita en la bibliografía. Ni las mostradas en la tabla 26 entre esta citoquina y los factores de crecimiento en el total de los niños. Por otro lado, el TNF α y la IL-6 regulan positivamente su secreción (Kobashi et al, 2009), y estos datos coinciden con las asociaciones observadas entre estos biomarcadores en los niños participantes en este estudio.

V.5.2.3) Factores de crecimiento

- Factor de crecimiento hepatocitario

En los niños puberales obesos se han descrito elevaciones plasmáticas de HGF (Jun et al, 2009). Parece que la expresión del HGF y la distribución celular de su receptor están relacionadas con los fetos con CIR, ya que se ha relacionado este factor con la organogénesis (Somerset et al, 1998). De hecho, otros autores observaron una mala regulación en la interacción entre el HGF y su receptor en los neonatos con CIR, lo que podría estar relacionado con el retraso del crecimiento por causa placentaria (Baykal et

al, 2005). En los prematuros se han destacado menores niveles plasmáticos de HGF respecto a los controles, ya que sus niveles se correlacionan con el peso al nacimiento y con la EG (Lassus et al, 2006; Nakatsukasa et al, 2008). En estos estudios debería tenerse en cuenta la alimentación con leche materna, ya que posee este factor y resulta además beneficioso para el tracto digestivo (Itoh et al, 2002). El HGF también es considerado un biomarcador proinflamatorio que está fuertemente asociado al SM (Hiratsuka et al, 2005). En el presente trabajo, se han observado mayores concentraciones plasmáticas de HGF en el grupo CER respecto al grupo control (Figura 28C), y correlaciones negativas del mismo con el HDLc para el total de los niños estudiados (resultados no mostrados) y con TG y Apo B en el grupo de niños con antecedentes de CER. Hiratsuka y colaboradores (2005) documentaron en adultos sanos asociaciones positivas entre los niveles plasmáticos de HGF con la TA y negativas con los TG y el HDLc.

El TNF α incrementa su liberación en el tejido adiposo (Bell et al, 2006; Vogel et al 2010; Ryan et al 2008). De hecho, tanto en los niños con antecedentes de CER (Figura 37 abajo), como en el total de los sujetos (Tabla 26) se observó dicha asociación. Por el contrario, el HGF mostró una relación positiva con el MCP1 tanto en los CER como en el total, así como con PCR e IL-6 en el total de los niños. En los niños puberales obesos se ha descrito una relación positiva entre los niveles de HGF y los de PCR (Jung et al, 2009), sin embargo, el resto de las asociaciones nombradas anteriormente no están descritas previamente. Se ha publicado un trabajo que afirma que el HGF estimula la secreción de la IL-8, aunque no lo hace de forma directa (Unger et al, 2011). En este trabajo se observó una asociación entre los niveles plasmáticos de HGF y los de IL-8 en el total de los niños estudiados. Por otro lado, los factores de crecimiento aumentan la síntesis del PAI1t (Trayhurn et al, 2004). De hecho, en el total de los sujetos participantes en este estudio, el PAI1t se correlacionó positivamente con el HGF (Tabla 26). Estos resultados podrían indicar la implicación de este factor de crecimiento en las diferentes rutas inflamatorias en las que intervienen las otras citoquinas.

- Factor de crecimiento neural

En el CIR se produce un balance reducido de aporte y consumo de oxígeno en los distintos tejidos. Esta hipoxia crónica es la responsable de la redistribución del flujo sanguíneo fetal a los órganos cardinales (como el cerebro y el corazón). La familia de neurotrofinas, dentro de la cual se encuentra el NGF, se encargan de la neuroprotección, por lo que son críticas para el desarrollo del cerebro tanto prenatal como postnatalmente (Malamitsi-Puchner et al, 2006; Nikolau et al, 2006). Cabría esperar que si la redistribución se hace de forma adecuada, los neonatos con CIR tendrían los mismos niveles sanguíneos de NGF que los controles sanos, sin embargo, algunos autores observaron que en los fetos CIR (Malamitsi-Puchner et al, 2007), así como en los neonatos con CIR (Malamitsi-Puchner et al, 2006), los niveles de NGF eran menores que en los controles, lo que podría ser debido a que sus niveles se correlacionan con el peso al nacimiento. Además se ha descrito que este factor modula el estado inflamatorio (Ryan et al 2008), sin embargo, en este estudio la concentración plasmática de NGF no mostró diferencias significativas entre los prepúberes con antecedentes de CER y los controles sanos (Tabla 16), lo que podría indicar que en estos niños de riesgo la neuroprotección en su estado postnatal temprano se realizó de forma adecuada. Algunos autores han defendido que los niveles plasmáticos de NGF se aumentan en patologías cardiometabólicas como aterosclerosis, obesidad, diabetes tipo 2 y SM (Chaldakov et al, 2011).

En el total de los niños prepuberales estudiados, el NGF se asoció negativamente con la TAS (Tabla 20). En los niños con antecedentes de CER, los niveles plasmáticos de NGF también se asociaron fuertemente con los de glucosa (Tabla 22). Algunos autores defienden que el NGF interviene en el metabolismo lipídico y de la glucosa (Chaldakov, 2011). En relación con su síntesis, su principal estimulador es el TNF α (Trayhurn et al, 2004; Wang et al, 2005; Bell et al, 2006). De hecho, en el total de sujetos estudiados en este trabajo se observó dicha asociación (Tabla 26). La correlación más fuerte observada para este biomarcador tanto en los niños con antecedentes de CER como en el total de los sujetos estudiados fue con la IL-1 β , este hecho no ha sido descrito en la literatura. Los factores de crecimiento aumentan la síntesis del PAI1t (Trayhurn et al, 2004). De hecho, en el total de los sujetos participantes en este estudio, el PAI1t se correlacionó positivamente con el NGF (Tabla 26).

V.5.2.4) Marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1

El MCP1 es el principal responsable de la infiltración macrofágica en el tejido adiposo, participando además en la aterosclerosis atrayendo y reteniendo a los macrófagos en las placas ateromatosas, favoreciendo la hiperplasia de la intima, la vasculogénesis así como la generación de trombina (Charo et al, 2004). En los neonatos prematuros se han observado niveles significativamente más elevados de este marcador que en los nacidos a término (Matoba et al, 2009; Narendran et al, 2010) y que en los adultos (Narendran et al, 2010). De hecho, en los niños con antecedentes de prematuridad y CER sus niveles plasmáticos se observaron elevados respecto a los controles prepuberales.

Se ha demostrado recientemente que este marcador se expresa en el tejido materno. Su producción se incrementa a lo largo de una gestación normal. En las madres y en los fetos con CIR su concentración esta disminuida, sugiriendo que en la patogénesis del CIR se produce una mala regulación en la producción de MCP1. Por otro lado, en los neonatos CIR sus niveles se encuentran incrementados (Briana et al, 2007), al igual que en los niños con antecedentes de CER.

Aunque en la bibliografía se ha descrito que este biomarcador se relaciona con la HTA, SM y RI (Kanda et al, 2006; Kim et al, 2011), en los niños prepuberales con antecedentes de CER no se han observado estas asociaciones. También se ha relacionado la elevación plasmática del MCP1 con la inflamación de bajo grado (Kim et al, 2011). Esta molécula puede intervenir por diferentes mecanismos, ya que por un lado favorece la excreción hepática de PCR y a nivel de tejido adiposo estimula los macrófagos maduros para que tengan actividad proinflamatoria (Kim et al, 2006; Oda, 2008) segregando TNF α , IL-6 e IL-1 β (Lumeng et al, 2007; Marcos-Gómez et al 2008). De hecho, en los niños prepúberes con antecedentes de CER se observaron mayores niveles de MCP1 que en los controles sanos, por lo que este biomarcador tiene un papel en la patogénesis de la inflamación de bajo grado característica de estos sujetos. Tanto en el total de los niños estudiados, como en el grupo de prepúberes con antecedentes de CER se observó una asociación entre el MCP1 con la IL-8, HGF, TNF α y PAI1t (Tabla 26, Figura 37 arriba). Sin embargo, con la PCR, IL-6 e IL-1 β no se encontró ninguna asociación aunque si descritas en otros trabajos publicados. Por el contrario, las

correlaciones observadas entre el MCP1 con la IL-8, HGF y PAI1t es la primera vez que se describen en la literatura.

V.5.2.5) Factor de necrosis tumoral alfa

Su síntesis es mayor en el tejido adiposo visceral comparado con el subcutáneo (Chudek et al, 2006; Berg et al, 2007). Los niveles plasmáticos de TNF α se encuentran elevados en pacientes obesos (Goyenchea et al, 2005;). Sin embargo, algunos autores no han observado en niños puberales obesos mayores concentraciones frente a los controles (Wärnberg et al, 2004; Aygun et al, 2005). Por lo que no esta tan clara que la producción de TNF α en los niños siga la pauta de los adultos (Wärnberg et al, 2004).

La elevación plasmática de TNF α puede originar inflamación sistémica de bajo grado, lo que podría incrementar también el riesgo de patología coronaria (Panagiotakos et al, 2005), ya que interviene de forma predominante en las diversas cascadas de la inflamación (Codoñer-Franch et al 2011). De hecho, aunque no se han encontrado trabajos que estudien este biomarcador en los niños y neonatos con antecedentes de CER, en este estudio se observó que las concentraciones plasmáticas de TNF α son mayores en los prepúberes con dichos antecedentes en comparación con controles sanos. Por ello, los niños con antecedentes de CER presentan inflamación de bajo grado en esta etapa de la vida, lo que podría aumentar el riesgo de patología metabólica en etapas posteriores.

En los modelos de hipoxia se ha detectado una respuesta inflamatoria. Como el CIR podría considerarse un modelo humano de hipoxia fetal crónica, estos neonatos presentan un aumento del estado inflamatorio. De hecho, se han observado elevaciones significativas de TNF α en la sangre de cordón de los RN con CIR respecto a los RN control (Mericq et al, 2006; Amarilyo et al, 2011). Sin embargo, otros autores los han encontrado disminuidos (Briana et al, 2008), al igual que en los niños prepuberales con RI que fueron CIR (Jefferies et al, 2004). Por lo que, aunque algunos resultados sean contradictorios si parece que este biomarcador tiene un importante papel en la patogénesis del CIR (Briana et al, 2008). Por lo que el TNF α en los niños con CER también podría tener su papel, fundamentalmente en la inflamación de bajo grado que

se observa. Los prematuros presentan niveles plasmáticos de TNF α disminuidos respecto a los adultos (Narendran et al, 2010), y aumentados respecto a los RN a término (Matoba et al, 2009; Neta et al, 2010).

El TNF α afecta negativamente a la RI (Fargnili et al, 2010). De hecho, en la obesidad, la delección genética del TNF α o de su receptor disminuye la RI (Charo et al, 2006). La secreción de TNF α por parte del tejido adiposo es más elevada cuanto mayor es el IMC (Berg et al, 2005). En este trabajo se ha observado una relación positiva con la TA (Tabla 20, figura 32 derecha) ya que este factor es un potente regulador de la TA (Trayhurn et al, 2004) así como con el HDLc (Figura 33), como describen Galcheva y colaboradores (2011) en niños prepuberales con obesidad abdominal y en adolescentes tanto normopeso como obesos (Rubin DA et al, 2011). Aunque algunos autores han defendido que la glucosa se relaciona positivamente con el TNF α (Wu et al, 2006), en este trabajo la asociación observada fue negativa. En relación con el resto de los biomarcadores de inflamación se ha descrito que el TNF α induce la expresión de IL-6 tanto en el tejido adiposo como en otras células (Goyenchea et al, 2005; Kobashi et al 2009), y que ambos parámetros se encuentran aumentados en la obesidad, inflamación, disfunción endotelial, coagulopatía y ECV (Kim et al, 2006).

El TNF α ejerce una regulación positiva sobre el MCP1, favoreciendo la infiltración macrofágica en el tejido adiposo (Lee et al, 2007 b). Esta asociación también se ha descrito en los niños con antecedentes de CER y en el total de los prepúberes estudiados. El TNF α , induce la producción hepática de PCR (Trayhurn et al, 2004; Palomo et al, 2006; Wärnberg et al, 2006) y la secreción de otras citoquinas proinflamatorias como IL-8 (Kobashi et al, 2009), IL-1 β , PAI1t, MCP1, NGF (Trayhurn et al, 2004; Berg et al, 2005; Lee et al, 2007 a), y HGF (Lee et al, 2007 a; Vogel et al, 2010). De hecho, tanto en los niños prepuberales con antecedentes de CER como en el total de los participantes se observó una correlación positiva del TNF α con la PCR, la IL-8 y con el HGF (Tabla 26, figura 37 abajo). Además, el total de la serie mostró una asociación entre este factor y el NGF, tal y como describen otros autores.

V.5.2.6) Inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total

El tejido adiposo visceral segrega más PAI1t que el subcutáneo debido a la mayor infiltración macrofágica de este, que contribuye a dicha secreción (Kershaw et al, 2004; Valle et al, 2005; Chudek et al, 2006; Berg et al, 2007). En diferentes estados metabólicos se han descrito aumentos de PAI1t (Huber, 2001; Berg et al, 2005; Boutsikou et al, 2010), como en la obesidad y en el SM. El PAI1t secretado por las células vasculares contribuye a la formación de trombos, promoviendo el proceso de remodelación vascular, mientras que el PAI1t que se produce en el tejido adiposo y en los macrófagos infiltrantes contribuye a la obesidad, a la inflamación y a la RI. Aunque no se han encontrado trabajos publicados de este biomarcador en relación con el CER, se conoce que sus niveles plasmáticos están involucrados en el estrés fisiológico perinatal (Boutsikou et al, 2010).

En la condición de ser CIR dos trabajos revisados valoran este marcador en los neonatos, y afirman que no existen diferencias significativas en estos neonatos en comparación con los controles (Mitsiakos et al, 2009; Boutsikou et al, 2010). Mientras que otros autores defienden que las concentraciones plasmáticas de este marcador se encuentran aumentadas en los neonatos con CIR (Takaya et al, 2007). Para Boutsikou y colaboradores (2010) los niveles de PAI1t fueron mayores en las madres que en los neonatos CIR. Ya que el tejido adiposo es una fuente importante de PAI1t estos hallazgos se pueden deber a la mayor cantidad de grasa en las madres en comparación con los neonatos. Sin embargo, al comparar los niveles plasmáticos de PAI1t en los neonatos nacidos con CIR respecto a los controles no se observaron diferencias significativas. Lo que podría indicar que la inflamación relacionada con el tejido adiposo es más intensa en los neonatos con CIR ya que a pesar del bajo peso al nacimiento, tienen incrementado el tejido adiposo visceral por lo que se produce mayor secreción de PAI1t. Por ello, en los fetos y neonatos con CIR existe inflamación de bajo grado (Boutsikou et al, 2010). Los niveles plasmáticos de PAI1t están fuertemente asociados al porcentaje de grasa visceral, independientemente de otras variables como la edad y la masa grasa total (Gnacinska et al, 2009).

Por el contrario, algunos autores observaron que en adultos con antecedentes de CIR los niveles plasmáticos de PAI1t estaban incrementados respecto a los controles

con peso al nacimiento adecuado a su EG, independientemente de que los sujetos presentasen SM. Por lo que defendieron que sus datos podrían indicar que sus concentraciones plasmáticas serían un reflejo de los desórdenes metabólicos consecuentes a la alteración del tejido adiposo, de las células endoteliales o a nivel hepático en los sujetos con antecedentes de CIR (Meas et al, 2010 b). En relación con la prematuridad los resultados son controvertidos, ya que algunos autores observaron que los niveles plasmáticos de PAI1t estaban incrementados en los prematuros extremos respecto a los neonatos nacidos a término (Sentilhes et al, 2011), mientras que otros los descubrieron disminuidos en prematuros que además presentaron CIR en la etapa prenatal (Mitsiakos et al, 2010).

En este trabajo se observó que los niños prepuberales con antecedentes de CER no presentaron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de PAI1t respecto a prepúberes sanos (Tabla 16). La explicación de estos hallazgos, podría ser similar a la expuesta por Boutsikou y colaboradores (2010) para los neonatos con CIR. Ya que los niños con antecedentes de CER presentan menor peso e IMC que los controles, por lo tanto menor tejido adiposo, y aún así las concentraciones plasmáticas de este marcador son similares. Por ello, estos niños con antecedentes de CER pueden presentar una alteración cualitativa en los adipocitos, que influiría en la inflamación de bajo grado que presentan.

El PAI1t se relaciona positivamente con el PC, el IMC (Berg et al, 2005; Meas et al, 2010 b) y con la glucemia (Dimitrijevic-Sreckovic et al, 2007), de hecho se expresa en respuesta al incremento crónico de glucosa (Palomo et al, 2006). Al-Daghri y colaboradores (2010) observaron en niños prepúberes una asociación positiva del PAI1t con el colesterol total y con los TG, mientras que otros autores (Meas et al, 2010 b) sólo documentaron la asociación con los niveles de TG en adultos. De hecho, en los niños prepuberales obesos la concentración de este biomarcador se encuentra incrementa respecto a los controles (Mauras et al, 2010). En este estudio, los niños prepuberales con antecedentes de CER mostraron una relación positiva entre el PAI1t y los TG. La insulina es el principal regulador de la síntesis de PAI1t a nivel hepático (Trayhurn et al, 2004) y en el tejido adiposo visceral (Valle et al, 2002). Sus niveles se correlacionan positivamente con el SM y son considerados como un factor predictor de diabetes tipo 2 y de ECV (Gnacinska et al, 2009; Meas et al, 2010 b). Se correlaciona

positivamente con el índice HOMA (Meas et al, 2010 b). También se ha asociado a la HTA, fundamentalmente a la TAS (Dimitrijevic-Sreckovic et al, 2007). Sin embargo, en los niños prepúberes con antecedentes de CER sólo se observó una asociación inversa con la glucosa (Tabla 22).

Por otro lado, en relación con el resto de biomarcadores de inflamación, se conoce que el PAI1t es expresado en respuesta al incremento de $TNF\alpha$ y PCR (Huber 2001; Trayhurn et al, 2004; Valle et al, 2005; Palomo et al, 2006), así como al de IL-1 β (Trayhurn et al, 2004; Lee et al, 2007 a) e IL-6 (Chudek et al, 2006; Lee et al, 2007 a). De igual forma se correlacionan los niveles plasmáticos de PAI1t con los de IL-8 y MCP1 (Lee et al, 2007 b). En este trabajo, tanto en el total de los niños estudiados como en los prepúberes con antecedentes de CER, se observó una relación positiva entre el PAI1t con IL-6, la IL-8 y con el MCP1 (Tabla 26). Los factores de crecimiento también aumentan su síntesis (Trayhurn et al, 2004; Lee et al, 2007 a). De hecho, en el total de los sujetos estudiados el PAI1t también se correlacionó con el HGF y con el NGF (Tabla 26).

V.6) VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN NIÑOS PREPUBERALES CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

V.6.1) La enfermedad cardiovascular

En las últimas dos décadas la mejora de la supervivencia de los RN con muy bajo peso al nacimiento ha desencadenado el problema del fallo del crecimiento extrauterino, ya que a pesar de las mejoras en el manejo de estos neonatos durante la estancia hospitalaria, muchos de ellos experimentan CER. Muchos factores son responsables en gran parte de esta condición; frecuentes patologías que padecen estos neonatos, terapias médicas y quirúrgicas, intolerancia alimentaria y fundamentalmente, a una inadecuada alimentación. Otros factores, como la genética, el ambiente prenatal, las hormonas y el metabolismo también contribuyen a este proceso, que va a persistir incluso en la etapa adulta. De hecho aparecen consecuencias metabólicas y cardiovasculares a largo plazo (Fanaro et al, 2010), ya que algunos autores han señalado que los niños CER pueden presentar en la infancia un estado endocrino y metabólico alterado, además de sensibilidad a insulina y alteraciones en la TA (Wit et al, 2006) y SM (Backer et al, 2007).

Existe la posibilidad de que en los RN pretérmino la desnutrición en el periodo postnatal influya en la programación metabólica (Hofman et al, 2004). Los estudios muestran que la vida postnatal temprana afecta al comportamiento alimentario, la ingesta y la energía posteriormente en la vida, sugiriendo que no sólo existe un vínculo entre el crecimiento fetal y la patología en etapas posteriores, sino también entre el crecimiento del neonato y el riesgo de enfermedades metabólicas en la etapa adulta, aunque en la actualidad se desconoce la incidencia de la enfermedad metabólica en los adultos que nacieron prematuros (Savino et al, 2010) y que presentaron antecedentes de CER. De hecho, aunque algunos autores han defendido que estos antecedentes incrementan el riesgo de ECV, no existen trabajos publicados que lo valoren, ni en la etapa adulta ni en la infancia, por lo que nuestro trabajo es el primero que lo describe en los prepúberes con antecedentes de CER ya que se han observado marcadores de patología cardiovascular alterados en estos niños, lo que no se había estudiado

previamente. De hecho, en los CER podrían aparecer alteraciones metabólicas a largo plazo que estarían relacionadas con la nutrición y el desarrollo neonatal.

Los tres factores más influyentes en el futuro de riesgo de ECV en la infancia son el crecimiento prenatal, el crecimiento postnatal temprano y la obesidad infantil (Masi et al, 2011). En los últimos años se ha aceptado que el ambiente intrauterino y la exposición postnatal temprana (fundamentalmente la nutrición) son determinantes importantes de riesgo de ECV y de patologías relacionadas como SM, diabetes tipo 2, HTA y dislipidemia (Singhal et al, 2003; Singhal et al, 2004 b; Hofman et al, 2004; Gortner, 2007), ya que pueden intervenir en la programación metabólica. No obstante, aún no existen evidencias suficientes del efecto a largo plazo de la nutrición agresiva sobre la programación en distintos sistemas (Maiorana et al, 2007). Se sabe que los niños con períodos críticos en el crecimiento, tanto prenatal, como postnatal tienen mayor riesgo de enfermedades (Briana et al, 2008). Por ello, los eventos metabólicos de la vida temprana no se restringen al CIR, sino que también pueden ocurrir en la vida extrauterina temprana. Los sujetos con malnutrición durante el primer año de vida son más susceptibles a padecer efectos metabólicos adversos derivados del incremento de la masa grasa, aun presentan IMC normales (González-Barranco et al, 2003). Pocos estudios han relacionado el peso del primer año de vida y las anomalías metabólicas posteriores (González-Barranco et al, 2004). Estos trabajos confirman nuestros hallazgos, ya que los niños con antecedentes de CER presentan mayor riesgo de SM así como de sus componentes y de ECV ya en la etapa prepuberal, incluso con un IMC normal, lo que indicaría que la sobrealimentación postnatal origina una programación para los cambios cualitativos del adipocito, lo que estará relacionado con patología metabólica y cardiovascular en etapas posteriores.

En relación con el CIR, diversos trabajos publicados lo han relacionado con patologías a largo plazo, como ECV, RI, aterosclerosis, diabetes tipo 2 y dislipidemia (González-Barranco et al, 2003; Maiorana et al, 2007; Saenger et al, 2007; Nobili et al, 2008; Bie et al, 2010; Salonen et al, 2011). De hecho, las complicaciones metabólicas y cardiovasculares posteriores están asociadas con la baja nutrición intraútero, ya que el crecimiento fetal reducido, esta independientemente asociado con el incremento del riesgo de ECV, HTA, dislipidemia, RI y diabetes tipo 2 (Meas, 2010 a). Ya que la programación fetal de estos niños incluye un mayor riesgo de ECV y de patología

metabólica (Meas, 2010 a; Rogers et al, 2011; Dalfrá et al, 2011). Sin embargo, aun no esta clara la relación entre el mecanismo genético y las adaptaciones fetales al estrés con el desarrollo de patologías en etapas posteriores de la vida, como el riesgo incrementado de ECV, aunque se conoce que interviene la desregulación de distintas rutas metabólicas (Levy Marchal et al 2006; Antua-Puente et al, 2008; Varvarigou, 2010). Otro posible mecanismo sería la programación del sistema inmune innato (Pellanda et al, 2009). Aunque los mecanismos son inciertos, el tejido adiposo juega un papel activo. El periodo de malnutrición fetal continúa con el catch up y con la renutrición, lo que induce numerosos cambios en el tejido adiposo, con consecuencias a largo plazo. No todos los CIR presentarán en el futuro modificaciones en el tejido adiposo, por lo que tanto el ambiente fetal, como la susceptibilidad genética y sus interacciones influirán en el desarrollo (Lévy-Marchal et al, 2006). Tanto los pequeños como los grandes para su EG experimentan cambios metabólicos para adaptarse a las alteraciones patofisiológicas de la vida intrauterina (Chiavarili et al, 2009).

El CIR es un factor de riesgo para la ECV (Hoffman et al, 2004; Lévy-Marchal et al, 2006; Backer et al, 2007; Varvarigou, 2010). Se ha observado una relación inversa entre el peso al nacimiento y el riesgo de ECV, diabetes tipo 2 y de SM en la edad adulta (Levitt et al, 2000; Chiavarri et al, 2009; Meas et al, 2010 b). Parece que están relacionados con una mayor incidencia de riesgo de ECV en etapas posteriores, no sólo el peso al nacimiento, sino también el alcanzar el catch up de crecimiento rápidamente (Torre et al, 2008; Varvarigou, 2010; Fabricius-Bjerre et al, 2011). Los RN mejor alimentados crecen más en la etapa perinatal, pueden presentar en etapas posteriores mayor cantidad de tejido adiposo, obesidad, RI, intolerancia a glucosa y diabetes tipo 2 (Hay et al, 2008). En estos niños, el ambiente genético, la susceptibilidad genética o ambas, así como los cambios dinámicos, cuali y cuantitativos en el tejido adiposo que ocurren mientras se alcanza el catch up de crecimiento, sugieren el papel clave de este órgano en el desarrollo de complicaciones metabólicas (Meas, et al, 2010 b). Los niños que alcanzaron el catch up de crecimiento entre el nacimiento y los 2 años presentaron más tejido adiposo y de distribución más central a los 5 años que el resto de la serie estudiada. Por ello, el incremento de la ingesta nutricional hasta alcanzar el catch up es beneficiosa para el desarrollo cerebral, pero perjudicial para el riesgo de ECV (Sauer et al, 2007).

La ganancia rápida de peso en las primeras semanas o los primeros meses de vida puede tener implicaciones antropométricas, metabólicas y cardiovasculares a largo plazo (Saenger et al, 2007; Torres et al, 2008), por lo que el incremento de la nutrición temprana afecta al aumento del riesgo de ECV, e incluso podría programarlo (Singhal et al, 2001). En niños con antecedentes de prematuridad se han descrito alteraciones en el endotelio, que se han relacionado con el aporte nutricional durante el periodo neonatal (Singhal et al, 2003; Singhal et al, 2004 a). Éstos pueden condicionar cambios en el tejido adiposo y la reprogramación de las rutas metabólicas, posibilitando la aparición de alteraciones en etapas tempranas de la vida (Meas, 2010 a). En los prematuros, la no sobrealimentación puede tener efectos beneficiosos en etapas posteriores de la vida. Se ha visto que los pretérmino alimentados con leche materna exclusivamente (que en el momento actual se considera insuficiente para alcanzar el crecimiento óptimo) presentan menores valores de TA en la pubertad que los que reciben fórmulas adaptadas presentan menor RI, menor concentración de PCR y mejor relación LDLc y HDLc; por lo que los adolescentes que nacieron prematuros alimentados únicamente con leche materna tienen mejor salud vascular (Sauer, 2007).

Se ha asociado la prematuridad con alteraciones de la insulina, mayores niveles de TA o alteraciones en el endotelio que se han relacionado con el aporte nutricional durante el periodo neonatal (Singhal et al, 2003; Singhal et al, 2004 b). Por ello, los prepúberes con antecedentes de prematuridad y CER, al ser sobrealimentados con el fin de alcanzar el catch up de crecimiento lo antes posible presentarán un riesgo incrementado de ECV en etapas posteriores, que ya se observa en la infancia. Parece que los hallazgos en los CIR y pretérminos también podrían ocurrir en los RN a término, por lo que la estimulación del crecimiento en la infancia se asociaría al incremento del riesgo de ECV (Singhal et al, 2007).

En la actualidad, el EO se ha propuesto como el nexo de unión entre la programación fetal y la enfermedad en etapas posteriores de la vida, como la ECV (Luo et al, 2006). Como se ha comentado en otros apartados de este trabajo, la teoría clásica de la asociación entre el crecimiento temprano y el posterior riesgo de patología se debe a Barker (2004). Es la llamada teoría del “thrifty phenotype” o del “fenotipo económico” (Hales et al, 2001; Dalfrá et al, 2011). Esta hipótesis sugiere que la malnutrición fetal puede inducir adaptaciones metabólicas o fisiológicas para facilitar la

nutrición de los órganos más vitales (como el cerebro y el corazón). Estas adaptaciones, si se realizan en periodos críticos del desarrollo pueden hacerse permanentes o programar el sistema metabólico, aumentando así las opciones del feto de sobrevivir en este ambiente pobre en nutrientes. Aunque también presentarán consecuencias negativas, ya que en etapas posteriores con abundancia de alimentos reaccionará mal.

El incremento en la prevalencia del SM con el aumento del peso al nacimiento hizo que surgiese otra teoría, la del “crecimiento acelerado” (“accelerated growth”) de Singhal y colaboradores (Singhal et al, 2004 a), para intentar explicar la asociación entre el rápido crecimiento postnatal en los pretérmino y el mayor riesgo de SM en etapas posteriores. El rápido crecimiento postnatal puede programar la mayoría de los componentes del SM y consecuentemente la predisposición a diabetes tipo 2 y a ECV. Esta hipótesis enfatiza el papel de la nutrición postnatal temprana en la programación adversa. Por ello, en el CER, la desnutrición postnatal origina una sobrealimentación en este periodo, que también podría considerarse crítico, lo que explicaría patología en etapas posteriores, que incluso comienzan en la etapa prepuberal. Los hallazgos de este trabajo no han sido descritos en la literatura con anterioridad, por lo que se ha pensado que estas teorías observadas en el periodo prenatal, también pueden aplicarse al periodo postnatal temprano, ya que los parámetros analizados en este estudio se comportan muy similarmente a los descritos en el CIR, por lo que metabólicamente podrían ser similares las dos condiciones patológicas de crecimiento retrasado.

Se describió una hipótesis similar llamada “teoría del catch up” (“catch up growth”) de Cianfarani y colaboradores (1999). Según esta teoría, existe una normalización en la insulina y en los factores de crecimiento en los tres primeros meses de vida postnatal, que coincide con el rápido catch up en los neonatos con mal crecimiento. Por ello en los CIR, y en base a nuestros resultados también en los CER, puede haber un incremento de la RI y otros desórdenes asociados en etapas posteriores. Estas últimas teorías indican que la mejora del crecimiento en estos niños con dietas enriquecidas puede hacer más daño que ser beneficiosa a largo plazo, y que sería preferible que los neonatos de bajo peso alcancen el catch up de forma más lenta. Además las consecuencias y mecanismos de un crecimiento acelerado secundario a la condición de ser pretérmino o de ser CIR pueden no ser las mismas (Shinghal et al, 2004 a). Por lo que aunque parece que las mismas teorías pueden ser aplicables a los

CER, a nivel metabólico las consecuencias pueden ser diferentes. De hecho, en la etapa prepuberal de los niños con antecedentes de CER, no se han observado siempre los mismos comportamientos de los parámetros y biomarcadores analizados que los descritos en la bibliografía para los CIR y los prematuros.

Por ello el EO puede acompañar a muchos factores genéticos, nutricionales y ambientales, que se asocian con un mayor riesgo de prematuridad y CIR. La programación del EO puede actuar directamente mediante la modulación de la expresión génica o indirectamente a través de los efectos adversos de la oxidación lipídica u otras moléculas en momentos críticos del desarrollo, y por tanto programando la susceptibilidad al SM y a otras patologías, como la ECV. La placenta sirve como barrera a los RL y mantiene la homeostasis del ambiente fetal, por lo que los prematuros pueden ser más susceptibles de programación en la vida postnatal temprana que los CIR. Por ello, los neonatos prematuros con CER son susceptibles a estos mecanismos, con consecuencias a largo plazo, como la ECV. El aumento del riesgo de SM, diabetes tipo 2 y de ECV entre los niños CIR y los prematuros, que son los 2 grupos que más frecuentemente se asocian con un riesgo incrementado en estas patologías, se puede explicar con la “hipótesis del EO” (Luo et al, 2006), incluso en la condición de ser CER podría aplicarse la misma. El rápido alcance del catch up postnatal así como el crecimiento acelerado de los CIR y prematuros implica un mayor consumo y oxidación de los nutrientes, por ello la mitocondria produce mayor cantidad de RL y su SDA es inmaduro; por lo que puede existir una programación en este momento del crecimiento postnatal temprano. La teoría del EO ofrece una explicación a la asociación entre la epidemiología y el crecimiento fetal alterado de los CIR y pretérmino con el incremento del SM, de la diabetes tipo 2 y de la ECV en la etapa adulta (Luo et al, 2006), por lo que también podría tener un papel en el CER, aunque no se ha descrito previamente.

Metabólicamente, los niños y adolescentes obesos presentan mayor predisposición para la enfermedad en la etapa adulta, ya que factores como la dislipidemia, HTA, hiperinsulinemia y obesidad coexisten ya en estas etapas (Wärnberg et al, 2004). De hecho, la obesidad abdominal se relaciona mejor con las alteraciones inflamatorias y metabólicas (Galcheva et al, 2011).

La elevación del IMC se asocia positivamente con la incidencia de enfermedad cardiaca, fundamentalmente por sus efectos sobre la prevalencia de HTA, dislipidemia, hiperinsulinemia y diabetes tipo 2 en sujetos obesos (Panagiotakos et al, 2005). En los prepúberes con antecedentes de CER se observó también una relación positiva entre el IMC con los TG, insulina e índice HOMA (Tabla 19), lo que estaría relacionado con que ninguno de ellos se encontrase elevado en estos niños, posiblemente debido a la corta edad de los sujetos estudiados.

Los biomarcadores analizados en este trabajo se han relacionado con el incremento del riesgo de ECV, tanto los de inflamación y adipoquinas (Wu et al, 2006) como los de EO (Wu et al, 2009). Por ello, el tejido adiposo, la inflamación, el EO y la ECV están relacionadas entre sí y presentes en la condición de ser CER. La hipoadiponectinemia junto con el incremento de la PCR, como suceden en este trabajo, se sinergian, y se asocian con el aumento de anormalidades metabólicas, más que cada una de ellas por separado (Hirose et al, 2009). La distribución de la grasa expresa diferentes situaciones metabólicas en función de su localización en el organismo (Wärnberg et al, 2006). La dislipidemia y la hiperglucemia pueden generar la producción de alguna citoquina proinflamatoria, como IL-6, TNF α y MCP1 (Fantuzzi, 2005), probablemente relacionadas con el daño endotelial producido por el incremento de EROs (Sacheck, 2008). Además el EO esta involucrado en la aterosclerosis, disfunción endotelial y diabetes y se puede considerar como un componente de la ECV y del SM. El aumento del EO puede originar en los adipocitos una disregulación en la producción de adipoquinas (como leptina, adiponectina, PAI1t y MCP1), originando daño metabólico (Wu et al, 2009). Los cambios en el sistema vascular asociados al inicio de la aterosclerosis pueden presentarse en la infancia, influenciados por los factores de riesgo cardiovascular, y por las alteraciones asociadas al SM. Entre ellos pueden verse implicadas algunas citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF α y MCP1 (Skilton et al, 2006; Sacheck, 2008).

Valoración nutricional y del ejercicio físico

La dieta y el estilo de vida en la infancia y adolescencia tienen efectos potenciales a largo plazo para el riesgo de numerosas patologías, como la obesidad, HTA, diabetes tipo 2 y ECV, aunque se pueden observar en etapas anteriores a la pubertad. La infancia

y la adolescencia son considerados los periodos críticos en los que se debe inculcar una alimentación saludable en lugar de dietas ricas en grasa, azúcares y carne roja, ya que estas contribuyen al aumento de ingesta energética, y por tanto a un mayor riesgo de patología (Gharib et al, 2011).

Los métodos de medida de la ingesta de alimentos no están estandarizados en el momento actual, con frecuencia los datos aportados son inseguros. Especialmente si se quieren analizar grupos especiales de edad, como el caso de los niños. Los datos publicados sobre consumo alimentario suelen ser incompletos y basados en encuestas nutricionales (Carrillo et al, 2011). En muchos trabajos publicados se han realizado, al igual que en este estudio, encuestas normalizadas de frecuencia de consumo para evaluar los hábitos nutricionales (Panagiotakos et al, 2005).

Actualmente la oferta y disponibilidad de alimentos ha aumentado, con un predominio de los alimentos procesados y preparados, en detrimento de productos tradicionales y frescos, lo cual condiciona una modificación de las fuentes dietéticas, fundamentalmente de grasa. Los lugares de venta también han proliferado así como la oferta de servicios de restauración colectiva. Los estilos de vida actuales en España y en el resto de Europa fomentan el incremento de patologías crónicas. En relación con las grasas, se ha observado que su relación con la salud no depende tanto de su cantidad, sino de su calidad, es decir del tipo de ácido graso predominante en la dieta (Carrillo et al, 2011).

En la actualidad, el consumo de fibra suele ser bajo y por el contrario hay un aumento en el porcentaje de hidratos de carbono, en grasas saturadas y en la ingesta de colesterol (Gharib et al, 2011). En los niños españoles el consumo de grasa suele ser mayor que el de las recomendaciones, así como el de AGS (Carrillo et al, 2011). Las modificaciones dietéticas como el incremento de los antioxidantes exógenos y los ácidos grasos $\omega 3$ pueden independientemente modificar la inflamación asociada al exceso de adiposidad (Sacheck et al, 2008). La composición de la dieta en macronutrientes e ingesta energética de los niños con antecedentes de CER es similar a la de los prepúberes españoles y de otros países, aunque no se cumplan adecuadamente las recomendaciones. Ya que aunque la ingesta energética y el porcentaje de hidratos es

adecuado, el consumo de fibra, AGPI y AGMI es inferior a las recomendaciones, mientras que el de lípidos, AGS y proteínas es superior (Tabla 12).

En relación con la composición de la dieta por raciones, un alto porcentaje de la población española realiza una ingesta inadecuada al menos de un nutriente, y en torno al 50% debería mejorar la composición nutricional de la dieta (Carrillo et al, 2011). En niños, los hábitos alimenticios actuales se caracterizan por una baja ingesta de frutas, vegetales, leche (Gharib et al, 2011). En España, se alejan del tradicional patrón mediterráneo, con un alto consumo de proteínas animales procedentes de la carne, pescado, leche y otros lácteos así como de alimentos procesados. Mientras que la ingesta de cereales integrales, patatas, frutas y verduras suele estar disminuida. El consumo de aceite de oliva, alimento clave para la cultura mediterránea y protector de riesgo cardiovascular, es menor mientras que se incrementan otros aceites vegetales (Carrillo et al, 2011). Por el contrario, en la infancia los azúcares están aumentados, así como las comidas con calorías vacías (Gharib et al, 2011). En los prepúberes con antecedentes de CER, aunque su dieta no se adapta completamente a las recomendaciones ya que sólo toman las cantidades diarias recomendadas del grupo de alimentos patatas, arroz, pan y pasta, y las cantidades semanales adecuadas de los grupos de pescados y legumbres, no se observan grandes diferencias con otros niños de su misma edad. De hecho, la ingesta de lácteos y de carnes está aumentada. Además, se observó una mayor ingesta de dulces, bollería industrial y snacks, mientras que tomaban menor cantidad de verduras y hortalizas, frutas y aceite de oliva (Tabla 13).

La actividad física se ha relacionado con el riesgo de ECV de forma inversa (Salonen et al, 2011). Presenta efectos beneficiosos para la ECV incluso en la infancia (Andersen et al, 2011). Recientemente la OMS ha actualizado las recomendaciones, ya que la ha elevado a 60 minutos al día. El fin de esta actualización es la mejora del riesgo de ECV desde la infancia, ya que en los niños el ejercicio físico se relaciona con el descenso de la TA, con la sensibilidad a la insulina y con un mejor perfil lipídico (Andersen et al, 2011). Por otro lado, el incremento de la actividad física puede modificar la inflamación asociada al exceso de adiposidad (Sacheck et al, 2008). De hecho, en los niños prepuberales la actividad física se asocia con una disminución de la inflamación de bajo grado, ya que algunos de sus biomarcadores, como la PCR se reducen con el ejercicio (Ruiz et al, 2007; Andersen et al, 2011) y también las

adipoquinas se relacionan con el mismo (Papaioannou et al, 2011). Los niños prepuberales con antecedentes de CER participantes en este trabajo no realizaron el ejercicio físico recomendado, por lo que estos malos hábitos de vida contribuyen al aumento del riesgo de ECV en etapas posteriores, y coincide con los resultados obtenidos en los distintos parámetros analizados.

V.6.2) El síndrome metabólico y sus componentes

V.6.2.1) Generalidades del síndrome metabólico

El SM puede observarse en la infancia y adolescencia (Wärnberg et al, 2004; Boney et al, 2006). La ausencia de consenso respecto a su diagnóstico se acentúa en la infancia, debido a que es una etapa de continuos cambios corporales a lo que se asocia los diferentes valores de referencia utilizados en los criterios para definir el propio síndrome (Brambilla et al, 2007). La definición más aceptada para los niños es la de la IDF, en la que además de obesidad abdominal el riesgo de SM incluye dos de los siguientes componentes; la elevación de la TA, la hipertrigliceridemia, el descenso en el HDLc y el aumento de la glucemia (Agirbasli et al, 2011). Los niños con antecedentes de CER participantes en este estudio cumplen algunos de los criterios, sin embargo no presentan obesidad abdominal, ya que su PC y su IMC eran normales, ni aumento de TG. Por ello, no presentan SM en la etapa prepupal, pero se debería realizar su seguimiento ya que posiblemente en etapas posteriores lo padezcan.

Hasta la fecha hay muy poco conocimiento del estado metabólico de los neonatos con CIR, aunque se ha observado que presentan un perfil metabólico diferente que los RN con peso adecuado a su EG (Dessi et al, 2011). Algunos autores han afirmado que los CIR tienen 2 o 3 veces más probabilidad de desarrollar SM en la etapa adulta, e incluso que el 50% del SM se atribuye a un ambiente intrauterino desfavorable (Sohi et al, 2011), por lo que el CIR se asocia con el SM (Gortner 2007; Neitzke et al, 2011; Dorn et al, 2011) incluso en la etapa prepupal, ya que los niños con estos antecedentes muestran cambios metabólicos, que se expresan con el aumento de marcadores de riesgo de SM en la infancia (Krochik et al, 2011). Por ello, en el útero puede programarse este síndrome o sus componentes (Fowden et al, 2005). La

prematuridad también se asocia con el aumento del riesgo de SM en etapas posteriores de la vida (Luo et al, 2010). Aunque hay un gran desconocimiento de los efectos a largo plazo del SM y las comorbilidades asociadas, en relación con niños prematuros con crecimiento retrasado. (Nobili et al, 2008). El rápido crecimiento postnatal se ha relacionado con la programación de el SM en la etapa adulta (Gortner 2007; Myrie et al, 2011), por ello los niños que padecieron CER en la etapa neonatal pueden desarrollarlo posteriormente. De hecho, tanto el bajo peso al nacimiento (Meas, et al, 2010 a) como el alcance del catch up se correlacionan con muchos aspectos posteriores del síndrome (Nobili et al, 2008). El riesgo de desarrollar SM en la etapa adulta es mayor cuando el escaso crecimiento postnatal se combate con la sobrealimentación para alcanzar el catch up rápidamente (Briana et al, 2008). Los niños con antecedentes de CER, al ser alimentados en exceso para paliar el escaso crecimiento de la etapa neonatal temprana, pueden programar el SM y desarrollarlo en etapas posteriores. Sin embargo, aunque en la mayoría de los trabajos publicados se ha relacionado el CIR con la ECV y con el SM, algunos autores observaron que en los adultos con antecedentes de CIR, esta condición no se asoció al SM (Euser et al, 2010).

El SM y sus componentes, como se ha comentado en los distintos apartados de este trabajo, se asocian con la elevación del índice HOMA e hiperuricemia (Beydoun et al, 2011) así como con muchos marcadores inflamatorios. La elevación de la PCR de forma leve, se relaciona con el riesgo de ECV y de SM (Wärnberg et al, 2004; Beydoun et al, 2011). En los niños CIR y prematuros la falta de un tejido adiposo adecuado se asocia con cambios en las adipocinas y en las citoquinas, lo que contribuye, además de a una mayor inflamación, al aumento de algunos de los componentes del SM (Martos-Moreno et al, 2009). De hecho, el aumento de adiposidad en el desarrollo temprano aparece concomitante con los precursores de diabetes tipo 2 y de SM (Bennett et al, 2011). En los niños prepuberales la aparición del SM se relaciona con el desarrollo de diabetes tipo 2 y de ECV (Valle et al, 2007). La alteración del perfil de adipocinas también se ha relacionado con el SM (Kyriakakou et al, 2008). De hecho, las bajas concentraciones plasmáticas de adiponectina están presentes en todos sus componentes (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

El ácido úrico

Algunos autores consideran que los niveles séricos de ácido úrico son un parámetro emergente del SM, ya que el incremento de sus niveles se asocia con este síndrome (Rho et al, 2008; Li et al, 2011). De hecho, en prepúberes obesos el ácido úrico se encuentra incrementado, actuando como un marcador precoz de alteraciones metabólicas (Gil-Campos et al, 2009). Sin embargo, en los niños prepuberales con antecedentes de CIR no se han observado diferencias significativas en su concentración respecto a los controles sanos (Krochik et al, 2011), al igual que en este trabajo con los niños CER (Tabla 14). Es el primer trabajo que valora el ácido úrico en niños con antecedentes de CER.

Los niveles de ácido úrico se correlacionan con los parámetros antropométricos como el IMC (Gil-Campos et al, 2009; Li et al, 2011). En los niños con antecedentes de CER también se observó dicha asociación positiva (Tabla 19), lo que podría estar relacionado con que ninguno de estos parámetros se encontrase incrementado en estos niños. Por otro lado, la hiperuricemia incrementa la producción de EROs (Peracoli et al, 2011), lo que explicaría la asociación negativa encontrada entre este marcador con los antioxidantes catalasa y β caroteno en los niños con antecedentes de CER.

V.6.2.2) Componentes del síndrome metabólico

V.6.2.2.1) La resistencia a la insulina

La RI está influenciada por el género, la obesidad y la pubertad, fundamentalmente (Kurtoglou et al, 2010). El mayor riesgo de ECV y de disfunción metabólica en la etapa adulta se atribuye también a una menor sensibilidad a la insulina; incluso en el periodo prepuberal (Mohn et al, 2007). Desde que la hiperinsulinemia se ha propuesto como un precursor de la ECV y de la diabetes tipo 2, los individuos que la padezcan tendrán mayor riesgo de enfermedad crónica en etapas posteriores de la vida (González-Barranco et al, 2003). En el periodo postnatal se puede experimentar un crecimiento muy rápido para alcanzar el crecimiento óptimo, alterando así la composición corporal y aumentando el tejido adiposo visceral, lo que predispone a un mayor riesgo de ECV y

de diabetes tipo 2 en adultos (Varvarigou, 2010). Por ello, los niños prepuberales con antecedentes de CER presentan signos precoces de RI, como la elevación significativa de la glucosa así como la elevación de la insulina y del índice HOMA, aunque sin diferencias respecto a los controles (Tabla 15). Lo que pone de manifiesto que en etapas posteriores tendrán un riesgo incrementado de patología metabólica y cardiovascular.

En los niños prepuberales, la obesidad está relacionada con la RI (Lee et al, 2011; Bennett et al, 2011). Algunos autores defienden que el índice HOMA está significativamente aumentado en los niños obesos, fundamentalmente con obesidad abdominal (Torres et al, 2008; Medina-Bravo et al, 2011), al igual que la concentración sérica de insulina (Galcheva et al, 2011; Medina-Bravo et al, 2011). En la etapa puberal, la rápida ganancia de peso se asocia con la concentración de insulina y con el índice HOMA (Fabricius-Bjerre et al, 2011). El descenso de la masa grasa tiene efectos positivos en los niveles de glucosa (Wu et al, 2009).

Los mecanismos moleculares y celulares de la programación metabólica no están claros, pero se conoce que pueden incluir la programación del eje hipotálamo-hipófisis-glándula suprarrenal así como las rutas de señalización de la insulina (Briana et al, 2008). El ambiente fetal negativo de los CIR también puede programar la tolerancia a la glucosa en etapas posteriores (Varvarigou, 2010), así como el tejido adiposo (Challas et al, 2009). Si la disponibilidad de nutrientes postnatales es mayor que los de la etapa prenatal, se producirá deposición de la grasa en la etapa neonatal, que puede generar RI en la etapa adulta (Briana et al, 2008). En los niños CER, este acumulo de grasa se puede producir por la sobrealimentación a la que son sometidos por su retraso del crecimiento en la etapa postnatal temprana. El desarrollo fetal del páncreas y los déficits en la vía de señalización de la insulina debido al CIR se relacionan con la patogénesis de esta condición (Varvarigou, 2010). En las placentas de los CIR el receptor de insulina está más activo, lo que indicaría que en estos niños hay un mecanismo compensatorio para mejorar la sensibilidad a insulina que podría estar relacionado con el crecimiento fetal (Street et al, 2011).

La expresión y/o la edad en la que puede aparecer la RI va a depender del grado de predisposición genética de la población, por lo que la asociación CIR y RI puede ser consecuencia de interacciones entre la genética y el ambiente (Jaquet et al, 2003 a). A la

RI no solo afecta la malnutrición, sino la interacción de la malnutrición previa y el incremento de la grasa corporal; factor que deteriora la tolerancia a glucosa. Por ello, los CIR, con un historial de malnutrición, presentan en etapas posteriores, mayor probabilidad de padecer RI, independientemente del IMC, peso al nacimiento y edad (González-Barranco et al, 2003). El posible mecanismo que relaciona el CIR con la RI y por tanto con la ECV se muestra en la figura 40. Por ello, el CIR se asociaría independientemente con el riesgo aumentado de RI o algunos de sus componentes como intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2 (Lévy-Marchal et al, 2006).

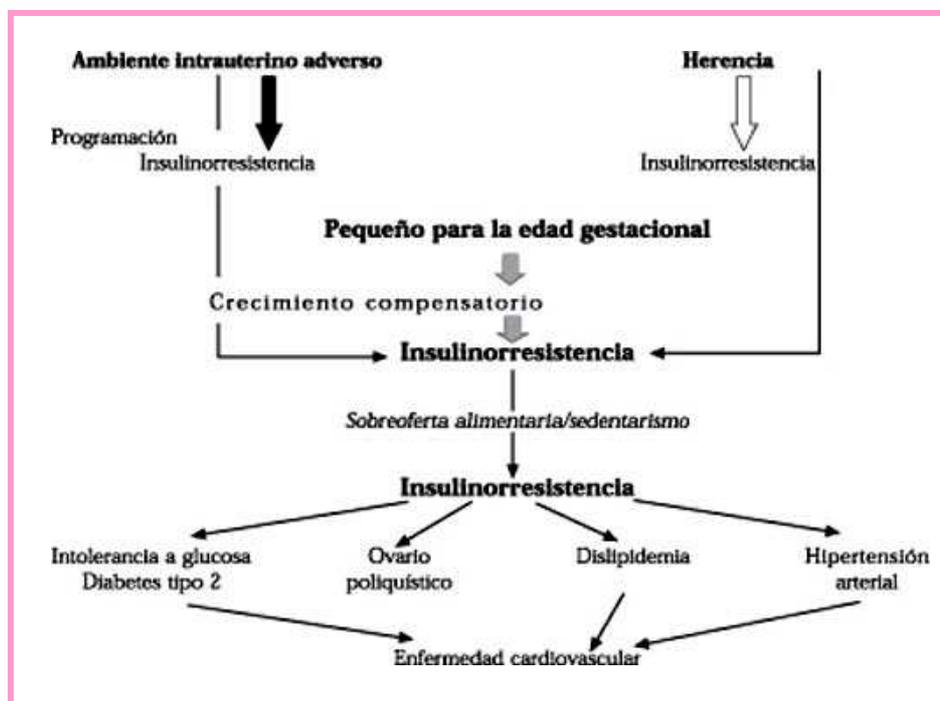


Figura 40. Relación entre el crecimiento intrauterino retrasado con la resistencia a la insulina y con la enfermedad cardiovascular en etapas posteriores de la vida.

La teoría del “fenotipo ahorrativo”, que se ha explicado en otros apartados, también se aplicaría a la RI, ya que el feto, frente a condiciones nutricionales adversas actúa disminuyendo la sensibilidad a la insulina. Una vez fuera del ambiente materno, si las condiciones cambian y se produce una sobreoferta alimentaria, los portadores de este fenotipo ahorrativo, independientemente de la causa que ocasionó el CIR, presentarían

mayor riesgo de desarrollar RI y SM que los nacidos con peso adecuado para su EG. La disminución de la sensibilidad a insulina postnatal de los CIR también podría presentarse ante la exposición a condiciones postnatales adversas (Levitt et al, 2000), como es el caso de la prematuridad extrema o el CER.

En relación con el CIR, los prepúberes con estos antecedentes presentan más riesgo de padecer RI (Mohn et al, 2007; Sancakli et al, 2008; Street et al, 2009; Miras et al, 2010; Street et al, 2011), al igual que los adultos (Fowden et al, 2005; Morrison et al, 2010). Los neonatos nacidos con CIR también presentan mayor RI, ya que la sensibilidad a la insulina esta disminuida debido a la adaptación al ambiente uterino adverso en el periodo crítico de desarrollo (Mericq et al, 2006; Takaya et al, 2007). Algunos trabajos han defendido que la RI no está influenciada por el peso al nacimiento entre 1130-3080g ni por la EG en el rango de 32-42 semanas de EG (Jaquet et al, 2005). Otros, afirman que la RI es independiente de la EG, aunque el peso al nacimiento esté muy fuerte e inversamente correlacionado con el mismo (Hofman et al, 2004; Giapros et al, 2007; Gatford et al, 2010). Incluso, en algunos trabajos se ha observado que el efecto del bajo peso al nacimiento en el riesgo de patología en la etapa adulta es considerable; de hecho, más del 35% de las diabetes tipo 2 se pueden atribuir a un bajo peso al nacimiento (Hofman et al, 2004). Por el contrario, algunos autores han observado que los niveles de insulina en sangre de cordón de los RN con CIR son menores que los de los controles (Zhao et al, 2010).

En etapas posteriores de la vida, incluso en la prepuberal, los autores coinciden con que los niveles de insulina están incrementados (Sancakli et al, 2008; Street et al, 2009; Siahnidou et al, 2009; Ibañez et al, 2011), así como el índice HOMA (Sancakli et al, 2008; Challa et al, 2009). Las gestantes de los CIR presentan mayor sensibilidad a la insulina en sus embarazos (Dalfrá et al, 2011). Por otro lado, los niños prepuberales que nacieron grandes para su EG también presentan mayor nivel de insulina e índice HOMA que los de peso adecuado para su EG, por lo que presentan mayor RI (Giapros et al, 2007; Chiavarili et al, 2009; Evangelidou et al, 2010).

El catch up tiene un papel muy importante en la RI y en la modulación metabólica, ya que se asocia a un cambio en la composición corporal, incluso en la etapa prepuberal (Veening et al, 2002; Dulloo et al, 2005; Mohn et al, 2007; Challas et

al, 2009; Chiavarili et al, 2009). La concentración de insulina en los neonatos PEG que están en el periodo de alcanzar el catch up es mayor, de hecho, podría considerarse cómo una manifestación temprana del mecanismo por el cual el tiempo en alcanzar el catch up predispone otras enfermedades en etapas posteriores de la vida (Saenger et al, 2007). Según algunos trabajos publicados, en los CIR, el no alcanzar el catch up de crecimiento en los 3 primeros meses de la vida se asocia con un aumento de la sensibilidad a la insulina (Han et al, 2010) y con niveles de glucosa aumentados (Torre et al, 2008). Otros autores observaron que los niños prepuberales con antecedentes de CIR que alcanzaron el catch up de crecimiento tienen más RI (Challas et al, 2009; Den et al, 2011). También se ha destacado que no existen diferencias para la glucosa, insulina e índice HOMA entre los controles, niños CIR con catch up y CIR sin el mismo en la etapa prepuberal (Torre et al, 2008) y puberal (Tenhola et al, 2005), incluso tras ajustar por IMC, género y estado puberal, no habiendo diferencias en la RI. Por lo que estos trabajos no apoyan la teoría de la alteración precoz en la sensibilidad a la insulina de los CIR con un IMC normal. Por otro lado, parece que estos niños con antecedentes de CIR normopeso pueden presentar intolerancia a la glucosa (Levitt et al, 2000).

La malnutrición temprana en la vida extrauterina, independientemente del peso al nacimiento, se asocia con un deterioro del metabolismo insulínico y de la tolerancia a glucosa en adultos, de hecho empeora cuando aumenta el IMC (González-Barranco et al, 2004). Nuestros resultados obtenidos en los niños prepuberales con antecedentes de CER coinciden con los del trabajo de Torre y colaboradores (2008) así como con los de Tenhola y colaboradores (2005), ya que así como se observaron diferencias significativas respecto a los controles por el aumento de la glucosa en los CER, la concentración de insulina y el índice HOMA, aunque fueron más elevados en los niños CER no presentaron diferencias con los controles estudiados (Tabla 15). Estos hallazgos podrían ser debidos, además de al tamaño muestral, a que la RI en la etapa prepuberal sea demasiado precoz y que estas alteraciones se observen posteriormente. En los CIR el comienzo de la RI sería más temprano (Challa et al, 2009).

Por otro lado, se ha observado que los RN pretérmino también presentan un riesgo incrementado de desarrollar RI en etapas posteriores de la vida (Mericq et al, 2006; Rotteveel et al, 2008; Sihanidou et al, 2009; Finken et al, 2011), incluso en la infancia (Hofman et al, 2004), que se han relacionado con el aporte nutricional durante

el periodo neonatal (Singhal et al, 2003; Singhal et al, 2004 a; Nobili et al, 2008). Ya que los niños CER también fueron prematuros y recibieron un gran aporte nutricional en la etapa neonatal, podría desarrollar RI en etapas posteriores. De hecho, los pretérmino tienen mayor índice HOMA que los nacidos a término (Martos-Moreno et al, 2009). La reducción de la sensibilidad a la insulina en los niños que fueron RN prematuros se observa más frecuentemente en aquellos con una EG menor o igual a 32 semanas, sin diferencias por debajo de éste límite. Los sujetos nacidos entre las 24 y 32 semanas presentan la misma reducción en la sensibilidad a la insulina, lo que podría indicar que existe una ventana crítica en este tiempo durante la cual la sensibilidad a la insulina esta permanentemente alterada. Este periodo es equivalente al tercer trimestre temprano de la gestación, y debe ser un tiempo crítico en el útero para la aparición de cambios metabólicos permanentes (Hofman et al, 2004).

Hasta la fecha se desconoce si la RI en la etapa adulta es diferente entre los CIR, prematuros y los nacidos a término. Parece que existen diferencias relacionadas con la distinta composición corporal (Rotteveel et al, 2011). Aunque algunos trabajos han defendido que la RI era similar en los prematuros que en los CIR, y en ambos casos menor que en los RN a término (Rotteveel et al, 2008). En los pretérmino se ha observado que los niveles de insulina se correlacionan negativamente con el peso al alta (Siahanidou et al, 2009). En un estudio con niños prepúberes que fueron prematuros, se ha detectado una menor sensibilidad a la insulina de estos respecto a los niños nacidos a término. Como se ha comentado anteriormente, la nutrición postnatal puede influenciar en la programación metabólica; de hecho existe asociación entre la rápida ganancia ponderal con las morbilidades a largo plazo (Singhat et al, 2004 a), aunque no existen evidencias suficientes del efecto a largo plazo de la nutrición agresiva sobre la programación en los distintos sistemas (Hofman et al, 2004). Estos hallazgos también podrían ser aplicados a los niños CER. Algunos trabajos en cambio, han defendido que la asociación CIR y prematuridad no aumenta la RI, por lo que podría indicarse que el ambiente adverso uterino antes del tercer trimestre de gestación presenta mínimos efectos metabólicos (Hofman et al, 2004), aunque la mayoría de los estudios, como se ha comentado anteriormente, no defiende esta teoría.

La relación de los componentes de la RI con el resto de parámetros analizados en este trabajo se ha comentado en cada uno de los apartados desarrollados. El

hiperinsulinismo se correlaciona positivamente con marcadores lipídicos de ECV y de SM (positivamente con los TG y negativamente con el HDLc (Gil-Campos et al, 2004 a). De hecho, en los niños prepuberales con antecedentes de CER se observó una asociación positiva entre insulina e índice HOMA con los TG (Tablas 23 y 24). En este estudio también el IMC presentó una correlación moderada con la insulina y con el índice HOMA (Tabla 19), lo que podría explicar en parte que los niveles de insulina no se encontrasen elevados. Las citoquinas y quimioquinas tienen un importante papel en la RI (Charo et al, 2006). La adiponectina, la resistina, la leptina y el TNF α principalmente, pueden modular la acción insulínica a través de cascadas de transducción de señales que regulan la expresión génica de factores proteicos implicados en la lipogénesis y en la lipólisis (Gil Campos et al, 2004 a). Adiponectina e insulina son hormonas antagónicas y recíprocamente reguladas. Por lo que se correlacionan negativamente (Brochu-Gaudreau et al, 2010).

Los niveles circulantes de PCR y de IL-6 se correlacionan con el riesgo de diabetes tipo 2 y la delección genética del TNF α o de su receptor disminuye la RI (Tilg et al, 2006; Charo et al, 2006). El aumento del EO también se ha relacionado con la RI, con la disfunción de las células β , con la intolerancia a la glucosa y con la diabetes tipo 2, aunque los mecanismos concretos aún no se han clarificado (D'Archivio et al, 2011). La mayor fuente de producción de EROs es el tejido adiposo, que también tiene un papel en la RI y en el SM (Mohn et al, 2007). La hiperglucemia conlleva a la autooxidación y al incremento mitocondrial del RL superóxido, con el consecuente aumento de los EROs. Por otro lado, la hiperglucemia favorece la expresión de IL-6, TNF α , moléculas de adhesión y MCP1 en las células coronarias (Wu et al, 2006).

V.6.2.2.2) La hipertensión arterial

Las principales causas de HTA son la activación del SNS, la desregulación del sistema renina-angiotensina y la disfunción endotelial (Brochu-Gaudreau et al, 2010). Como se ha comentado en apartados anteriores, el ambiente fetal puede programar la homeostasis metabólica en la vida posterior, y en este proceso también se incluye la programación de la TA (Varvarigou, 2010; Masi et al, 2011; Wen et al, 2011), aunque el mecanismo del mismo es desconocido (Wen et al, 2011). Este proceso puede verse agravado porque la

desnutrición fetal en el CIR se acompaña de una restricción proteica, que interviene en el desarrollo del riñón y en la reducción del número de nefronas, lo que está relacionado con el control de la TA (Varvarigou, 2010; Masi et al, 2011; Ritz et al, 2011). La programación intrauterina del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal puede ser un mecanismo fundamental para establecer la asociación del bajo peso al nacimiento, RI, y la HTA en ausencia de otra patología (Levitt et al, 2000). De hecho, tanto el CIR (Lévy-Marchal et al, 2006; Mohn et al, 2007; Gortner 2007; Nuyt et al, 2009; Myrie et al, 2011), como el rápido crecimiento postnatal (Gortner 2007; Nuyt et al, 2009; Myrie et al, 2011) se asocian con la programación de la TA. El EO también podría intervenir en el comienzo de la programación de la HTA (Nuyt et al, 2009). La elevación de la TA en la infancia y adolescencia aumenta el riesgo de HTA en etapas posteriores de la vida. Por otro lado, la actividad física modera positivamente la TA. En los niños prepuberales, la actividad física se relaciona independientemente con el descenso de la TA (Gopinath et al, 2011).

La exposición fetal a un exceso de glucocorticoides parece ser crítico en la programación de la HTA. Otros mecanismos que interfieren en este proceso son el sistema renina-angiotensina-aldosterona y el transportador de sodio. Las enfermedades vasculares están unidas a la malnutrición intrauterina por la disfunción endotelial. De hecho existe una considerable asociación entre el CIR y la alteración en el desarrollo de la estructura vascular, en concreto de la proporción entre elastina y colágeno rígido, que es un marcador de riesgo de ECV y de HTA (Jiang et al, 2006; Drake et al, 2007). La vasodilatación dependiente del endotelio es un precursor conocido de la elevación de la TA y de la aterosclerosis y parece estar disminuida en los CIR en etapas posteriores de la vida (Nuyt et al, 2009). Estas observaciones sugieren que el ambiente intrauterino puede ser importante en la regulación del sistema cardiovascular. La relación entre el peso al nacimiento y la función vascular puede resultar de la programación de la pared vascular por la nutrición fetal o por su ambiente, o puede ser un marcador de asociación genética entre el crecimiento temprano y la función endotelial (Franco et al, 2003). En la infancia, adolescencia e incluso en la etapa adulta de los prematuros y de los RN con CIR se puede observar una alteración en la estructura vascular (Jiang et al, 2006).

Por otro lado, la desnutrición intrauterina promueve alteraciones en el NO. Un descenso en su síntesis se asocia con incrementos del anión superóxido, lo que tendrá un

importante papel en la disfunción endotelial. Puede existir una dicotomía con respecto al género en la manifestación de la severidad de la HTA, ya que parece que la implantación del embrión que dará lugar a un feto tiene mayor capacidad de responder al ambiente materno, y por ello puede tener mayor sensibilidad a las influencias de la programación (Franco et al, 2003). La elevación de la TA en las gestantes esta relacionada con el CIR en el tercer trimestre del embarazo y con un aumento del riesgo de eventos en el nacimiento (Bakker et al, 2011).

La alimentación exclusivamente con leche materna se ha relacionado con menores valores de TA en etapas posteriores de la vida. Por ello, en los prematuros la alimentación materna podría programar la TA (Singhal et al, 2001). En los RN con CIR, la ingesta de una fórmula enriquecida se asocia con la elevación de la TA en etapas posteriores de la vida. La nutrición temprana tiene efectos en la programación de la ECV incluso en los niños nacidos a término, de hecho, los efectos sobre la TA se amplifican con los años. Por ello, es importante tener en cuenta la edad de los niños a la que se valora la TA, ya que los resultados podrían ser diferentes. En la etapa prepuberal no se han observado diferencias en la TA entre los géneros, ya que los efectos de la nutrición son independientes del mismo. Por ello, aunque la nutrición y la rápida ganancia de peso en la etapa neonatal tienen efectos beneficiosos a corto plazo, en etapas posteriores, al menos en los sujetos con antecedentes de CIR y en relación con la TA las consecuencias pueden ser perjudiciales (Singhal et al, 2007).

Los niños prepuberales con mayor cantidad de tejido adiposo visceral presentan elevación de la TA, tanto TAS como TAD (Galcheva et al, 2011; Medina-Bravo et al, 2011). En la etapa prepuberal, tanto el peso al nacimiento como la EG se relacionan inversamente con la TA (Liew et al, 2008). Entre otras alteraciones, está descrito que los niños con CIR tienen un mayor riesgo de HTA en la edad adulta, y que el aumento de SM y de ECV podría ser secundario a éste (Gortner, 2007). Algunos autores han observado que los CIR que alcanzan el catch up de crecimiento en los 2 primeros años presentan un mayor riesgo de HTA y de eventos cardiovasculares en etapas posteriores que los continúan bajos y delgados durante su infancia (Nuyt et al, 2009). En los niños prepuberales con antecedentes de CIR se han observado cambios específicos en las propiedades de las arterias y aumento de la TA respecto a los controles sanos. Como el crecimiento acelerado en la infancia temprana se asocia muy frecuentemente al CIR y

con las alteraciones vasculares específicas, en la mayoría de los trabajos es difícil distinguir la contribución del crecimiento pre y postnatal al riesgo de ECV (González-Barranco et al, 2003; Masi et al, 2011). Parece que en la infancia, la TA de los niños nacidos pretérmino comparado con los RN a término es también mayor (Rotteveel et al, 2008), y estos hallazgos se han relacionado con el aporte nutricional durante el periodo neonatal (Singhal et al, 2003; Singhal et al, 2004 a). Para algunos autores, la elevación de la TA no se relaciona con los niños prepuberales nacidos CIR pretérmino (Belfort et al, 2011). Sin embargo, en este trabajo, los niños seleccionados no presentaron antecedentes de CIR, por lo que todas las alteraciones metabólicas observadas, como la elevación de la TA se deben a la programación del periodo postnatal temprano, que es cuando sufrieron la deprivación nutricional. De hecho, los niños prepuberales con antecedentes de CER mostraron elevación en la TA, tanto TAS como TAD, e incluso HTA (Figura 25). Estos hallazgos son muy significativos, ya que, como se puede observar en los resultados, el 100% de los niños del grupo CER presentaron valores de TAS iguales o superiores al p50 mientras que en el grupo control fueron el 34%. Incluso el 46% de los CER se encontraban en un $p \geq 95$ respecto al 3% de los controles. Igualmente, mientras que el 58% de los prepúberes sanos se situaban en un percentil \geq al 50 para valores de TAS, en el grupo CER dicho porcentaje se eleva hasta el 95%. Del total de los niños CER el 37% presentaron valores de TAD en rango de HTA, mientras que sólo el 3% del grupo control lo hizo.

En la pubertad la TA se asocia con la rápida ganancia de peso (Fabricius-Bjerre et al, 2011; Wen et al, 2011) y de forma inversa con el peso al nacimiento (Levitt et al, 2000; Singhal et al, 2001; Huxley et al, 2002; González-Barranco et al, 2003; Hofman et al, 2004; Pellanda et al, 2009), independientemente de factores genéticos y ambientales (Nuyt et al, 2009). Mientras que en algunos trabajos la TA no se ha relacionado con el peso al nacimiento ni con la EG (Singhal et al, 2001). Los resultados son controvertidos, ya que algunos autores defienden que los púberes con antecedentes de CIR presentan elevación de la TA, independientemente de que sean ó no obesos y hayan o no alcanzado su catch up de crecimiento (Levitt et al, 2000; Chan et al, 2010; Wen et al, 2011), mientras que los que nacieron prematuros no (Chan et al, 2010). De hecho, los adolescentes que fueron prematuros y que se alimentaron con leche materna presentan menores valores de TA que los controles (Singhal et al, 2001). Los regímenes alimentarios en los prematuros que producen mayor ganancia de peso se asocian a una

mayor TA en la etapa puberal (Huxley et al, 2002). Por el contrario, otros han observado que adolescentes nacidos CIR y pretérmino presentan más TAS que los controles sanos, mientras que los nacidos CIR a término presentaron similares resultados a los controles. Por lo que para estos autores la prematuridad esta relacionada con la elevación de la TAS en la adolescencia, y no con la condición de CIR (González-Barranco et al, 2003; Rossi et al, 2011). En los adultos se ha observado una asociación entre la TAD y la rápida ganancia de peso el primer mes de vida, mientras que la TAS se asoció con el crecimiento en años posteriores (Nuyt et al, 2009).

Tanto la hiperleptinemia como la hipoadiponectinemia (Weiss et al, 2004), así como la alteración de biomarcadores de inflamación y de EO analizados en este trabajo intervienen en el desarrollo de la HTA. Por ello, el tejido adiposo, así como la inflamación y los mecanismos de EO están relacionados con la TA, como se pone de manifiesto en las distintas correlaciones observadas en el estudio (Tabla 20, Figura 32). El IMC se correlaciona positivamente con la TA (Weiss et al, 2004). De hecho en los obesos se han observado elevaciones en la TA (Torres et al, 2008), mientras que en este trabajo no se obtuvo dicha relación. En los niños prepuberales con antecedentes de CER hubo correlación entre TAS con la glucosa, insulina y HOMA, todas ellas, positivas y moderadas, lo que indica la relación entre los distintos componentes del SM y factores de riesgo de ECV en este tipo de niños. Sólo la TAS tuvo correlaciones en los CER, mientras que la diastólica no, lo que indicaría que es la TAS la más influyente en estas patologías. En otros trabajos se ha relacionado la TA con la glucemia (Townsend et al, 2010), insulina (Gupta et al, 2010), e índice HOMA (Tahara et al, 2010).

V.6.2.2.3) Dislipidemia

Las alteraciones del perfil lipídico son comunes en el SM, no solo en adultos, sino también en la infancia y en la adolescencia (Gil-Campos et al, 2004 a). La dislipidemia se puede considerar como el incremento de TG, LDLc y el descenso del HDLc (Brochu-Gaudreau et al, 2010), lo que también se ha asociado con el desarrollo de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2 y la ECV. (Sacheck et al, 2008). Sin embargo, en este trabajo los niños con antecedentes de CER sólo presentaron un descenso del HDLc

respecto a los controles sanos; el resto de parámetros lipídicos no mostraron diferencias significativas (Figura 26). Estos hallazgos pueden deberse a que la dislipidemia en esta condición no se manifiesta totalmente en la etapa prepuberal, el descenso del HDLc indicaría una alteración lipídica precoz, con incremento del riesgo de ECV en etapas posteriores de la vida. Los niños con antecedentes de CER presentan mayores niveles séricos de TG y de LDLc, aunque sin diferencias con el grupo control, por lo que en etapas posteriores podría observarse significación respecto a los controles.

El ambiente intrauterino y la exposición postnatal temprana parecen ser determinantes en el desarrollo de dislipidemia en la etapa adulta (Gortner 2007). De hecho, la malnutrición extrauterina temprana, independientemente del peso al nacimiento, tiene un efecto adverso en perfil lipídico (González-Barrano et al, 2004). Por ello, el CER puede ser un factor que predisponga el riesgo de dislipidemia en etapas posteriores, incluso comenzando en la etapa prepuberal, como muestran los resultados de este trabajo. El CIR se asocia a un aumento de anormalidades en el metabolismo lipídico, predictivas de un mayor riesgo de ECV (Levitt et al, 2000; Hofman et al, 2004; Lévy-Marchal et al, 2006; Mohn et al, 2007; Varvarigou, 2010). Fundamentalmente se ha relacionado el CIR con la hipertrigliceridemia y con el descenso del HDLc (Pellanda et al, 2009). De hecho se ha observado en niños y adultos que existe una correlación muy fuerte e inversa entre el peso al nacimiento y la concentración de TG, y positiva entre el peso al nacimiento y el HDLc (González-Barranco et al, 2003). En un trabajo realizado en niñas prepuberales que alcanzaron el catch up de crecimiento y que nacieron CIR se observó que los niveles séricos de LDLc se encontraban disminuidos respecto a las controles (Ibañez et al, 2011). Algunos trabajos publicados han relacionado la rápida ganancia de peso en la infancia con la concentración de los parámetros lipídicos en la etapa puberal (Fabricius-Bjerre et al, 2011).

En relación con el colesterol total, un estudio demostró que en la etapa prepuberal de niños que fueron CIR al nacimiento, aunque no alcanzasen el catch up de crecimiento, sus niveles séricos se encontraban en el límite alto de la normalidad, aunque sin diferencias significativas con los controles (Thenola et al, 2000; Cianfarani et al, 2002). De hecho, los trabajos consultados en los niños CIR no han encontrado diferencias significativas para el colesterol, ni de forma global, ni en función de haber alcanzado o no el catch up de crecimiento (Evangelidou et al, 2007; Challa et al, 2009).

Lo que estaría relacionado con los resultados de este trabajo para los sujetos con antecedentes de CER (Figura 26), ya que este parámetro no mostró diferencias significativas.

Algunos autores consultados no observaron diferencias significativas en el perfil lipídico de controles, niños CIR que alcanzaron el catch up de peso y los que no lo alcanzaron. Sin embargo, el HDLc estaba disminuido en los CIR que alcanzaron el catch up de altura. Por lo que estos autores no coinciden con la mayoría de los trabajos publicados, ya que no apoyan la teoría de que los niños prepuberales con un IMC normal, con un adecuado catch up y con antecedentes de CIR presentan alteraciones tempranas en el metabolismo lipídico (Torre et al, 2008). Por otro lado, el descenso de la masa grasa tiene efectos positivos en el metabolismo lipídico (Wu et al, 2009). Los niños prepuberales con obesidad abdominal o con mayor cantidad de tejido adiposo visceral presentan elevación del colesterol total, de los TG y de la Apo B, mientras que muestran un descenso en las concentraciones de HDLc (Torres et al, 2008; Galcheva et al, 2011; Medina-Bravo et al, 2011). Las concentraciones de Apo A-1 parece que no muestran diferencias significativas respecto a los controles en los prepúberes obesos (Gil-Campos et al, 2004 a). En los niños con antecedentes de CER tampoco se observaron diferencias.

En relación con las asociaciones con el resto de parámetros y biomarcadores analizados en este estudio, se han ido comentando a lo largo del trabajo, aunque parece que insulina, adiponectina y leptina son los más claves en la regulación del perfil lipídico. De hecho, la insulina y la leptina se secretan directamente y la adiponectina inversamente a la cantidad de tejido adiposo (Gil-Campos et al, 2004 a). En los niños con antecedentes de CER se han relacionado los parámetros lipídicos con otros componentes del SM, como la correlación observada entre el HDLc con la glucosa (Tabla 21) y los TG con el IMC (Tabla 19). Ambas descritas en la literatura (Giannini et al, 2007; Faintuch et al, 2010).

V.7) EL ESTRÉS OXIDATIVO Y SUS BIOMARCADORES EN LOS NIÑOS PREPUBERALES CON ANTECEDENTES DE CRECIMIENTO EXTRAUTERINO RETRASADO

V.7.1) El estrés oxidativo

En la obesidad y en la RI, más que en la diabetes tipo 2, el EO es un factor importante, ya que se encuentra incrementado (Mohn et al, 2005 a; Soylemez et al, 2010). Algunos componentes del SM, como la hiperlipidemia, la hiperglucemia, la hiperinsulinemia también se relacionan con el aumento del EO (Monh et al, 2005 a; D'Archivio et al, 2011) y la HTA (Luo et al, 2006). El daño de los RL presenta un papel importante en la función de las células beta y en las complicaciones cardiovasculares (Chiavaroli et al, 2009). La producción de peróxido de hidrógeno también es resultado de la acción de la insulina (Mohn et al, 2005 a). En los niños prepoberales obesos se ha descrito una alteración en el balance EO-antioxidantes ya que también existe un incremento del EO puesto que la sobrenutrición permanente expone a los niños a una excesiva producción de EROS mientras que aumenta la masa grasa (Mohn et al a, 2005; Chiavaroli et al, 2009). El EO se asocia con el IMC, el PC y con la adiposidad, fundamentalmente subcutánea, según algunos autores de forma positiva (Mohn et al, 2005 a; Chiavaroli et al, 2009; Yanagawa et al, 2010), mientras que para otros lo hacen inversamente (Wu et al, 2009). También se ha relacionado positivamente el EO con los índices de la RI, como el HOMA, aunque algunos autores defienden que no se relaciona con la cantidad de tejido adiposo ni con los parámetros metabólicos (Hirose et al, 2009).

El EO desarrolla un papel fundamental en la disfunción endotelial, inflamación y ECV (Mohn et al, 2007; Chiavaroli et al, 2009), así como en la aterosclerosis (Hirose et al, 2009). Ya que los EROs son producidos bajo el estímulo de diferentes citoquinas, se han descrito correlaciones entre el EO y los biomarcadores de inflamación y adipoquinas, como con la PCR (Hirose et al, 2009), PAI1t, leptina (Wu et al, 2009) y TNF α (Monh et al, 2005 a; Iborra et al, 2011). Mientras que para algunos autores no se asocia con la adiponectina (Hirose et al, 2009), para otros sí (Fernández-Sánchez et al, 2011), por lo que parece que el tejido adiposo se considera un factor importante para la generación de EO. Además, el EO induce la mala regulación de las adipoquinas y de los biomarcadores de inflamación.

En el nacimiento se produce la transición de la vida fetal a la neonatal, lo que lleva consigo una serie de cambios fisiológicos complejos. El feto pasa de un ambiente intrauterino de hipoxia a otro extrauterino, con mayor cantidad de oxígeno (Gitto et al, 2009). Esta situación aumenta la producción de RL, fundamentalmente de EROs, y por tanto el EO (Kumar et al, 2008). Las posibles causas de crecimiento fetal alterado (excesivo o escaso) y de la prematuridad, se han asociado al EO, y posiblemente, éste pueda estar relacionado con el elevado riesgo de patología que tienen estos niños. El EO podría actuar directamente a través de la modulación de la expresión génica, o a través de los efectos de moléculas oxidadas (Luo et al, 2006).

Los RN que sufren hipoxia e isquemia presentan más EO, al igual que los que padecen sepsis neonatal y distrés respiratorio (Gupta et al, 2004; Gitto et al, 2009). Sin embargo, no existen diferencias respecto al EO entre los nacimientos vaginales y las cesáreas. La producción de EROs se correlacionan negativamente con la EG (Rogers et al, 2000) y con el peso al nacimiento, ya que afecta más a los neonatos prematuros nacidos con peso muy extremo que a los demás, aunque todos los prematuros estén en riesgo (Nassi et al, 2009). La prematuridad puede influenciar el incremento del EO y aumentar el daño de los RL (Lee et al, 2005), ya que estos neonatos son más vulnerables y pasan inmaduros de una hipoxia a una situación con demasiado oxígeno (Davis et al, 2010). Además, están documentadas las morbilidades asociadas a la producción de RL en estos neonatos (Arnon et al, 2009). Una de las razones puede ser la baja disponibilidad de sustrato para la síntesis de antioxidantes, como el GSH, ya que en los niños prematuros, con frecuencia se restringe la administración de aminoácidos (Braake et al, 2008). La deficiencia de GSH contribuye al EO, jugando un papel fundamental en la patogenia de muchas enfermedades, e incluso en el sistema inmune (Ballatori et al, 2009).

En las mujeres con preclampsia el EO está aumentado (Gitto et al, 2009). El CIR se asocia al EO, ya que la hipoxia y la isquemia de esta condición (Gupta et al, 2004) pueden influenciar el mal balance del EO y aumentar el daño de los RL (Lee et al, 2005; Davidge et al, 2008). Por tanto, el EO está presente tanto en los CIR como en las madres de estos neonatos (Saker et al, 2008). Por otra parte, se sugiere que marcadores bioquímicos maternos, como la albúmina y la hemoglobina son los parámetros más

importantes que influyen en el EO; ya que los marcadores bioquímicos de malnutrición podrían estar más relacionados con el EO que las características antropométricas (Gupta et al, 2004).

Los mecanismos exactos de la programación fetal o de los orígenes del desarrollo aun no han sido explicados. El EO es común a muchos factores de riesgo que se asocian frecuentemente con un crecimiento fetal alterado (escaso o excesivo) o con la prematuridad. En la actualidad, el EO se ha propuesto como el nexo entre la programación fetal y la prematuridad con la enfermedad en etapas posteriores de la vida (Luo et al, 2006). La programación no se debe únicamente al crecimiento fetal y al catch up, ya que muchos de los nacidos CIR o prematuros no presentan consecuencias negativas en la etapa adulta. Por ello el EO puede acompañar a muchos factores genéticos, nutricionales y ambientales, que se asocian con un mayor riesgo de prematuridad y CIR, o indirectamente con el aumento de morbilidades gestacionales como la HTA y la diabetes gestacional.

La programación del EO puede actuar directamente mediante la modulación de la expresión génica o indirectamente a través de los efectos adversos de la oxidación lipídica u otras moléculas en momentos críticos del desarrollo, y por tanto programando la susceptibilidad al SM y a otras patologías, como la ECV. La placenta sirve como barrera a los RL y mantiene la homeostasis del ambiente fetal, por lo que los prematuros pueden ser más susceptibles de programación en la vida postnatal temprana. Estos neonatos deben desarrollarse de forma equivalente al feto en un ambiente muy rico en oxígeno, por lo que, aunque ambos periodos son los más susceptibles de programación, habrá diferencias entre la prenatal y la postnatal (Luo et al, 2006). La condición de ser CER, por su propia definición, englobaría ambos términos, ya que son neonatos prematuros que presentan retraso del crecimiento, por lo que también estos niños presentarán un aumento del EO, que puede ser programable en la etapa postnatal.

El aumento del riesgo de SM, diabetes 2 y de ECV entre los niños CIR y los prematuros, que son los 2 grupos que más frecuentemente se asocian con un riesgo incrementado en estas patologías, se puede explicar con la “hipótesis del EO”, ya que muchos de los factores causales son debidos al mismo. De hecho, como se ha comentado anteriormente, tanto la preclampsia como la malnutrición, que son causas

comunes de CIR y prematuridad se han asociado al aumento del EO (Roberts et al, 2002). La mayoría de los autores coinciden en que el EO está aumentado en los CIR respecto a los RN con peso adecuado para su EG y entre los pretérmino en comparación con los RN a término. Por otro lado, el rápido alcance del catch up postnatal así como el crecimiento acelerado de los CIR y prematuros implica un mayor consumo y oxidación de los nutrientes. En estos casos la mitocondria produce más RL y como su SDA es inmaduro podría existir una programación en el crecimiento postnatal temprano (Luo et al, 2006). Una mayor ingesta de nutrientes, especialmente los que se pueden considerar pro-oxidantes (muy calóricos y ricos en AG), pueden empeorar la programación e incrementar el riesgo de SM y de diabetes tipo 2 en etapas posteriores (Luo et al, 2006). Por ello, la sobrealimentación en la etapa postnatal a la que son sometidos los neonatos con CER podría contribuir en la programación del EO y como consecuencia al desarrollo de patología futura.

Por otro lado, en los niños prepuberales normopeso con antecedentes de CIR o grandes para su EG, se ha observado un estado oxidación-antioxidantes perjudicado ya que hay una mayor generación de EROs, lo que indicaría que el EO estaría relacionado con la condición de ser CIR y que se encuentra presente en la etapa prepuberal (Chiavaroli et al, 2009). También existe evidencia de que el EO puede presentar un efecto independientemente del peso al nacimiento (Chiavaroli et al, 2009), por lo que el aumento del EO en los niños con antecedentes de CER también sería posible. Como se ha comentado anteriormente, la mayoría de los autores defienden que el EO está incrementado en el CIR y en la prematuridad. Sin embargo, este es el primer trabajo que observa que en los niños prepuberales con antecedentes de CER existe un mayor EO en comparación con los niños sanos de la misma edad.

V.7.2) El sistema de defensa antioxidante

Para valorar el EO del organismo se suele medir la capacidad antioxidante de los fluidos extracelulares como un reflejo de la oxidación, ya que es mucho más fácil su medición sanguínea y los antioxidantes reflejan perfectamente el estado de oxidación (Rogers et al, 2000). Por ello, en este trabajo para valorar el EO de los niños prepuberales con antecedentes de CER se midieron los antioxidantes enzimáticos catalasa, GR, GPox y

SOD así como los antioxidantes exógenos β caroteno, retinol (vitamina A), y tocoferol (vitamina E).

En la obesidad, tanto en los individuos adultos (Soylemez et al, 2010), como en los niños prepuberales (Mohn et al, 2005 b), la capacidad antioxidante total está aumentada respecto a los controles sanos debido fundamentalmente al incremento del consumo de las vitaminas antioxidantes, por lo que el EO será mayor.

Por otro lado, también se han observado en los RN con CIR (Hracsko et al, 2008) y en los prematuros (Zadrozna et al, 2009) niveles y actividad de GSH significativamente menores respecto a los RN sanos. Aunque otros autores observaron la actividad del citocromo oxidasa y la concentración de GSH en los pretérmino mucho más disminuidos que en los CIR (Zadrozna et al, 2009). En muestras placentarias de CIR se vio que la concentración de GSH y la peroxidación lipídica, no mostraron diferencias significativas con los controles (Llanos et al, 2009).

En los estados de malnutrición (como sería el caso del CIR y del CER) existen alteraciones en el SDA, ya que muchos antioxidantes son micronutrientes o dependen de ellos para su actividad, como las vitaminas A, C y E, así como el β caroteno y los elementos traza cobre, zinc, manganeso y selenio, que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes (Kumar et al, 2008). La malnutrición incluye deficiencias no solo de macronutrientes, sino también de micronutrientes. Por otro lado, las proteínas aportan aminoácidos que son indispensables para la síntesis de las enzimas, del GSH y de la albúmina, entre otros componentes del SDA. El factor materno más importante que afecta a la condición de ser CIR es su estado nutricional (Gupta et al, 2004). De hecho, en el CER, aunque no existan trabajos que valoren el EO, la desnutrición postnatal temprana que padecen estos neonatos, puede condicionar una alteración en los componentes del SDA.

Algunos autores defienden que el escaso crecimiento de los RN con CIR, puede comprometer el desarrollo del SDA, teniendo por ello mayor predisposición al EO, lo que podría incrementar su morbimortalidad (Kumar et al, 2008). De hecho, en los neonatos con CIR el balance oxidante/antioxidante está alterado (Kumar et al, 2008), ya que presentan un SDA deficiente (Chiavaroli et al, 2009). La misma situación podría

observarse en los niños con CER. De hecho, las concentraciones de antioxidantes en el CIR estaban bajas, tanto en el plasma materno y en el tejido placentario, como en sangre de cordón (Biri et al, 2007) y en el plasma neonatal. Existen fuertes correlaciones entre los niveles de antioxidantes y el EO maternos y fetal, lo que indicaría que el EO materno se podría transferir al feto (Arikan et al, 2001). Los niveles de las enzimas del SDA (catalasa, GR, GPox y SOD) en los eritrocitos de los neonatos CIR son muy bajos para defender al niño contra el EO (Hracsko et al, 2008; Saker et al, 2008) y además presentan cambios lipídicos y de lipoproteínas (Saker et al, 2008). En los niños prepuberales que nacieron con CIR, también se ha observado un estado de oxidación/antioxidantes alterado (Mohn et al, 2007).

En el momento del nacimiento el plasma neonatal es muy pobre en antioxidantes, ya que los mecanismos de defensa aún son muy inmaduros (Kumar et al, 2008). Las enzimas del SDA se regulan al final de la gestación, por lo que los pretérmino pueden presentar alteraciones en el SDA (Davis et al, 2010). En los prematuros, también podría observarse una baja disponibilidad de sustrato para la síntesis de antioxidantes, como el GSH, ya que a estos RN con frecuencia se les restringe la administración de aminoácidos (Braake et al, 2008). Por lo que el estado nutricional debe ser vigilado (Nassi et al, 2009). Algunos autores han defendido que no existen diferencias significativas entre el SDA de los RN con CIR y el de los prematuros (Hracsko et al, 2008), ya que ambos presentan alteraciones respecto a los RN a término con peso adecuado. Por otro lado, en los RN grandes para su EG también se ha observado que la actividad de las enzimas del SDA están reducidas (Saker et al, 2008). En los niños prepuberales con antecedentes de prematuridad y CER valorados en este estudio, también se ha observado que presentan una alteración en el SDA respecto a los niños prepuberales control. De hecho, este es el primer trabajo que observa estos hallazgos. Ya que dos de las enzimas del SDA se encontraron significativamente disminuidas (Figura 29), debido probablemente a una mala regulación del balance oxidación/antioxidantes, y por tanto a un mayor EO en estos niños.

Se ha probado la administración de enzimas y de vitaminas antioxidantes a los prematuros con el fin de disminuir el EO. Sin embargo los resultados hasta el momento actual son controvertidos, ya que en ocasiones las concentraciones administradas han presentado toxicidad (Gitto et al, 2009). Incluso podría resultar interesante el

tratamiento con antioxidantes de las madres con alto riesgo de presentar fetos con CIR para intentar prevenirlo (Biri et al, 2007). La ingesta de antioxidantes se ha relacionado con menor inflamación y EO (Helmersson et al, 2009). Sin embargo, algunos autores no observaron asociaciones entre los biomarcadores de inflamación con los micronutrientes y antioxidantes exógenos (Oliveira et al, 2011), aunque en este estudio, si se observaron dichas correlaciones, tanto en el total de los niños prepuberales, como en los que presentaron antecedentes de CER.

V.7.2.1) Antioxidantes enzimáticos

V.7.2.1.1) Catalasa

La catalasa parece que es más reguladora del proceso celular que una enzima redox (Iborra et al, 2011). Los niveles placentarios de catalasa aumentan a la vez que lo hace la gestación (Gitto et al, 2009) y se correlacionan positivamente con el incremento del peso fetal (Gupta et al, 2004). Sin embargo, en los neonatos y RN a término con CIR la concentración de catalasa está disminuida respecto a los RN control, lo que indicaría una deficiencia en los mecanismos de SDA y que el EO puede tener un importante papel en el CIR, ya que está incrementado (Biri et al, 2007; Hracsko et al, 2008; Kumar et al, 2008). De hecho, la actividad de esta enzima se reduce en un 60-65% (Gupta et al, 2004). A pesar de que la mayoría de los trabajos coinciden en que los niveles de catalasa se reducen en el CIR, algunos autores defienden que los CIR nacidos a término presentan un aumento en la concentración de catalasa respecto a los nacidos a término con peso adecuado a su EG (Lee et al, 2005).

Por otro lado, los pretérmino también tienen menos catalasa que los nacidos a término sanos (Lee et al, 2005). Por el contrario, las madres de los fetos pretérmino presentan una actividad enzimática placentaria de catalasa mayor que las placentas de las madres con fetos a término (Ahamed et al, 2009). En la obesidad la actividad de la enzimas catalasa está disminuida (Fernández-Sánchez et al, 2011). La mayoría de los trabajos realizados en RN prematuros y en neonatos con CIR coinciden con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que los niños prepuberales con antecedentes de CER presentaron menor concentración de catalasa respecto a los niños control (Figura

29A). Lo que indicaría, como describimos por primera vez, que en el CER, existe un aumento del EO, y que este podría tener un papel en su fisiopatología.

No se han encontrado muchas publicaciones que relacionen la concentración de catalasa con otros biomarcadores de EO estudiados en este trabajo, por lo que parece que es la primera vez que se describen. En el total de los niños prepuberales, la TAS y la TAD se relacionaron inversamente con los niveles de catalasa (Tabla 20), así como con la insulina en los niños con antecedentes de CER (Tabla 23). En relación con el resto de los antioxidantes enzimáticos la catalasa se asoció positivamente a la GR en el grupo CER, y a la GPox en el total de los niños (Tabla 27). En cuanto a los antioxidantes exógenos, la catalasa se correlacionó negativamente con ellos (Tabla 27). Como se ha comentado anteriormente, el EO se relaciona con la inflamación (Helmersson et al, 2009). De hecho, en los niños prepuberales estudiados la catalasa se relacionó negativamente con la IL-6, IL-8 y TNF α (Tabla 27), por lo que a mayor inflamación, menor concentración de catalasa. Por el contrario, un trabajo ha defendido que el NGF puede aumentar el ARN mensajero de la catalasa (Sampath et al, 1994), aunque no se ha observado esta asociación en los niños prepuberales.

V.7.2.1.2) Glutación reductasa

No se ha observado en la literatura ningún trabajo que trate de la concentración de GR en niños o neonatos con antecedentes de CER. Por el contrario, se han valorado sus niveles en el nacimiento y en la prematuridad. Los RN presentan mayor actividad enzimática que los adultos (Frosali et al, 2004). La actividad placentaria de la enzima GR es mayor en las gestaciones pretérmino que en las a término (Ahamed et al, 2009). Además su concentración es mayor en los pretérmino de género femenino que en el masculino (Hamon et al, 2011). En relación con el CIR, Saker y colaboradores (2008) encontraron sus niveles bajos en eritrocitos. Sin embargo, aunque en los niños con antecedentes de CER se observaron concentraciones eritrocitarias disminuidas, no se obtuvieron diferencias entre ambos grupos (Figura 29C).

Aunque no se ha relacionado en otros trabajos los niveles de GR. con el metabolismo hidrocarbonado, en este trabajo se observó una relación negativa, ya que

en el total de los niños prepuberales la GR se correlacionó inversamente con la glucosa; y en los niños con antecedentes de CER con la insulina y con el índice HOMA (Tablas 23 y 24). La GR se relacionó positivamente tanto en los niños con antecedentes de CER como en el total de los prepúberes con la SOD, aunque no se ha descrito previamente esta asociación. Como se ha comentado anteriormente, el EO se relaciona con la inflamación. *In vitro* se ha observado que el HGF tiene funciones antioxidantes, ya que defiende contra los EROs y aumenta la expresión génica de la GR (Arends et al, 2008). Aunque en los niños con antecedentes de CER no se obtuvo esta asociación, se relacionó positivamente la GR con el NGF y con el TNF α (Tabla 27).

V.7.2.1.3) Glutación peroxidasa

A lo largo de la gestación sus concentraciones son controvertidas, ya que algunos trabajos afirman que los niveles placentarios GPox disminuyen a la vez que avanza la gestación (Gitto et al, 2009), mientras que diversos autores defienden que en la última etapa de la gestación esta enzima se correlaciona positivamente con el incremento del peso fetal (Gupta et al, 2004). En las mujeres con preclampsia el EO está aumentado, ya que los niveles de GPox están disminuidos en comparación con los controles (Gitto et al, 2009). En un trabajo se indica que en muestra placentaria de madres con fetos con CIR la concentración de la GPox no mostró diferencias significativas respecto a las madres control (Llanos et al, 2009). En los neonatos con CIR, los trabajos publicados son contradictorios, ya que existen autores que observaron la concentración de la SOD disminuida respecto a los controles no CIR (Hracsko et al, 2008; Kumar et al, 2008), mientras que otros la encontraron aumentada tanto en los neonatos (Biri et al, 2007), cómo en las placentas (Bosco et al, 2010), lo que indicaría que la GPox, y por tanto el EO, puede tener un papel importante en el CIR, ya que hay alteraciones en su concentración.

Por otro lado, para algunos autores las madres de los fetos pretérmino presentan una actividad enzimática placentaria de GPox mayor que las placentas de las madres con niños a término (Ahamed et al, 2009), mientras que para otros es menor (Zadrozna et al, 2009). La GPox es menor en los pretérmino que en los nacidos a término (Nassi et al, 2009), aunque es más alta en los pretérmino de género femenino que en el

masculino (Hamon et al, 2011). En la obesidad, la GPox se encuentra disminuida, tanto en adultos (Fernández-Sánchez et al, 2011), cómo en niños prepúberales (Ustundag et al, 2007). En los niños prepúberales con antecedentes de CER se observó que los niveles eritrocitarios de GPox se encontraban disminuidos respecto a niños prepúberales sanos (Figura 29B), por lo que el EO podría estar incrementado en estos niños, coincidiendo con la mayoría de trabajos publicados en relación con otros desórdenes metabólicos, mencionados anteriormente.

La GPox está disminuida en sujetos con SM (Yang et al, 2011). En el grupo de niños con antecedentes de CER participantes en este trabajo se observaron diversas correlaciones entre la peroxidasa y algunos de los componentes del SM. En el total de los niños prepúberales la GPox se asoció positivamente con el IMC y con el HDLc (resultados no mostrados), y sin embargo de forma negativa con la TAD (Tabla 20). Por el contrario, en los niños con antecedentes de CER, la GPox se correlacionó positivamente con la TAS. En el total de los niños prepúberales la GPox se correlaciona negativamente con la glucosa (datos no mostrados), mientras que en los niños con antecedentes de CER la enzima se asocia positivamente con la insulina y con el índice HOMA (Tablas 23 y 24). Estas relaciones ponen de manifiesto, que aunque sea la primera vez que se describen, también en los niños prepúberales y en los sujetos con antecedentes de CER, la GPox se relaciona con los componentes del SM, tal y como describen algunos trabajos.

En el total de los niños prepúberales la GPox se relaciona con algunos antioxidantes del SDA. Lo hace positivamente con la GR y con el retinol, mientras que las asociaciones son negativas con el β caroteno y con el tocoferol α (Tabla 27), lo que coincide con las concentraciones observadas de todos estos antioxidantes (Figuras 29 y 30), aunque no existan otros trabajos para compararlos, ya que es la primera vez que se describen. Cómo el EO se relaciona con la inflamación (Helmersson et al, 2009), esta enzima debería correlacionarse con algunos de sus biomarcadores. De hecho, tanto en los niños con antecedentes de CER como en el total de los prepúberes esta peroxidasa se correlaciona negativamente con la IL-8 (Tabla 27), ya que sus concentraciones son inversas. La GPox es estimulada por el TNF α (Hattori et al, 2005), aunque en los niños prepúberales la asociación observada fue negativa. El NGF puede aumentar la expresión de la GPox (Sampath et al, 1994), lo que coincide con la asociación observada en los

niños prepúberales de este trabajo. La GPox también se ha relacionado en este trabajo negativamente con el HGF y con el MCP1 (Tabla 27), coincidiendo con los niveles observados de todos estos biomarcadores, aunque es el primer trabajo que señala estas asociaciones.

V.7.2.1.4) Superóxido dismutasa

Los niveles placentarios de SOD aumentan a la vez que lo hace la gestación (Gitto et al, 2009). En las placentas de mujeres con preclampsia, factor de riesgo de CIR, los niveles de SOD están disminuidos respecto a los controles (Gitto et al, 2009; Zadrozna et al, 2009; Bosco et al, 2010). Por ello, el desarrollo del CIR se podría asociar con el descenso placentario de la actividad de la SOD. De hecho, algunos autores han observado que la actividad de la SOD es menor en los neonatos con CIR que en los controles, por lo que estos neonatos presentaban deficiencias en el SDA (Kumar et al, 2008; Hracsko et al, 2008), incluso se reduce hasta en un 60-65% (Gupta et al, 2004). Aunque también existen trabajos que han relacionado el CIR con el aumento de la actividad de la SOD (Biri et al, 2007). La mayoría de los autores defienden que la SOD, y por tanto el EO, puede tener una importante función en el CIR, aunque otros trabajos han observado que en muestras placentarias de madres con fetos con CIR la concentración y la actividad antioxidante de la SOD no mostraron diferencias significativas con los controles (Llanos et al, 2009).

En comparación con adultos sanos, los RN tienen una actividad reducida de la SOD en eritrocitos (Gitto et al, 2009). Además, los niveles de SOD son menores en los RN pretérmino que en los nacidos a término (Lee et al, 2005; Nassi et al, 2009), así como en las placentas de los fetos pretérmino para Zadrozna y colaboradores (2009), mientras que la actividad enzimática placentaria fue mayor para Ahamed y colaboradores (2009). Por el contrario, en los RN grandes para su EG se ha visto mayor actividad de SOD (Saker et al, 2008). En relación con la obesidad, tanto en los prepúberes (Ustundag et al, 2007), como en los adultos (Fernández-Sánchez et al, 2011), se han descrito concentraciones disminuidas de esta enzima respecto a los controles. Hasta el momento, no se han publicado artículos que valoren la concentración eritrocitaria de SOD en niños prepúberales con antecedentes de CER. Aunque en los

neonatos con CIR y en los prematuros parece que la SOD esta disminuida, incrementándose el EO, en este estudio no se observaron diferencias significativas entre los prepúberes con antecedentes de CER y los controles para la concentración de SOD (Figura 29D). Por lo que el aumento del EO en estos niños no se debería a esta enzima.

La SOD también esta disminuida en sujetos con SM, con el que se correlaciona inversamente (Yang et al, 2011). Sin embargo, en los niños prepuberales de este estudio se observó una asociación positiva entre la SOD y la TA, tanto con la TAS como con la TAD (Tabla 20). En los niños prepuberales la SOD se correlacionó negativamente con el MCP1 y con el NGF (Tabla 27), aunque en la bibliografía se ha descrito que este último estimula la transcripción de la SOD, afectando así al metabolismo mitocondrial, reduciendo la producción de EROs y estabilizando el gradiente electroquímico (Cassano et al, 2010).

V.7.2.2) Antioxidantes no enzimáticos

V.7.2.2.1) Tocoferola (vitamina E)

El incremento del peso fetal se correlaciona positivamente con los niveles plasmáticos de vitamina E (Gupta et al, 2004). En las mujeres con preclampsia, factor de riesgo de CIR, los niveles de vitamina E están disminuidos en comparación con las gestantes control (Gitto et al, 2009). Sin embargo, algunos trabajos han apuntado que las concentraciones plasmáticas de las madres con CIR son mayores que las de los controles (Ortega-Senovilla et al, 2009). Por otro lado, en los RN con CIR la mayoría de los trabajos han observado que, comparado con los RN de peso adecuado a su EG, los niveles plasmáticos de tocoferola están reducidos, por lo que estos neonatos presentan deficiencias en el SDA (Kumar et al, 2008; Saker et al, 2008; Kositamongkol et al, 2011). Sin embargo, algunos autores han afirmado que los RN a término con CIR tienen más vitamina E que los nacidos con peso adecuado a su EG (Lee et al, 2005). En los RN grandes para su EG en comparación con RN control, la concentración de vitamina E se encuentra reducida (Saker et al, 2008). En comparación con adultos sanos, los RN tienen menores niveles de vitamina E (Gitto et al, 2009), lo que podría indicar que el transporte a través de la placenta es inadecuado para mantener sus niveles plasmáticos

(Lee et al, 2005). En los RN, un menor consumo de leche materna se asocia a una mayor deficiencia de vitamina E (Kositamongkol et al, 2011).

En los niños prepuberales con antecedentes de CIR y que en la infancia alcanzaron el catch up de crecimiento, los niveles plasmáticos de tocoferol α están disminuidos respecto a los controles. La razón de este hallazgo es especulativa y se ha relacionado a una menor sensibilidad a la insulina (Mohn et al, 2007). Por otro lado, los niños prepuberales obesos también presentan disminución en los niveles de tocoferol α , en comparación con los niños control (Mohn et al, 2005 b). En los prepúberes con diabetes tipo 1, los niveles de tocoferol α están disminuidos. De hecho, la vitamina E mejora el EO asociado a la diabetes, mejorando también el SDA (Gupta et al, 2011). Sin embargo, aunque la mayoría de los trabajos publicados defienden que tanto en la etapa neonatal como prepuberal de los niños CIR, así como en la obesidad y en otras alteraciones metabólicas, los niveles plasmáticos de tocoferol α están disminuidos, en los niños con antecedentes de CER las concentraciones plasmáticas de esta vitamina se encontraron aumentados respecto a los controles prepuberales (Figura 30B, tabla 17), lo que podría ser debido a un mecanismo compensador.

Algunos autores defienden que el tocoferol α no presenta efecto sobre el SM en los adultos (Beydoun et al, 2011), mientras que otros han relacionado la suplementación con vitamina E con la mejora del metabolismo lipídico y glucídico, así como con la disminución de la TA (Shargorodsky et al, 2010). Incluso en la obesidad existen trabajos que afirman que no existen diferencias significativas respecto a los controles (D'Archivio et al, 2011). Tanto en los niños con antecedentes de CER como en el total de los prepuberales de este estudio se observaron correlaciones entre el tocoferol α y algunos de los componentes del SM. Esta vitamina mostró una asociación positiva con la TAS y TAD (Tabla 20) en el total de los niños, lo que concuerda con los resultados obtenidos en dichos parámetros, aunque no con el trabajo de Shargorodsky publicado en 2010. En el grupo de prepúberes con antecedentes de CER, el IMC se relacionó positivamente con el tocoferol α (Tabla 19) y con la glucosa (Tabla 22), mientras que en el total de los niños estudiados esta vitamina se correlacionó negativamente con la insulina y con el índice HOMA (resultados no mostrados).

En relación con otros antioxidantes exógenos, los niveles plasmáticos de vitamina E se han correlacionado positivamente con los de retinol, tanto en el total de los niños estudiados, como en los CER (Tabla 28). Este parámetro se ha relacionado en varios trabajos publicados con los biomarcadores de inflamación. Helmersson y colaboradores (2009) asociaron negativamente las concentraciones plasmáticas de esta vitamina con las de PCR e IL-6. En los niños prepuberales con antecedentes de CER los niveles de tocoferol α también se correlacionaron negativamente con los de IL-6, mientras que en el total de los prepúberes la asociación con la PCR fue positiva (Tabla 28). La vitamina E puede neutralizar los efectos del TNF α (Yano et al, 2000), sin embargo en los prepuberales la relación fue positiva. La vitamina E actúa contra la activación endotelial originada por el PAI1t, disminuyendo sus niveles en los pacientes con diabetes tipo 2, por lo que podría ser una protección endotelial (Bonfigli et al, 2001; Vignini et al, 2008). En los niños con antecedentes de CER la asociación también es negativa (Tabla 28). En este trabajo se observaron más relaciones positivas entre el tocoferol α y biomarcadores de inflamación que se describen por primera vez en la literatura; en los niños con antecedentes de CER con el HGF y en el total con la IL-8 y con el MCP1 (Tabla 28), lo que pone de manifiesto la gran relación entre esta vitamina y la inflamación, por lo que se podría explicar parcialmente la elevación observada en todos los biomarcadores de estos niños.

V.7.2.2.2) Retinol (vitamina A) y β caroteno

En el plasma de las madres CIR se han detectado mayores concentraciones de retinol que en los controles (Ortega-Senovilla et al, 2009). Debido a un inadecuado transporte de vitamina A de la madre al feto, al aumento de su utilización por parte del feto y al poco almacenaje en el mismo, los niveles de vitamina A en sangre de cordón de los fetos CIR están disminuidos en comparación con los controles (Rondó et al, 1997). En los RN con CIR (Lee et al, 2005; Kumar et al, 2008; Kositamongkol et al, 2011), así como en los grandes para su EG (Saker et al, 2008), la concentración de retinol también está reducida, por lo que estos neonatos presentan deficiencias en el SDA, y por tanto más EO y la suplementación sería necesaria. Los pretérmino tiene menores niveles plasmáticos de retinol que los RN a término (Lee et al, 2005), ya que presentan un menor almacenaje hepático de esta vitamina (Mactier et al, 2011). En la obesidad el

contenido de retinol es menor que en los controles (D'Archivio et al, 2011). En la infancia y adolescencia los niveles plasmáticos de esta vitamina muy frecuentemente se encuentran disminuidos (Sarni et al, 2002). En los niños prepuberales con antecedentes de CER, al igual que en el CIR y en la prematuridad, aunque en distintas etapas de la vida, los niveles plasmáticos de retinol se encontraban significativamente disminuidos respecto a los prepuberales sanos (Figura 30C), lo que indicaría que estos niños presentan deficiencias en el SDA, y por ello un mayor estado oxidativo.

El SM en los adultos se asocia con la disminución en la concentración plasmática de retinol (Beydoun et al, 2011). De hecho, aunque no se han descrito en otros trabajos asociaciones del retinol con los componentes del SM, en los niños prepuberales con antecedentes de CER esta vitamina se asoció positivamente con el IMC (Tabla 19), con la insulina (Tabla 23) y con el índice HOMA (Tabla 24). Por otro lado, aunque en este trabajo no se ha relacionado con otros antioxidantes, si lo ha hecho negativamente con algunos de los biomarcadores de inflamación, cómo con la PCR, HGF, MCP1 y TNF α (Tabla 28). Parece que es el primer trabajo que relaciona negativamente estos biomarcadores, por lo que a mayor inflamación, existe menor concentración plasmática de retinol, y por tanto mayor EO.

En relación con el β caroteno se ha observado que está presente en la leche materna. Sin embargo, no se añade habitualmente como suplemento de la NP, que es el mayor alimento de los pretérmino las primeras semanas de vida, por lo que sus niveles suelen estar reducidos. Su disminución se asocia al aumento de algunas patologías neonatales, como la BDP (Vogelsang et al, 2009). Los neonatos suplementados con β caroteno tienen los mismos niveles plasmáticos que los nacidos a término alimentados con leche materna (Rubin LP et al, 2011). En comparación con adultos sanos, los RN presentan menor concentración de este antioxidante (Gitto et al, 2009). Algunos autores han observado que la elevación en la concentración plasmática materna de β caroteno se asocia con una menor incidencia de partos pretérmino espontáneos (Kramer et al, 2009). En la obesidad hay menor contenido de β caroteno (D'Archivio et al, 2011). No se ha encontrado ningún trabajo que valore la concentración plasmática de β caroteno en niños con antecedentes de CIR o CER. En este trabajo, los niveles del mismo fueron significativamente mayores respecto a los controles prepuberales (Figura 30A, Tabla 17). Ya que este antioxidante es precursor de la vitamina A, que se encuentra

disminuida en los niños con antecedentes de CER, la elevación de β caroteno podría ser compensatoria, para intentar incrementar el SDA y así neutralizar el mayor estado oxidativo que parece coexistir con esta condición patológica.

El SM en los adultos se asocia con la disminución de β caroteno (Beydoun et al, 2011). De hecho, en los niños con antecedentes de CER este antioxidante se correlacionó negativamente con el IMC (Tabla 19). En el total de los niños prepuberales, la asociación observada entre el β caroteno con la TA, tanto TAS como TAD, fue positiva (Tabla 20). En el total de los niños prepuberales, así como en los que tienen antecedentes de CER, se destacó una relación positiva entre los niveles plasmáticos de β caroteno y tocoferol α (Tabla 28), lo que puede estar relacionado con sus concentraciones en estos niños y con su posible mecanismo compensador.

La inflamación crónica se relaciona positivamente con el EO, aunque el papel del β caroteno en la inflamación no está claro (Yen et al, 2009). En los prematuros la suplementación con β caroteno descende la inflamación (Rubin LP et al, 2011). Algunos autores han observado que la elevación de β caroteno se relaciona positivamente con la IL-8 y con el TNF α (Yen et al, 2009), así como con la PCR (Suzuki et al, 2010), lo que coincide con las asociaciones observadas en los niños prepuberales participantes en este trabajo (Tabla 28). Sin embargo, algunos trabajos han defendido que la PCR y la IL-8 se asocian de forma inversa a la ingesta de β caroteno (Chung et al, 2011). Por otro lado, la concentración de β caroteno se asocia negativamente con la de IL-6 (Suzuki et al, 2010; Muzakova et al, 2010), aunque en este trabajo no se obtuvo dicha correlación. Por el contrario, en los niños prepuberales el β caroteno se asoció positivamente con el HGF y con el MCP1, y aunque estas asociaciones es la primera vez que se describe, van en la línea de que este antioxidante se relaciona positivamente con la inflamación y esta a su vez con el aumento del EO. Por ello, en los niños prepuberales con antecedentes de CER deberían realizarse analíticas que valorasen los antioxidantes con el fin de mejorar esta condición patológica.

Conclusiones

VI) CONCLUSIONES

1. Los niños prepúberes con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado que han tenido una deficiencia nutricional severa en la etapa postnatal, presentan un menor crecimiento en la etapa pediátrica con percentiles más bajos que los niños sanos de su edad en peso y en talla.
2. Los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado tienen mayores valores de tensión arterial, tanto sistólica como diastólica e incluso, en un elevado porcentaje de ellos, en rangos de hipertensión arterial.
3. Las adipoquinas adiponectina y resistina en los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado muestran un patrón diferente respecto al grupo control con valores más bajos de adiponectina y más elevados de resistina. Esto indica que los cambios producidos en el tejido adiposo en la etapa neonatal pueden alterar la síntesis y/o la secreción de estas citoquinas en otras etapas de la infancia.
4. Los niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado presentan inflamación sistémica de bajo grado, al presentar elevación de parámetros inflamatorios como la proteína C reactiva, interleuquina 8, factor de crecimiento hepatocitario, marcador quimioatractivo de macrófagos tipo 1 y factor de necrosis tumoral alfa.
5. La condición del crecimiento extrauterino retrasado, incluso en la etapa prepuberal, condiciona un aumento del estrés oxidativo, que se manifiesta por la disminución de la concentración de algunos de los antioxidantes enzimáticos estudiados (catalasa y glutatión peroxidasa), así como por diferencias en los niveles de los antioxidantes exógenos no enzimáticos (β caroteno, retinol y tocoferol α) respecto al grupo control.
8. Los resultados y las correlaciones entre los diferentes biomarcadores analizados en este trabajo indican que en los niños con crecimiento extrauterino retrasado existen alteraciones del tejido adiposo, inflamación de bajo grado y estrés oxidativo que podrían condicionar un mayor riesgo de síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular.

CONCLUSIÓN GENERAL

El crecimiento extrauterino retrasado debido a una deficiencia nutricional severa y a la sobrealimentación con el fin de alcanzar un estado pondero-estatural similar al del niño sano ya en la etapa neonatal, parece condicionar cambios en la programación de distintas rutas metabólicas del tejido adiposo. Por ello, aunque la nutrición y la rápida ganancia de peso en la etapa neonatal de niños con retraso del crecimiento tienen efectos beneficiosos a corto plazo, hay que tener precaución en cuanto a las consecuencias metabólicas en etapas posteriores de la vida. Tras este trabajo realizado en la etapa prepuberal pueden observarse alteraciones descritas en el síndrome metabólico y en la enfermedad cardiovascular como la elevación de la tensión arterial, inflamación de bajo grado, alteraciones en el perfil de las adipoquinas y un aumento de estrés oxidativo. Dado que no existen estudios previos en niños con antecedentes de crecimiento extrauterino retrasado, este trabajo presenta por primera vez alteraciones de parámetros de riesgo en este grupo de niños condicionando la importancia de continuar la investigación y realizar un seguimiento en la edad pediátrica más estricto para poder prevenir enfermedades futuras asociadas.

Resumen

VII) RESUMEN

VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR, INFLAMACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN NIÑOS QUE FUERON RECIÉN NACIDOS CON RETRASO DEL CRECIMIENTO EXTRAUTERINO

Introducción: El término crecimiento extrauterino retrasado (CER), se refiere a recién nacidos pretérminos que desarrollan un déficit nutricional severo en las primeras semanas tras el nacimiento y se puede definir como un peso inferior al percentil (p) 3 en la 36 semana de edad gestacional corregida (EGC) y al alta de la unidad de Neonatología. Es una patología de gran relevancia clínica, aunque hasta la fecha no se ha considerado como tal. Se conoce que un elevado porcentaje de niños nacidos con retraso del crecimiento intrauterino (CIR) presentan alteraciones nutricionales y posteriormente, una mayor incidencia de patología metabólica y de enfermedad cardiovascular (ECV).

Hipótesis: Los niños con antecedentes de CER podrían presentar signos tempranos de inflamación de bajo grado, alteraciones en el tejido adiposo, patología metabólica como elevación de la tensión arterial (TA), así como un aumento del estrés oxidativo (EO), ya en la etapa prepuberal y esta situación podría estar relacionada con un mayor riesgo de enfermedad, como es el caso de la ECV, en etapas posteriores de la vida.

Objetivo: Determinar la relación que existe entre niños que tuvieron antecedentes de CER, y diferentes biomarcadores específicos de dislipidemia, daño oxidativo, inflamación, adipoquinas y riesgo de ECV en la etapa prepuberal.

Material y Métodos: Se establecieron dos grupos de estudio; uno de ellos, grupo CER, formado por 38 sujetos de ambos géneros, que cumplían los siguientes criterios de inclusión: pretérminos que en la semana 36 de EGC y al alta de la Unidad de Neonatología se encontraban con un peso $<p3$ para su edad gestacional, haber nacido entre 1996-2008, con peso al nacimiento igual o inferior a 1500 gramos, y sin presentar otra patología no asociada a su propia prematuridad. El grupo control lo conformaron 123 niños sanos de ambos géneros y edad similar, y sin antecedentes patológicos de interés. Los padres o tutores legales firmaron el consentimiento informado y el estudio

fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del hospital. Ambos grupos se encontraban en estado prepúberal según criterios clínicos (Tanner I).

Se evaluaron parámetros antropométricos y la TA. Se determinaron los niveles séricos de los marcadores bioquímicos básicos, enzimas hepáticas, perfil lipídico y marcadores del metabolismo hidrocarbonado en ambos grupos. También se cuantificaron niveles plasmáticos de adipocinas: adiponectina, resistina y leptina, y de los biomarcadores de inflamación como la proteína C reactiva (PCR), interleuquina 1 beta (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 8 (IL-8), factor de crecimiento hepatocitario (HGF), factor de crecimiento neural (NGF), marcador quimioatractivo de los macrófagos tipo 1 (MCP1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e inhibidor del factor activador del plasminógeno 1 total (PAI1t) para establecer diferencias entre el grupo con antecedentes de CER y el grupo control. Se evaluó el EO mediante la cuantificación de antioxidantes enzimáticos: catalasa, glutatión reductasa (GR), glutatión peroxidasa (GPox) y superóxido dismutasa (SOD) en eritrocitos lisados, y la determinación de antioxidantes exógenos en plasma: tocoferol α , retinol y β caroteno. En cuanto a la metodología, se utilizó el autoanalizador Architect[®] de Abbott Laboratorios, un Luminex[®] XMap[™] Technology Labscan[™] 100, el Advia 120 Hematology System de Bayer[®], un lector de microplacas Synergy HT de BIO-TEK[®] y un Cromatógrafo líquido de alta resolución de Waters [®]. En el análisis estadístico se realizaron análisis descriptivos para las distintas variables analizadas y comparaciones de los valores medios de las variables cuantitativas y de las proporciones entre los dos grupos. Para valorar la asociación entre las variables cuantitativas se realizaron análisis de correlación y se llevó a cabo un análisis factorial. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS18 [®].

Resultados: En los sujetos del grupo CER se observaron valores de peso, talla e índice de masa corporal significativamente menores que en el grupo control ($P < 0,001$) y mayores niveles de TA, tanto sistólica como diastólica ($P < 0,001$). El grupo CER presentó mayores niveles séricos de glucosa ($P < 0,001$) y menor concentración de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDLc) ($P < 0,001$). En cuanto a las adipocinas, en el grupo CER se observaron menores niveles de adiponectina y mayor concentración de resistina que en el grupo de niños sanos ($P < 0,001$). Los biomarcadores de inflamación PCR, HGF, IL-8, MCP1 y TNF α fueron

significativamente más elevados en los niños nacidos con CER respecto al grupo de niños sanos ($P < 0.001$). No se encontraron diferencias significativas para IL-6, NGF ni PAIIt. Respecto a las enzimas del sistema de defensa antioxidante (SDA), las concentraciones de catalasa y GPox en el grupo CER fueron estadísticamente menores que las del grupo control. Los antioxidantes exógenos β caroteno y tocoferol α presentaron mayores niveles en los niños pertenecientes al grupo CER que en los del grupo control, mientras que la concentración de retinol fue menor ($P < 0,001$ en todos los casos).

Discusión: Los principales resultados de este estudio indican que los niños con antecedentes de CER presentan menor crecimiento, alteraciones en los biomarcadores proinflamatorios, de EO y en las adipoquinas, así como valores de TA más elevados que los controles, presentando alteraciones metabólicas, inflamación de bajo grado y mayor riesgo de ECV ya en la etapa prepuberal. La vida fetal puede programar cambios en el tejido adiposo y en las distintas rutas metabólicas, condicionando el incremento del riesgo de ECV, hipertensión arterial (HTA), dislipidemia, resistencia a la insulina (RI), síndrome metabólico (SM) y diabetes tipo 2 en etapas posteriores de la vida. De hecho, en los niños con antecedentes de CIR se han descrito estas alteraciones. En la etapa postnatal del RN pretérmino, el uso de un soporte nutricional inadecuado se asocia con el aumento de la adiposidad, mayor acumulo de tejido adiposo visceral, y cambios en el adipocito. La rápida ganancia de peso postnatal con el fin de alcanzar el catch up de crecimiento lo antes posible se puede relacionar con alteraciones metabólicas. Por ello, la condición de ser CER podría ser en sí misma un mecanismo de programación para algunas patologías en etapas posteriores de la vida.

Conclusión: Los niños prepúberes con antecedentes de CER presentan un inadecuado crecimiento, elevación de la TA, alteraciones cualitativas en el tejido adiposo, inflamación de bajo grado y aumento del EO en la etapa prepuberal, indicando un mayor riesgo de patología en etapas posteriores de la vida. Es importante continuar la investigación de posibles alteraciones inflamatorias y metabólicas en la infancia, que hayan podido estar condicionadas por estados patológicos previos como el CER, y realizar un seguimiento en la edad prepuberal y en la adolescencia más estricto para poder prevenir enfermedades futuras.

Bibliografía

VII) BIBLIOGRAFÍA

- Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-6.
- Abbott Diagnostics España. www.abbottdiagnostics.es
- Advia®120 Hematology System. www.medical.siemens.com.
- Agirbasli M, Agaoglu NB, Ergonul O, Yagmur I, Aydogar H, Oneri T, Ozturk O. Comparison of anthropometric indices in predicting metabolic syndrome components in children. *Metab Syndr Relat Disord.* 2011. [Epub ahead of print].
- Ahamed M, Mehrotra PK, Kumar P, Siddiqui MK. Placental lead-induced oxidative stress and preterm delivery. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2009;27(1):70-4.
- Albertsson-Wikland K, Boguszewski M, Karlberg J. Children born small for gestational age: postnatal growth and hormonal status. *Horm Res.* 1998;49:7-13.
- Alberti G, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome- a new worldwide definition. *Lancet.* 2005;366(9491):1059-62.
- Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail MS, Alkharfy KM, Draz HM. Relationship between resistin and PAI-1 levels with insulin resistance in Saudi children. *Pediatr Int.* 2010;52(4):551-6.
- Aleffi S, Petrai I, Bertolani C, Parola M, Colombatto S, Novo E, Vizzutti F, Anania FA, Milani S, Rombouts K, Laffi G, Pinzani M, Marra F. Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells. *Hepatology.* 2005;42:1339-48.
- Alexe DM, Syridou G, Petridou ET. Determinants of early life leptin levels and later life degenerative outcomes. *Clin Med Res.* 2006;4:326–35.
- Allain CC, Poon LS, Chan CS. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 1974;20(4):470-5.
- Amarilyo G, Oren A, Mimouni FB, Ochshorn Y, Deutsch V, Mandel D. Increased cord serum inflammatory markers in small for gestational age neonates. *J Perinatol.* 2011;31(1):30-2.
- American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition: Nutritional needs of low-birth-weight infants. *Pediatrics.* 1985;75(5):976-86.
- Andersen LB, Riddoch C, Kriemler S, Hills A. Physical activity and cardiovascular risk factors in children. *Br J Sports Med.* 2011;45(11):871-6.
- Antua-Puente B, Fève B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diab Metab.* 2008;34(1):2-11.

- Arends B, Slump E, Spee B, Rothuizen J, Penning LC. Hepatocyte growth factor improves viability after H₂O₂-induced toxicity in bile duct epithelial cells. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2008;147(3):324-30.
- Arikan S, konukoglu D, Arikan C, Akcay T, Davas I. Lipid peroxidation and antioxidant status in maternal and cord blood. *Gynecol Obstet Invest*. 2001;51:145-9.
- Arnaiz P, Acevedo M, Barja S, Aglony M, Guzmán B, Cassis B, Carvajal J, Moreno M, Navarrete C, Berríos X. Adiponectin levels, cardiometabolic risk factors and markers of subclinical atherosclerosis in children. *Int J Cardiol*. 2010;138(2):138-44.
- Arnon S, Regev RH, Bauer S, Shainkin-Kestenbaum R, Shiff Y, Bental Y, Dolfín T, Litmanovitz I. Vitamin E Levels during Early Iron Supplementation in Preterm Infants. *Am J Perinatol*. 2009;26(5):387-92.
- Artiss JD, Vinogradov S, Zak B. Spectrophotometric study of several sensitivity reagents for serum iron. *Clin Biochem*. 1981;14(6):311-5.
- Aygun AD, Gungor S, Ustundag B, Gurgoze MK, Sen Y. Proinflammatory cytokines and leptin are increased in serum of prepubertal obese children. *Mediators Inflamm*. 2005;14(3):180-3.
- Bakker G, Erk M, Pellis L, Wopereis S, Rubingh C, Cnubben N, Kooistra T, Ommen B, Hendriks H. An antiinflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91:1044-59.
- Bakker R, Steegers EA, Hofman A, Jaddoe VW. Blood pressure in different gestational trimesters, fetal growth, and the risk of adverse birth outcomes: The generation R study. *Am J Epidemiol*. 2011. [Epub ahead of print].
- Ballard PL, Truog WE, Merrill JD, Gow A, Posencheg M, Golombek SG, Parton LA, Luan X, Cnaan A, Ballard RA. Plasma biomarkers of oxidative stress: relationship to lung disease and inhaled nitric oxide therapy in premature infants. *Pediatrics*. 2008;121:555-61.
- Ballatori N, Krance SM, Notenboom S, Shi S, Tieu K, Hammond CL. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol Chem*. 2009;390(3):191-214.
- Battino M, Leone L, Bompadre S. High-performance liquid chromatography-EC assay of mitochondrial coenzyme Q₉, coenzyme Q₉H₂, coenzyme Q₁₀, coenzyme Q₁₀H₂, and vitamin E with a simplified on-line solid-phase extraction. *Methods Enzymol*. 2004;378:156-62.

- Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*. 1993;36:62–7.
- Barker DJ. The developmental origins of chronic adult disease. *Acta Paediatr*. 2004;93:26-33.
- Barker DJ. Introduction: the window of opportunity. *J Nutr*. 2007;137:1058-9.
- Barnett AH. The importance of treating cardiometabolic risk factors in patients with type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2008;5:9-14.
- Baykal C, Güler G, Al A, Tulunay G, Ozer S, Yencilek R, Bülbül D, Ayhan A. Expression of hepatocyte growth factor/scatter factor receptor in IUGR fetuses' placentas: an immunohistochemical analysis. *Fetal Diagn Ther*. 2005;20(4):249-53.
- Belfort MB, Gillman MW, McCormick MC. Prenatal and perinatal predictors of blood pressure at school age in former preterm, low birth weight infants. *J Perinatol*. 2011. [Epub ahead of print].
- Bell LN, Ward JL, Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Jones R, Cacucci BM, Gupta CE, Sheridan C, Sheridan K, Shankar SS, Steinberg HO, March KL, Considine RV. Adipose tissue production of hepatocyte growth factor contributes to elevated serum HGF in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;291(4):843-8.
- Ben SF, Boujmil A, Dekhil I, Trimeche A, Gaouar C, Ben MC, Achour N, Zouari B, Achour A, Bel O. Vitamins A, E and leptin in obese and non-insulin-dependent diabetes. *Tunis Med*. 2009;87(11):726-30.
- Bennett B, Larson-Meyer DE, Ravussin E, Volaufova J, Soros A, Cefalu WT, Chalew S, Gordon S, Smith SR, Newcomer BR, Goran M, Sothorn M. Impaired insulin sensitivity and elevated ectopic fat in healthy obese vs. nonobese prepubertal children. *Obesity (Silver Spring)*. 2011. [Epub ahead of print].
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2005;96:939-49.
- Beringue F, Blondeau B, Castellotti MC, Breant B, Czernichow P, Polak M. Endocrine pancreas development in growth-retarded human fetuses. *Diabetes*. 2002;51:385–91.
- Bertino E, Coscia A, Boni L, Rossi C, Martano C. Weight growth velocity of very low birth weight infants: role of gender, gestational age and major morbidities. *Early Hum Dev*. 2009;85:339–47.
- Beydoun MA, Shroff MR, Chen X, Beydoun HA, Wang Y, Zonderman AB. Serum antioxidant status is associated with metabolic syndrome among U.S. adults in recent national surveys. *J Nutr*. 2011;141(5):903-13.

- Bhuiyan AR, Srinivasan SR, Chen W, Azevedo MJ, Berenson GS. Influence of low birth weight on C-reactive protein in asymptomatic younger adults: the bogalusa heart study. *BMC Res Notes*. 2011;21:4-71.
- Bie HMA, Oostrom JK, Delemarre-Van de Wall HA. Brain development, intelligence and cognitive outcome in children born small for gestacional age. *Horm Res Paediatr*. 2010;73:6-14.
- Biri A, Bozkurt N, Turp A, Kavutcu M, Himmetoglu O, Durak I. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest*. 2007;64(4):187-92.
- Blanco Quirós A, Garrote JA, Arranz E. Acciones de la leptina de interés pediátrico. *Bol Pediatr*. 2000;40:138-46.
- Bloom B, Mulligan J, Arnold C, Ellis S, Moffitt S, Rivera A, Kunamneni S, Thomas P, Clark R, Peabody J. Improving growth of very low birth weight infants in the first 28 days. *Pediatrics*. 2003;112:8-14.
- Blumel B, Flores M, González JA, Arraztoa JA. ¿Es el HOMA un instrumento adecuado para el diagnóstico de insulino resistencia en pacientes con síndrome de ovario poliquístico? *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2005;70(5):346-51.
- Bo S, Gambino R, Gentile L, Pagano G, Rosato R, Saracco GM, Cassader M, Durazzo M, Cavallo-Perin P. High-normal blood pressure is associated with a cluster of cardiovascular and metabolic risk factors: a population-based study. *J Hypertens*. 2009;27:102-8.
- Boguszewski M, Dahlgren J, Bjarnason R, Rosberg S, Carlsson LM, Carlsson B, Albertsson-Wikland K. Serum leptin in short children born small for gestational age: relationship with the growth response to growth hormone treatment. *Eur J Endocrinol*. 1997;137(4):387-95.
- Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. Metabolic syndrome in childhood: association with birthweight, maternal obesity, and gestacional diabetes mellitus. *Pediatrics*. 2005;115:290-6.
- Bonfigli AR, Pieri C, Manfrini S, Testa I, Sirolla C, Ricciotti R, Marra M, Compagnucci P, Testa R. Vitamin E intake reduces plasminogen activator inhibitor type 1 in T2DM patients. *Diabetes Nutr Metab*. 2001;14(2):71-7.
- Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol*. 2005;174:5789-95.
- Bosco C, Buffet C, Díaz E, Rodrigo R, Morales P, Barja P, Terra R, Parra-Cordero M. VEGF in the muscular layer of placental blood vessels: immuno-expression in preeclampsia and intrauterine growth restriction and its association with the antioxidant status. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2010;8(2):87-95.

- Boutsikou T, Mastorakos G, Kyriakakou M, Margeli A, Hassiakos D, Papassotiriou I, Kanaka-Gantenbein C, Malamitsi-Puchner A. Circulating levels of inflammatory markers in intrauterine growth restriction. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:790605.
- Bozzola E, Meazza C, Arvigo M, Travaglino P, Pagani S, Stronati M, Gasparoni A, Bianco C, Bozzola M. Role of adiponectin and leptin on body development in infants during the first year of life. *Ital J Pediatr.* 2010;36:26.
- Braake F, Shierbeek H, Groof K, Vermes A, Longini M, Buonocore G, Goudoever J. Glutathione synthesis rates after amino acid administration directly after birth in preterm infants. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:333-9.
- Brambilla P, Lissau I, Flodmark CE, Moreno LA, Widhalm K, Wabitsch M, Pietrobelli A. Metabolic risk-factor clustering estimation in children: to draw a line across pediatric metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond).* 2007;31:591-600.
- Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Papadopoulos G, Gourgiotis D, Puchner P, Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A. Perinatal plasma monocyte chemoattractant protein-1 concentrations in intrauterine growth restriction. *Mediators Inflamm.* 2007; 65032-7.
- Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Gourgiotis D, Marmarinos A, Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A. Perinatal changes of plasma resistin concentrations in pregnancies with normal and restricted fetal growth. *Neonatology.* 2008;93:153-7.
- Briana DD, Malamitsi-Puchner A. Intrauterine growth restriction and adult disease: the role of adipocytokines. *Eur J Endocrinol.* 2009;160:337-47.
- Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordignon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine.* 2010;37:11-32.
- Bulló M, Peeraully MR, Trayhurn P, Folch J, Salas-Salvadó J. Circulating nerve growth factor levels in relation to obesity and the metabolic syndrome in women. *Eur J Endocrinol.* 2007;157:303-10.
- Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders. 1994.
- Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders. 2001.
- Burton GJ. Oxygen, the janus gas: its effects on human placental development and function. *J Anat.* 2009;215(1):27-35 (a).
- Burton GJ, Yung HW, Cindrova-Davies T, Charnock-Jones DS. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta.* 2009;30:43-8 (b).

- Caja S, Martínez I, Abelenda M, Puerta M. Resistin expression and plasma concentration peak at different times during pregnancy in rats. *J Endocrinol.* 2005;185:551-9.
- Carazo A, León J, Casado J, Gila A, Delgado S, Martín A, Sanjuan L, Caballero T, Muñoz JA, Quiles R, Ruiz-Extremera A, Alcázar LM, Salmerón J. Hepatic expression of adiponectin receptors increases with non-alcoholic fatty liver disease progression in morbid obesity in correlation with glutathione peroxidase 1. *Obes Surg.* 2011;21(4):492-500.
- Carbajal Azcona A. Base de datos e información nutricional del programa de composición de alimentos Kellogg's. TM®, Kellogg Company©. www.kelloggs.es/nutricion/index.php. 2011.
- Carrillo Fernández L, Dalmau Serra J, Martínez Álvarez JR, Solà Alberich R, Pérez Jiménez F. Dietary fats and cardiovascular health. *An Pediatr (Barc).* 2011;74(3):1-16.
- Carlberg E and Mannervik A. Glutathione reductase. *Method Enzimol.* 1985;113:484-95.
- Carlo WA, McDonald SA, Tyson JE, Stoll BJ, Ehrenkranz RA, Shankaran S, Goldberg RN, Das A, Schendel D, Thorsen P, Skogstrand K, Hougaard DM, Oh W, Laptook AR, Duara S, Fanaroff AA, Donovan EF, Korones SB, Stevenson DK, Papile LA, Finer NN, O'Shea TM, Poindexter BB, Wright LL, Ambalavanan N, Higgins RD. Cytokines and neurodevelopmental outcomes in extremely low birth weight infants. *J Pediatr.* 2011. [Epub ahead of print].
- Carrascosa Lezcano A, Fernández García FM, Fernández Ramos C, Ferrández Longás A, López-Siguero JP, Sánchez González E, Sobradillo Ruiz B, Yeste Fernández Y. Estudio transversal español de crecimiento 2008. Parte II: valores de talla, peso e índice de masa corporal desde el nacimiento a la talla adulta. *An Pediatr (Barc).* 2008;68(6):552-69 (a).
- Carrascosa Lezcano A, Fernández JM, Fernández C, Ferrández A, López-Sillero JP, Sánchez E. Estudio transversal español de crecimiento 2008. N° Programa: 389. www.congresoae.org/2008/agenda/docs/14504.pdf (b).
- Carrascosa Lezcano A, Ferrández Longás A, Yeste Fernández D, García-Dihinx Villanova J, Romo Montejo A, Copil Copil A, Almar Mendoza J, Salcedo Abizanda S, Gussinyé Canadell M, Baguer Mor L. Estudio transversal español de crecimiento 2008. Parte I: valores de peso y longitud en recién nacidos de 26-42 semanas de edad gestacional. *An Pediatr (Barc).* 2008;68(6):544-51 (c).
- Carrascosa Lezcano A, Fernández JM, Fernández C, Ferrández A, López-Sillero JP, Sánchez E. Estudios españoles de crecimiento 2008. Nuevos patrones antropométricos. *Endocrinol Nutr.* 2008;55(10):484-506 (d).
- Cassano S, Agnese S, D'Amato V, Papale M, Garbi C, Castagnola P, Ruocco MR, Castellano I, De Vendittis E, Santillo M, Amente S, Porcellini A, Avvedimento EV.

- Reactive oxygen species, Ki-Ras, and mitochondrial superoxide dismutase cooperate in nerve growth factor-induced differentiation of PC12 cells. *J Biol Chem.* 2010;285(31):24141-53.
- Cawthorn WP, Sethi JK. TNF- α and adipocyte biology. *FEBS Letters.* 2008;582:117-31.
- Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Belloti M. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res.* 2000;48(5):646-51.
- Chaldakov G. The metabotropic NGF and BDNF: an emerging concept. *Arch Ital Biol.* 2011;149(2):257-63.
- Challa AS, Evagelidou EN, Cholevas VI, Kiortsis DN, Giapros VI, Drougia AA, Andronikou SK. Growth factors and adipocytokines in prepubertal children born small for gestational age: relation to insulin resistance. *Diabetes Care.* 2009;32(4):714-9.
- Chan PY, Morris JM, Leslie GI, Kelly PJ, Gallery ED. The long-term effects of prematurity and intrauterine growth restriction on cardiovascular, renal, and metabolic function. *Int J Pediatr.* 2010;2010:280402.
- Chantry CJ, Nommsen-Rivers LA, Peerson JM, Cohen RJ, Dewey KG. Excess weight loss in first-born breastfed newborns relates to maternal intrapartum fluid balance. *Pediatrics.* 2011;127(1):171-9.
- Charo IF, Taubman MB. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res.* 2004;95:858-66.
- Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med.* 2006;354:610-21.
- Chen CC, Li TC, Li CI, Liu CS, Wang HJ, Lin CC. Serum resistin level among healthy subjects: relationship to anthropometric and metabolic parameters. *Metabolism.* 2005;54:471-5.
- Chen CC, Jiang J, Lü JM, Chai H, Wang X, Lin PH, Yao Q. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299(1):193-201.
- Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, Kelley DE, Friedman-Einat M, Skibinski GA, McCrory MA, Szalai AJ, Zhao AZ. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. *Nat Med.* 2006;12:425-32.
- Cheung BM, Ong KL, Tso AW, Leung RY, Cherny SS, Sham PC, Thomas GN, Lam TH, Lam KS. Relationship of Plasma Interleukin-6 and Its Genetic Variants With Hypertension in Hong Kong Chinese. *Am J Hypertens.* 2011. [Epub ahead of print].

- Chiarelli F, Marcovecchio ML. Insulin resistance and obesity in childhood. *Eur J Endocrinol.* 2008;159:67-74.
- Chiavaroli V, Giannini C, D'Adamo E, Giorgis T. Insulin resistance and oxidative stress in children born small and large for gestational age. *Pediatrics* 2009; 124:695-702.
- Chudek J, Wiecek A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. *Pharmacological Reports.* 2006;58:81-8.
- Chung HK, Kim OY, Lee H, Do HJ, Kim YS, Oh J, Kang SM, Shin MJ. Relationship between dietary folate intake and plasma monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in heart failure patients. *J Clin Biochem Nutr.* 2011;49(1):62-6.
- Cianfarani S, Germani D, Branca F. Low birthweight and adult insulin resistance: the catch-up growth hypothesis. *Arc Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1999;81:71-3.
- Cianfarani S, Martinez C, Maiorana A, Scire G, Spadoni GL, Boemi S. Adiponectin levels are reduced in children born small for gestational age and are inversely related to postnatal catch-up growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:1346-51.
- Clark RH, Wagner CL, Merritt RJ, Bloom BT, Neu J, Young TE, Clark DA. Nutrition in the neonatal intensive care unit: how do we reduce the incidence of extrauterine growth restriction? *J Perinatol.* 2003;23:337-44 (a).
- Clark RH, Thomas P, Peabody J. Extrauterine growth restriction remains a serious problem in the prematurely born neonates. *Pediatrics.* 2003;111:986-90 (b).
- Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins. *Diabetologia.* 2003;46:459-69.
- Codoñer-Franch P, Tavárez-Alonso S, Murria-Estal R, Megías-Vericat J, Tortajada-Girbés M, Alonso-Iglesias E. Nitric oxide production is increased in severely obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation. *Atherosclerosis.* 2011;215(2):475-80.
- Cooke RJ, Griffin I. Altered body composition in preterm infants at hospital discharge. *Acta Paediatr.* 2009;98(8):1269-73.
- Cooke RJ, Griffin IJ, McCormick K. Adiposity is not altered in preterm infants fed with a nutrient-enriched formula after hospital discharge. *Pediatr Res.* 2010;67(6):660-4.
- Combs TP, Pajvani UB, Berg AH, Lin Y, Jelicks LA, Laplante M, Nawrocki AR, Rajala MW, Parlow AF, Cheeseboro L, Ding YY, Russell RG, Lindemann D, Hartley A, Baker GR, Obici S, Deshaies Y, Ludgate M, Rossetti L, Scherer PE. A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. *Endocrinol.* 2004;145:367-83.

- Costas M, Domínguez S, Giambruno G, Martell M. Morbimortalidad y crecimiento de los niños con muy bajo peso al nacer hospitalizados. *Arch Pediatr Urug.* 2005; 76(4):289-304.
- Crosby WH, Munn JI, Furth FW. Standardizing a method for clinical hemoglobinometry. *U S Armed Forces Med J.* 1954;5(5):693-703.
- Curtis De M, Rigo J. Extrauterine growth restriction in very-low-birthweight infants. *Acta Paediatr.* 2004;93:1563-8.
- Dalfrà MG, Pacini G, Parretti E, Ragazzi E, Mello G, Lapolla A. Elevated insulin sensitivity and β -cell function during pregnancy in mothers of growth-restricted newborns. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301(1):25-30.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006;52(4):601-23.
- Dalmau J, Alonso M, Gómez L, Martínez C, Sierra C. Obesidad Infantil. Recomendaciones del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. Parte II. Diagnóstico. Comorbilidades. Tratamiento. *An Pediatr (Barc).* 2007;66:294-304.
- D'Archivio M, Annuzzi G, Vari R, Filesi C, Giacco R, Scazzocchio B, Santangelo C, Giovannini C, Rivellese AA, Masella R. Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. *Eur J Clin Invest.* 2011. [Epub ahead of print].
- Darendeliler F, Bas F, Bundak R, Coban A, Sancakli O, Eryilmaz SK, Kucukemre B, Disci R, Gokay G, Aki S, Ince Z, Eskiuyurt N. Insulin resistance and body composition in preterm born children during prepubertal ages. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;68(5):773-9.
- Davis JM, Auten RL. Maturation of the antioxidant system and the effects on preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010;15(4):191-5.
- Dawnay AB, Hirst AD, Peny DE, Chambers RE. A critical assessment of current analytical methods for the routine assay of serum total protein and recommendations for their improvement. *Ann Clin Biochem.* 1991;28:556-67.
- Davidge ST, Morton JS, Rueda-Clausen CF. Oxygen and perinatal origins of adulthood diseases: is oxidative stress the unifying element? *Hypertension.* 2008;52:808-10.
- Deng HZ, Li YH, Su Z, Ma HM, Huang YF, Chen HS, Du ML. Association between height and weight catch-up growth with insulin resistance in pre-pubertal chinese children born small for gestational age at two different ages. *Eur J Pediatr.* 2011;170(1):75-80.

- Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444:881–7.
- Dessi A, Atzori L, Noto A, Visser G, Hille A, Gazzolo D, Zanardo V, Barberini L, De Magistris A, Puddu M, Ottonello G, Atzei A, Lussu M, Murgia F, Fanos V. Metabolomics in newborns with intrauterine growth retardation (IUGR): urine reveals markers of metabolic syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011. [Epub ahead of print].
- Díez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol*. 2003;148:293-300.
- Dimitrijevic-Sreckovic V, Colak E, Djordjevic P, Gostiljac D, Sreckovic B, Popovic S, Canovic F, Ilic M, Obrenovic R, Vukcevic V, Nikolic D, Nisic T, Milic G, Pejcic G. Prothrombotic factors and reduced antioxidative defense in children and adolescents with pre-metabolic and metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45:1140-4.
- Djiane J, Attig L. Role of leptin during perinatal metabolic programming and obesity. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59(1):5-63.
- Dorn C, Robel-Tillig E. Prospective comparison of term small-for-gestational-age and appropriate-for-gestational-age neonates during the first month of life. *Klin Padiatr*. 2011;223(2):65-9.
- Doumas BT, Biggs HG. Determination of serum albumin. In standard methods of clinical chemistry. GA Cooper, Ed, Academic Press, Inc., New York, 1972;7:175.
- Drake AJ, Tang JI, Nyirenda MJ. Mechanisms underlying the role of glucocorticoids in the early life programming of adult disease. *Clin Sci (Lond)*. 2007; 13:219-32.
- Dulloo AG, Jacquet J, Montani JP. Pathways from weight fluctuations to metabolic diseases: focus on maladaptive thermogenesis during catch-up fat. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26(2):46–57.
- Dulloo AG. Regulation of fat storage via suppressed thermogenesis: a thrifty phenotype that predisposes individuals with catch-up growth to insulin resistance and obesity. *Horm Res*. 2006;65(3):90–7.
- Dunger DB, Petry CJ, Ong KK. Genetic variations and normal fetal growth. *Horm Res*. 2006;65(3):34–40.
- Dusick AM, Poindexter BB, Ehrenkranz RA. Growth failure in the preterm infants: can we catch up?. Catch up growth during childhood among very low birth weight children. *Semin Perinatol*. 2003;27:302-10.

- Earley MC, Vogt RF, Shapiro HM, Mandy FF, Kellar KL, Bellisario R, Pass KA, Marti GE, Stewart CC, Hannon WH. Report from a workshop on multianalyte microsphere assays. *Cytometry*. 2002;15;50(5):239-42.
- Embleton N, Pang N, Cooke R. Postnatal malnutrition and growth retardation: an inevitable consequence of current recommendations in preterm infants? *Pediatrics*. 2001;107:270-3.
- Ehrenkranz RA, Younes N, Lemons JA, Fanaroff AA, Donovan EF, Wright LL, Katsikiotis V, Tyson JE, Oh W, Shankaran S, Bauer CR, Korones SB, Stoll BJ, Stevenson DK, Papile LA. Longitudinal growth of hospitalized very low birth weight infants. *Pediatrics*. 1999;104(2):280-9.
- Ehrenkranz RA. Early nutritional support and outcomes in ELBW infants. *Early Hum Dev*. 2010;86:21-5.
- Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, Winter PD, Osmond C, Barker DJ. Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. *BMJ*. 1999;318:427-31.
- Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker DJ. Early adiposity rebound in childhood and risk of type 2 diabetes in adult life. *Diabetologia*. 2003;46:190-4.
- Ernst D K, Radmacher G P, Radmacher G P, Rafail T S, Adamkin H D. Postnatal malnutrition of extremely low birthweight infants with catch-up growth postdischarge. *J Perinatol*. 2003;23:477-82.
- Euser AM, Dekker FW, Hallan SI. Intrauterine growth restriction: no unifying risk factor for the metabolic syndrome in young adults. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2010;17(3):314-20.
- Evangelidou EN, Giapros VI, Challa AS, Kiortsis DN, Tsatsoulis AA, Andronikou SK. Serum adiponectin levels, insulin resistance, and lipid profile in children born small for gestational age are affected by the severity of growth retardation at birth. *Eur J Endocrinol*. 2007;156:271-7.
- Evangelidou EN, Giapros VI, Challa AS, Cholevas VK, Vartholomatos GA, Siomou EC, Kolaitis NI, Bairaktari ET, Andronikou SK. Prothrombotic state, cardiovascular, and metabolic syndrome risk factors in prepubertal children born large for gestational age. *Diabetes Care*. 2010;33(11):2468-70.
- Fabiny DL, Ertingshasen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CentrifChem. *Clin Chem*. 1971;17:696-700.
- Fabricius-Bjerre S, Jensen RB, Faerch K, Larsen T, Molgaard C, Michaelsen KF, Vaag A, Greisen G. Impact of birth weight and early infant weight gain on insulin resistance and associated cardiovascular risk factors in adolescence. *PLoS One*. 2011;6(6):20595.

- Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm.* 2006;74:443-77.
- Faintuch J, Yamaguchi CM, Dias MC, Santo MA, Faintuch JJ, Ceconello I. Biochemical correlates of bariatric-responsive diabetes. *Diabetes Technol Ther.* 2010;12(9):707-15.
- Fanaro S. Which is the ideal target for preterm growth? *Minerva Pediatr.* 2010;62(1):77-82.
- Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol.* 2000;68:437-46.
- Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:911-9.
- Faulhaber FR, Silveira RC, Vargas AP, Procianoy RS. Chemokines plasma levels in preterm newborns of preeclamptic mothers. *Cytokine.* 2011. [Epub ahead of print].
- Favier A. Oxidative stress in human diseases. *Ann Pharm Fr.* 2006;64(6):390-6.
- Fargnoli JL, Sun Q, Olenczuk D, Qi L, Zhu Y, Hu FB, Mantzoros CS. Resistin is associated with biomarkers of inflammation while total and high-molecular weight adiponectin are associated with biomarkers of inflammation, insulin resistance, and endothelial function. *Eur J Endocrinol.* 2010;162:281-8.
- Felipe F, Bonet ML, Ribot y Palou A. Modulation of resistin expresión by retinoic acid and vitamina A status. *Diabetes.* 2004;53:882-9.
- Felipe F, Mercader J, Ribot J, Palou A, Bonet ML. Effects of retinoic acid administration and dietary vitamin A supplementation on leptin expression in mice: lack of correlation with changes of adipose tissue mass and food intake. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1740(2):258-65.
- Ferdynus C, Quantin C, Abrahamowicz M, Platt R, Burguet A, Sagot P, Binquet C, Gouyon JB. can birth weight standards based on healthy populations improve the identification of small-for-gestational-age newborns at risk of adverse neonatal outcomes? *Pediatrics.* 2009;123:723-30.
- Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, Durante-Montiel I, Sánchez-Rivera G, Valadez-Vega C, Morales-González JA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2011;12:3117-32.
- Figueras F, Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(4):288-300.

- Finken MJ, Meulenbelt I, Dekker FW, Frölich M, Walther FJ, Romijn JA, Slagboom PE, Wit JM. Abdominal fat accumulation in adults born preterm exposed antenatally to maternal glucocorticoid treatment is dependent on glucocorticoid receptor gene variation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011. [Epub ahead of print].
- Flohe L, Günzler WA. Assays for glutathione peroxidase. *Method Enzymol.* 1984;105:114-21.
- Forman DT, Parker SL. The measurement and interpretation of serum ferritin. *Ann Clin Lab Sci.* 1980;10(4):345-50.
- Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4 aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem.* 1980;26(2):227-31.
- Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxidase. *Clin Chem.* 1982;28:2077-80.
- Fowden AL, Giussani DA, Forhead AJ. Endocrine and metabolic programming during intrauterine development. *Early Human Dev.* 2005;81:723-34.
- Franco MCP, Nigro D, Fortes ZB, Tostes R, Carvalho MH, Rodrigues Lucas SR, Gomes N, Machado Coimbra T, Zaladek Gil F. Intrauterine undernutrition-renal and vascular origin of hipertensión. *Cardiovasc Res.* 2003;60:228-34.
- Frankel S, Elwood P, Sweetnam P, Yarnell J, Smith GD. Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary heart disease. *Lancet.* 1996;348:1478-801.
- Freedman DS, Dietz WH, Tang R, Mensah GA, Bond MG, Urbina EM, Srinivasan S, Berenson GS. The relation of obesity through-out life to carotid intima-media thickness in adulthood: the bogalusa heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28:159-66.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.
- Frosali S, Di Simplicio P, Perrone S, Di Giuseppe D, Longini M, Tanganelli D, Buonocore G. Glutathione recycling and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of term and preterm newborns at birth. *Biol Neonate.* 2004;85(3):188-94.
- Frühbeck G. Intracellular signaling pathways activated by leptin. *Biochem J.* 2006;393:7-20.
- Galcheva SV, Iotova VM, Yotov YT, Bernasconi S, Street ME. Circulating proinflammatory peptides related to abdominal adiposity and cardiometabolic risk factors in healthy prepubertal children. *Eur J Endocrinol.* 2011;164(4):553-8.

- Garite T, Clark R, Thorp J. Intrauterine growth restriction increases morbidity and mortality among premature neonates. *Am J Obstetand Gynecol.* 2004;191;481-7.
- Gatford KL, Simmons RA, De Blasio MJ, Robinson JS, Owens JA. Review: placental programming of postnatal diabetes and impaired insulin action after IUGR. *Placenta* 2010;24:60-5.
- Gharib N, Rasheed P. Energy and macronutrient intake and dietary pattern among school children in Bahrain: a cross-sectional study. *Nutr J.* 2011;10:62.
- Giannini C, Mohn A, Chiarelli F. Physical exercise and diabetes during childhood. *Acta Biomed.* 2006;77(1):18-25.
- Gianni ML, Roggero P, Taroni F, Liotto N, Piemontese P, Mosca F. Adiposity in small for gestational age preterm infants assessed at term equivalent age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2009;94(5):368-72.
- Giapros V, Evangelidou E, Challa A, Kiortsis D, Drougia A, Andronikou S. Serum adiponectin and leptin levels and insulin resistance in children born large for gestational age are affected by the degree of overweight. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;66(3):353-9.
- Gilardini L, McTernan PG, Girola A, da Silva NF, Alberti L, Kumar S, Invitti C. Adiponectin is a candidate marker of metabolic syndrome in obese children and adolescents. *Artherosclerosis.* 2006;189:401-7.
- Gil-Campos M, Cañete R, Gil A. Hormones regulating lipid metabolism and plasma lipids in childhood obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;3:75-80 (a).
- Gil-Campos M, Cañete R, Gil A. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. *Clin Nutr.* 2004;23:963-74 (b).
- Gil-Campos M, Aguilera CM, Cañete R, Gil A. Uric acid is associated with features of insulin resistance syndrome in obese children at prepubertal stage. *Nutr Hosp.* 2009;4:607-13.
- Gil-Campos M, Ramírez Tortosa MC, Aguilera CM, Cañete R, Gil A. Fasting and postprandial adiponectin alterations anticipate NEFA and TNF- α changes in prepubertal obese children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(1):62-8.
- Gil Hernandez A. Capítulo 2; Ingestas dietéticas de referencia, objetivos nutricionales y guías; 31-65. Leis R. Capítulo 9; Nutrición del niño de 1-3 años, preescolar y escolar; 227-56. *Tratado de nutrición. Tomo 3. Nutrición humana en el estado de salud.* Editor A. Gil Hernández. 2ª Edición. Editorial Panamericana. 2010.
- Gitto E, Pellegrino S, Gitto P, Barberi I, Reiter R. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. *J. Pineal Res.* 2009;46:128-39.

- Giugliano D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc.* 2000;10(1):38-44.
- Gnacinska M, Malgorzewicz S, Stojek M, Lysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Role of adipokines in complications related to obesity. A review. *Avances in Medical Sciences.* 2009;54(2):150-157.
- Goldenberg R L, Culhene J F. Infection as a cause of preterm birth. *Clin Perinat.* 2003; 30:677-700.
- Gómez-Ambrosi J, Frühbeck G. Evidence for the involvement of resistin in inflammation and cardiovascular disease. *Curr Diabetes Rev.* 2005;1:227-34.
- González-Barranco J, Ríos-Torres JM, Castillo-Martínez L, López-Alvarenga JC, Aguilar-Salinas CA, Bouchard C, Deprés JP, Tremblay A. Effect of malnutrition during the first year of life on adult plasma insulin and glucose tolerance. *Metabolism.* 2003;52:1005-11.
- González-Barranco J, Ríos-Torres JM. Early malnutrition and metabolic abnormalities later in life. *Nutr Rev.* 2004;62(7):134-9.
- Gopinath B, Hardy LL, Teber E, Mitchell P. Association between physical activity and blood pressure in prepubertal children. *Hypertens Res.* 2011;34(7):851-5.
- Gortnel L. Intrauterine growth restriction and risk for arterial hypertension: a causal relationship? *J Perinat Med.* 2007;35 (5):361-5.
- Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell.* 2010;1(10):888-97.
- Greenberg A, Obin M. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:461-5.
- Goyenchea E, Parra MD, Martínez JA. Implicaciones de la IL-6 y su polimorfismo -174G>C en el control de peso corporal y en las implicaciones metabólicas asociadas a la obesidad. *An Sist Sanit Navar.* 2005;28:357-66.
- Gualillo O, González-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med.* 2007;17:275-83.
- Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9:367-77.
- Gupta P, Narang M, Banerjee DB, Basu S. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. *BMC Pediatrics.* 2004; 4:14.

- Gupta AK, Johnson WD. Prediabetes and prehypertension in disease free obese adults correlate with an exacerbated systemic proinflammatory milieu. *J Inflamm (Lond)*. 2010;26:7:36.
- Gupta S, Sharma TK, Kaushik GG, Shekhawat VP. Vitamin E supplementation may ameliorate oxidative stress in type 1 diabetes mellitus patients. *Clin Lab*. 2011;57(5-6):379-86.
- Gursoy T, Aliefendioglu D, Caglayan O, Aktas A, Ovali F. Resistin levels in preterms: are they influenced by fetal inflammatory course? *J Perinatol*. 2011;31(3):171-5.
- Guzik TJ, Mangalat D, Korbust R. Adipocytokines – novel link between inflammation and vascular function? *J Physiol Pharmacol*. 2006;57:505-28.
- Groh-Wargo S, Jacobs J, Auestad N, O'Connor DL, Moore JJ, Lerner E. Body composition in preterm infants who are fed long-chain polyunsaturated fatty acids: a prospective, randomized, controlled trial. *Pediatr Res*. 2005;57:712–8.
- Hack M, Schluchter M, Cartar L, Rahman M, Cuttler L. Growth of very low birth weight infants to age 20 years. *Pediatrics*. 2003;112:30–8.
- Hales CN, Desai M, Ozanne SE. The thrifty phenotype hypothesis: how does it look after 5 years? *Diabet Med*. 1997;14:189–95.
- Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*. 2001;60:5-20.
- Halleux CM. Secretion and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;288:1102-7.
- Hamon I, Valdes V, Franck P, Buchweiller MC, Fresson J, Hascoet JM. Gender-dependent differences in glutathione (GSH) metabolism in very preterm infants. *Arch Pediatr*. 2011;18(3):247-52.
- Han TY, Wang XL, Cui YP, Ye HM, Tong XM, Piao MH. No weight catch-up growth of SGA infants is associated with impaired insulin sensitivity during the early postnatal period. *Int J Pediatr*. 2010;2010:704642.
- Hansen-Pupp I, Löfqvist C, Polberger S, Niklasson A, Fellman V, Hellström A, Ley D. Influence of insulin-like growth factor I and nutrition during phases of postnatal growth in very preterm infants. *Pediatr Res*. 2011;69(5):448-53.
- Harris N, Kunicka J, Kratz A. The Advia 2120 hematology system: flow cytometry-based analysis of blood and body fluids in the routine hematology. *Lab Hematol*. 2005;11:47-61.
- Hattersley AT, Tooke JE. The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet*. 1999;353:1789–92.

- Hattori H, Imai H, Furuhashi K, Sato O, Nakagawa Y. Induction of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in human polymorphonuclear neutrophils and HL60 cells stimulated with TNF- α . *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;337(2):464-73.
- Hay ID, Bayer MF, Kaplan MM, Klee GG, Larsen PR, Spencer CA. American Thyroid Association assessment of current free thyroid hormone and thyrotropin measurements and guidelines for future clinical assays. *Clin Chem.* 1991;37:2002-8.
- Hay WW. Strategies for feeding the preterm infant. *Neonatology.* 2008;94:245-54.
- Helmersson J, Arnlöv J, Larsson A, Basu S. Low dietary intake of beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid is associated with increased inflammatory and oxidative stress status in a Swedish cohort. *Br J Nutr.* 2009;101(12):1775-82.
- Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz E, Sánchez E, Sobradillo B. *Curvas y tablas de crecimiento. Instituto de investigación sobre crecimiento y desarrollo. Fundación Faustino Orbegozo. Ed. Ergón, Madrid, 2002.*
- Hernández González N, Salas Hernández S, García-Alix A, Rodríguez herrero C, Pérez Rodríguez J, Omeñaca Teres F, Quero Jiménez J. Morbilidad a los 2 años de edad en niños con peso al nacimiento menor de 1500 gramos. *An Pediatr (Barc).* 2005; 62:320-7.
- Hernández-Morante JJ, Milagro FI, Lujan JA, Martínez JA, Zamora S, Garaulet M. Insulin effect on adipose tissue adiponectin expression is regulated by the insulin resistance status of the patients. *Clin Endocrinol.* 2008;69:412-7.
- Hiratsuka A, Adachi H, Fujiura Y, Yamagishi S, Hirai Y, Enomoto M, Satoh A, Hino A, Furuki K, Imaizumi T. Strong association between serum hepatocyte growth factor and metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(5):2927-31.
- Hirose H, Kawabe H, Komiya N, Saito I. Relation between serum reactive oxygen metabolites (ROMs) and various inflammatory and metabolic parameters in a Japanese population. *J Atheroscler Thromb.* 2009;16:77-82.
- Hoene M, Weigert C. The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obes Rev.* 2008;9:20-9.
- Hofer N, Müller W, Resch B. Non-infectious conditions and gestational age influence C-reactive protein values in newborns during the first 3 days of life. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49(2):297-302.
- Hofman PL, Regan F, Jackson WE, Jefferies C, Knight DB, Robinson EM. Premature birth and later insulin resistance. *N Engl J Med.* 2004;351:2179-86.
- Holt RI, Byrne CD. Intrauterine growth, the vascular system, and the metabolic syndrome. *Semin Vasc Med.* 2002;2(1):33-43.

- Hracsko Z, Orvos H, Novak Z, Pal A, Varga IS. Evaluation of oxidative stress markers in neonates with intrauterine growth retardation. *Redox Rep.* 2008;13(1):11-6.
- Huang KC, Lue BH, Yen RF, Shen CG, Ho SR, Tai TY, Yang WS. Plasma adiponectin levels and metabolic factors in nondiabetic adolescents. *Obes Res.* 2004;12:119-24.
- Huber K. Plasminogen activator inhibitor type-1 (part one): basic mechanisms, regulation, and role for thromboembolic disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2001;11(3):183-93.
- Huddleston J, Sanchez-Ramos L, Huddleston KW. Acute management of preterm labor. *Clin Perinat.* 2003;30:803-24.
- Huxley R, Neil A, Collins R. Unravelling the fetal origins hypothesis: is there really an inverse association between birthweight and subsequent blood pressure? *Lancet.* 2002;360:659-65.
- Ibañez L, Ong K, Dunger DB, de Zegher F. Early development of adiposity and insulin resistance after catch-up weight gain in small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2153-8.
- Ibañez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M, de Zegher F. Catch-up growth in girls born small for gestational age precedes childhood progression to high adiposity. *Fertil Steril.* 2011;96(1):220-3.
- Iborra M, Moret I, Rausell F, Bastida G, Aguas M, Cerrillo E, Nos P, Beltrán B. Role of oxidative stress and antioxidant enzymes in Crohn's disease. *Biochem Soc Trans.* 2011;39(4):1102-6.
- Itoh H, Itakura A, Kurauchi O, Okamura M, Nakamura H, Mizutani S. Hepatocyte growth factor in human breast milk acts as a trophic factor. *Horm Metab Res.* 2002;34(1):16-20.
- Iwashima Y. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for cavenger. *Hypertension.* 2004;43:1318-23.
- Jain S, Cheng J. Emergency department visit and rehospitalizations in late preterm infants. *Clin Perinat.* 2006;33:935-46.
- JAMA. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486-97.
- Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, Levy-Marchal C. Insulin resistance early in adulthood in subjects born with intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1401-6.

- Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, Levy-Marchal C. Relatively low serum leptin levels in adults born with intra-uterine growth retardation. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25:491–5.
- Jaquet D, Léger J, Lévy-Marchal C, Czernichow P. Low birth weight: effect on insulin sensitivity and lipid metabolism. *Horm Res.* 2003;59(1):1-6 (a).
- Jaquet D, Czernichow P. Born small for gestational age: increased risk of type 2 diabetes, hypertension and hyperlipidaemia in adulthood. *Horm Res.* 2003;59(1):131-7 (b).
- Jaquet D, Deghmoun S, Chevenne D, Collin D, Czernichow P, Lévy-Marchal C. Dynamic change in adiposity from fetal to postnatal life is involved in the metabolic syndrome associated with reduced fetal growth. *Diabetologia.* 2005;48:849–55.
- Jaquet D, Deghmoun S, Chevenne D, Czernichow P, Levy-Marchal C. Low serum adiponectin levels in subjects born small for gestational age: impact on insulin sensitivity. *Int J Obes.* 2006;30:83–7.
- Javaid MK, Godfrey KM, Taylor P, Robinson SM, Crozier SR, Dennison EM, Robinson JS, Breier BR, Arden NK, Cooper C. Umbilical cord leptin predicts neonatal bone mass. *Calcif Tissue Inter.* 2005;76:341–7.
- Jefferies CA, Hofman PL, Keelan JA, Robinson EM, Cutfield WS. Insulin resistance is not due to persistently elevated serum tumor necrosis-alpha levels in small for gestational age, premature, or twin children. *Pediatr Diabetes.* 2004;5:20–5.
- Jiang B, Godfrey KM, Martyn CN, Gale CR. Birth weight and cardiac structure in children. *Pediatrics.* 2006;117:257-61.
- Jiménez R, Figueras-Aloy J. Prematuridad. *Tratado de Pediatría. M Cruz . 9ª Ed. Ed Ergon Madrid 2006.vol 1: 69-77.*
- Joss-Moore LA, Lane RH. The devopmental origins of adult disease. *Curr opin Pediatr.* 2009;21:230-4.
- Jordan IM, Robert A, Francart J, Sann L, Putet G. Growth in extremely low birth weight infants up to three years. *Biol Neonate.* 2005;88:57–65.
- Jung C, Fritzenwanger M, Fischer N, Figulla HR. Hepatocyte growth factor is elevated in obese adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2009;22(7):645-51.
- Kabasakalian P, Kalliney S, Wescott A. Determination of uric acid in serum, with use of uricase and tribromophenol-aminoantipyrine chomogen. *Clin Chem.* 1973;19(5):522-4.
- Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, Kitazawa S, Miyachi H, Maeda S, Egashira K, Kasuga M. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest.* 2006;116:1494–1505.

- Kaplan LA, Pesce AJ. Clinical chemistry theory, analysis, and correlation. 2nd Ed. Louis, MO. CV Mosby 1989:1059.
- Kaplan LA, Pesce AJ. Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. 3rd Ed. Louis, MO. CV Mosby. 1996
- Kellar KL, Kalwar RR, Dubois KA, Crouse D, Chafin WD, Kane BE. Multiplexed fluorescent bead-based immunoassays for quantitation of human cytokines in serum and culture supernatants. *Cytometry*. 2001;1;45(1):27-36.
- Kellar KL, Douglass JP. Multiplexed microsphere-based flow cytometric immunoassays for human cytokines. *Immunol Methods*. 2003;279(1-2):277-85.
- Kensara OA, Wootton SA, Phillips DI, Patel M, Jackson AA, Elia M. Hertfordshire Study Group. Fetal programming of body composition: relation between birth weight and body composition measured with dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric methods in older Englishmen. *Am J Clin Nutr*. 2005;85(5):980-7.
- Kershaw EE, Jeffrey SF. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2548-56.
- Kingsley GR. The direct biuret method for the determination of serum proteins as applied to photoelectric and visual colorimetry. *J Lab Clin*. 1942;27:840-45.
- Kim CS, Park HS, Kawada T, Kim JH, Lim D, Hubbard NE, Kwon BS, Erickson KL, Yu R. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30:1347-55.
- Kim SH, Lee JW, Im JA, Hwang HJ. Monocyte chemoattractant protein-1 is related to metabolic syndrome and homocysteine in subjects without clinically significant atherosclerotic cardiovascular disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011;71(1):1-6.
- Kimberly G.L, Choherty J.P. Identificación del recién nacido de alto riesgo y valoración de la edad gestacional. Prematuridad, hipermadurez, peso elevado y bajo peso para su edad gestacional. En *Manual de Cuidados Neonatales*. Edt Choherty JP, Eichenwald E.C., Stark A.R. 4 Ed. (Barc) 2005;3:50-66.
- Kobashi C, Asamizu S, Ishiki M, Iwata M, Usui I, Yamazaki K, Tobe K, Kobayashi M, Urakaze M. Inhibitory effect of IL-8 on insulin action in human adipocytes via MAP kinase pathway. *J Inflamm (Lond)*. 2009;6:25.
- Koletzko B, Goulet O, Hunt J, Krohn K, Shamir R. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society on Paediatric Research (ESPR). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41:5-11.
- Koletzko B, Von Kries R, Monasterolo RC. Infant feeding and later obesity risk. *Adv Exp Med Biol*. 2009;646:15-29.

- Körner A, Kratsch J, Gausche R, Schaab M, Erbs S, Kiess W. New predictors of the metabolic syndrome in children-role of adipocytokines. *Pediatr Res*. 2007;61:640-5.
- Kositamongkol S, Suthutvoravut U, Chongviriyaphan N, Feungpean B, Nuntnarumit P. Vitamin A and E status in very low birth weight infants. *J Perinatol*. 2011;31(7):471-6.
- Kotani Y, Yokota I, Kitamura S, Matsuda J, Naito E & Kuroda Y. Plasma adiponectin levels in newborns are higher than those in adults and positively correlated with birth weight. *Clin Endocrinol*. 2004;61:418-23.
- Kralisch S, Sommer G, Stangl V, Köhler J, Stepan H, Faber R, Schuber A, Lössner U, Vietxke A, Bluher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Secretory products from human adipocytes impair endothelial function via nuclear factor κ B. *Arterioscler*. 2008;196:523-31.
- Kramer MS, Kahn SR, Platt RW, Genest J, Rozen R, Chen MF, Goulet L, Séguin L, Dassa C, Lydon J, McNamara H, Dahhou M, Lamoureux J, Evans RW. Antioxidant vitamins, long-chain fatty acids, and spontaneous preterm birth. *Epidemiology*. 2009;20(5):707-13.
- Krebs NF, Himes JH, Jacobson D, Nicklas TA, Guilday P, Styne D. Assessment of child and adolescent overweight and obesity. *Pediatrics*. 2007;120:193-228.
- Krochik AG, Chaler EA, Maceiras M, Aspnes N, Mazza CS. Presence of early risk markers of metabolic syndrome in prepubertal children with a history of intrauterine growth restriction. *Arch Argent Pediatr*. 2010;108(1):10-6.
- Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem*. 2002;277:25863-6.
- Kumar A, Ranjan R, Basu S, Khanna HD, Bhargava V. Antioxidant levels in cord blood of low birth weight newborns. *Indian Pediatr*. 2008;45(7):583-5.
- Kurtoglu S, Hatipoglu N, Mazıcıoglu M, Kendirici M, Keskin M, Kondolot M. Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2010;2(3):100-6.
- Kyriakakou M, Malamitsi-Puchner A, Militsi H, Boutsikou T, Margeli A, Hassiakos D, Kanaka-Gantenbein C, Papassotiropoulos I, Mastorakos G. Leptin and adiponectin concentrations in intrauterine growth restricted and appropriate for gestational age fetuses, neonates, and their mothers. *Eur J Endocrinol*. 2008;158:343-8.
- Lackman F, Capewell V, Richardson B, daSilva O, Gagnin R. The risks of spontaneous preterm delivery and perinatal mortality in relation to size at birth according to fetal versus neonatal growth standards. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184:946-53.
- L'Abbé MR, Fischer PW. Automated assay of superoxide dismutase in blood. *Methods Enzymol*. 1990;186:232-7.

- Landrier JF, Gouranton E, Yazidi C, Malezet C, Balaguer P, Borel P, Amiot MJ. Adiponectin expression is induced by vitamin E via a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanism. *Endocrinology*. 2009;150(12):5318-25.
- Laskowska M, Laskowska K, Leszczynska-Gorzela B, Oleszcuk J. Comparative analysis of the maternal and umbilical interleukin-8 levels in normal pregnancies and in pregnancies complicated by preeclampsia with intrauterine normal growth and intrauterine growth retardation. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2007;20(7):527-32.
- Lassus P, Janer J, Haglund C, Karikoski R, Andersson LC, Andersson S. Consistent expression of HGF and c-met in the perinatal lung. *Biol Neonate*. 2006;90(1):28-33.
- Latal-Hajnal B, von Siebenthal K, Kovari H, Bucher HU, Largo RH. Postnatal growth in VLBW infants: significant association with neurodevelopmental outcome. *J Pediatr*. 2003;143:163-70.
- Lau CH, Muniandy S. Novel adiponectin-resistin (AR) and insulin resistance (IRAR) indexes are useful integrated diagnostic biomarkers for insulin resistance, type 2 diabetes and metabolic syndrome: a case control study. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10(1):8.
- Leduc L, Levy E, Bouity-Voubou M, Delvin E. Fetal programming of atherosclerosis: possible role of the mitochondria. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010;149(2):127-30.
- Lee CT, Ng HY, Hsu CY, Tsai YC, Yang YK, Chen TC, Chiou TT, Kuo CC, Lee WC, Hsu KT. Proinflammatory cytokines, hepatocyte growth factor and adipokines in peritoneal dialysis patients. *Artif Organs*. 2010;34(7):222-9.
- Lee PA, Chernausk SD, Hokken-koelega CS, Czernichow P. International Small for gestational age advisory board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age. 24 October 1, 2001. *Pediatrics*. 2003;111:1253-61.
- Lee SA, Kallianpur A, Xiang YB, Wen W, Cai Q, Liu L, Fazio R, Linton MF, Zheng W, Shu XO. Intra-individual variation of plasma adipokine levels and utility of single measurement of these biomarkers in population-based studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(11):2464-70 (a).
- Lee SA, Gungor N, Bacha F, Arskanian S. Insulin resistance. Link to the components of the metabolic syndrome and biomarkers of endothelial dysfunction in youth. *Diabetes Care*. 2007;30:2091-7 (b).
- Lee YA, Yoo JH, Kim JH, Lee SH, Kim JH, Lim HH, Kang MJ, Chung HR, Lee SY, Shin CH, Yang SW. Independent relationships of obesity and insulin resistance with serum proinsulin level in prepubertal children with normal glucose tolerance. *Pediatr Diabetes*. 2011;12(3):235-41.

- Lee YS, Chou YH. Antioxidant profiles in full term and preterm neonates. *Chang Gung Med J.* 2005;28:846-51.
- Leon DA, Ronalds G. Breast-feeding influences on later life-cardiovascular disease. *Adv Exp Med Biol.* 2009;639:153-66.
- Levitt NS, Lambert EV, Woods D, Hales CN, Andrew R, Seckl JR. Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young south African adults: early programming of cortisol axis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4611-8.
- Lévy-Marchal C, Czernichow P. Small for gestational age and the metabolic syndrome: which mechanism is suggested by epidemiological and clinical studies? *Horm Res.* 2006;65(3):123-30.
- Li Q, Yang Z, Lu B, Wen J, Ye Z, Chen L, He M, Tao X, Zhang W, Huang Y, Zhang Z, Qu S, Hu R. Serum uric acid level and its association with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2011;4:10-2.
- Liew G, Wang JJ, Mitchell P. Which is the better marker for susceptibility to disease later in life: low birthweight or prematurity? *Arch Dis Child.* 2008;93:450.
- Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;219(1-2):9-15.
- Limón-Pacheco JH, Gonsebatt ME. The glutathione system and its regulation by neurohormone melatonin in the central nervous system. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2010;1;10(4):287-97.
- Lindsay RS, Walker JD, Havel PJ, Hamilton BA, Calder AA, Johnstone FD. Adiponectin is present in cord blood but is unrelated to birth weight. *Diabetes Care.* 2003;26:2244-9.
- Lijnen HR. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *J Thromb Haemost.* 2004;3:35-45.
- Llanos MN, Ronco AM. Fetal growth restriction is related to placental levels of cadmium, lead and arsenic but not with antioxidant activities. *Reprod Toxicol.* 2009;27(1):88-92.
- López-Bermejo A, Casano-Sancho P, Fernández-Real JM, Kihara S, Funahashi T, Rodríguez-Hierro F, Ricart W, Ibañez L. Both intrauterine growth restriction and postnatal growth influence childhood serum concentrations of adiponectin. *Clin Endocrinol.* 2004;61:544-52.
- López Maestro M, Pallás Alonso CR, Muñoz Labian MC, Barrio Andrés MC, Medina López C, de la Cruz Bartola J. Uso de CPAP en la estabilidad inicial de los niños con peso al nacimiento inferior a 1500 gr. *An Pediat (Barc).* 2006;64:422-7.

- Lubchenco LO, Hansman C, Dressler M, Boyd E. Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight data at 24 to 42 weeks of gestational ages from 26 to 42 weeks. *Pediatrics*. 1966;37(3):403-8.
- Lucas A, Morley R, Cole TJ. Randomised trial of early diet in preterm babies and later intelligence quotient. *BMJ*. 1998;317:1481-7.
- Lumeng CN, DeYoung SM, Bodzin JL, Satiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*. 2007;56:16-23.
- Luo ZC, Fraser WD, Julien P, Deal CL, Audibert F, Smith GN, Xiong X, Walker M. Tracing the origins of “fetal origins” of adult diseases: programming by oxidative stress? *Med Hypot*. 2006;66:38-44.
- Luo ZC, Xiao L, Nuyt AM. Mechanisms of developmental programming of the metabolic syndrome and related disorders. *World J Diabetes*. 2010;1(3):89-98.
- MacEwan DJ. TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences. *Cell Signal*. 2002;14:477-92.
- Mactier H, Mokaya MM, Farrell L, Edwards CA. Vitamin A provision for preterm infants: are we meeting current guidelines? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2011;96(4):286-9.
- Maeda N. PPAR γ ligands increase expression and plasma concentration of adiponectin, and adipose-derived protein. *Diabetes*. 2001;50:2094-9.
- Maiorana A, Del Bianco C, Cianfarani S. Adipose tissue: a metabolic regulator. Potential implications for the metabolic outcome of subjects born small for gestational age (SGA). *Rev Diabet Stud*. 2007;4:134-46.
- Maisels MJ, Wathchtko JF. Treatment of jaundice in low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2003;88:449-53.
- Malamitsi-Puchner A, Nikolaou KE, Puchner KP. Intrauterine growth restriction, brain-sparing effect, and neurotrophins. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092:293-6.
- Malamitsi-Puchner A, Nikolaou KE, Economou E, Boutsikou M, Boutsikou T, Kyriakakou M, Puchner KP, Hassiakos D. Intrauterine growth restriction and circulating neurotrophin levels at term. *Early Hum Dev*. 2007;83(7):465-9.
- Mandrizzato G, Antsaklis A, Botec F, Cherveneak F, Figueras F, Grunebaum A. Recommendations and guidelines for perinatal practice. Intrauterine restriction. *J Perinat Med*. 2008;36:277-81.
- Márcos-Gómez B, Bustos M, Prieto J, Matínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Obesity, inflammation and insulin resistance: role of gp 130 receptor ligands. *An Sist Sanit Navar*. 2008;31:113-23.

- Martín CR, Brown YF, Ehrenkranz RA, O'Shea TM, Allred EN, Belfort MB, McCormick MC, Leviton A. Nutritional practices and growth velocity in the first month of life in extremely premature infants. *Pediatrics*. 2009;124(2):649-57.
- Martin SS, Qasim A y Reilly MP. Leptin resistance: a possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1201-10.
- Martínez Jiménez MD. Estudio de Biomarcadores de inflamación y de riesgo cardiovascular en niños obesos prepúberes. Tesis Doctoral. Córdoba. 2010.
- Martos-Moreno GA, Barrios V, Soriano-Guillén L, Argente J. Relationship between adiponectin levels, acylated ghrelin levels, and short-term body mass index changes in children with diabetes mellitus type 1 at diagnosis and after insulin therapy. *Eur J Endocrinol*. 2006;155:757-61.
- Martos-Moreno GA, Barrios V, Sáenz de Pipaón M, Pozo J, Dorronsoro I, Martínez-Biarge M, Quero J, Argente J. Influence of prematurity and growth restriction on the adipokine profile, IGF1, and ghrelin levels in cord blood: relationship with glucose metabolism. *Eur J Endocrinol*. 2009;161(3):381-9.
- Masi S, Jones A, Charakida M, O'Neill F, D'Aiuto F, Virdis A, Taddei S, Deanfield JE, Ghiadoni L. Blood Pressure and Vascular Alterations with Growth in Childhood. *Curr Pharm Des*. 2011. [Epub ahead of print].
- Mataix J, Mañas M, Llopis J, Martínez-Victoria E. Tabla de composición de los alimentos españoles. Ed. Universidad de Granada, España, 1994.
- Matoba N, Yu Y, Mestan K, Pearson C, Ortiz K, Porta N, Thorsen P, Skogstrand K, Hougaard D, Zuckerman L, Wang X. Differential patterns of 27 cord blood immune biomarkers across gestational age. *Pediatrics*. 2009;123(5):1320-8.
- Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. *J Endocrinol Metabol*. 2002;87:2764-9.
- Matsuo Y, Hashizume T, Shioji S, Akasaka T. Metabolic syndrome is strongly associated with chronic subclinical inflammation in patients achieving optimal low-density lipoprotein-cholesterol levels in secondary prevention of cardiovascular disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2002;55:131-8.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-9.
- Mauras N, Delgiorno C, Kollman C, Bird K, Morgan M, Sweeten S, Balagopal P, Damaso L. Obesity without established comorbidities of the metabolic syndrome is associated with a proinflammatory and prothrombotic state, even before the onset of puberty in children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(3):1060-8.

- McCord and Fridovich. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem.* 1969;244:6049-55.
- McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem.* 1983;29:538-42 .
- Meas T, Deghmoun S, Armoogum P, Alberti C, Levy-Marchal C. Consequences of being born small for gestational age on body composition: an 8-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:3804-9.
- Meas T. Fetal origins of insulin resistance and the metabolic syndrome: a key role for adipose tissue? *Diabetes Metab.* 2010;36(1):11-20 (a).
- Meas T, Deghmoun S, Chevenne D, Gaborit B, Alessi MC, Lévy-Marchal C. Plasminogen activator inhibitor type-1 is an independent marker of metabolic disorders in young adults born small for gestational age. *J Thromb Haemost.* 2010;8(12):2608-13 (b).
- Medina-Bravo P, Meza-Santibáñez R, Rosas-Fernández P, Galván-Duarte R, Saucedo-García R, Velázquez-López L, Torres-Tamayo M. Decrease in serum adiponectin levels associated with visceral fat accumulation independent of pubertal stage in children and adolescents. *Arch Med Res.* 2011;42(2):115-21.
- Medical Siemens. www.medical.siemens.com (Advia 120 H.S.)
- Mericq V. Prematurity and insulin sensitivity. *Horm Res.* 2006;65(3):131-6.
- Mestan K, Yu Y, Matoba N, Cerda S, Demmin B, Pearson C, Ortiz K, Wang X. Placental inflammatory response is associated with poor neonatal growth: preterm birth cohort study. *Pediatrics.* 2010;125:891-8.
- Meyers M, Gokce N. Endothelial dysfunction in obesity: etiological role in atherosclerosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2007;14:365-9.
- Millipore. Technical protocols. www.millipore.com.
- Mills BJ, Richie JP JR, Lang CA. Sample processing alters glutathione and cysteine values in blood. *Anal Biochem.* 1990;184(2):263-7.
- Miras M, Ochetti M, Martín S, Silvano L, Sobrero G, Castro L, Onassis M, Tolosa de Talamoni N, Pérez A, Picotto G, Díaz de Barboza G, Muñoz L. Serum levels of adiponectin and leptin in children born small for gestational age: relation to insulin sensitivity parameters. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010;23(5):463-71.
- Mitsiakos G, Papaioannou G, Papadakis E, Chatziioannidis E, Giougi E, Karagianni P, Evdoridou J, Malindretos P, Athanasiou M, Athanassiadou F, Nikolaidis N. Haemostatic profile of full-term, healthy, small for gestational age neonates. *Thromb Res.* 2009;124(3):288-91.

- Mitsiakos G, Giougi E, Chatziioannidis I, Karagianni P, Papadakis E, Tsakalidis C, Papaioannou G, Malindretos P, Nikolaidis N. Haemostatic profile of healthy premature small for gestational age neonates. *Thromb Res.* 2010;126(2):103-6.
- Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio M, Chiarelli F. Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children: effect of a dietary restriction-weight loss program. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005;90:2653-8 (a).
- Mohn A, Marzio D, Giannini C, Capanna R, Marcovecchio M, Chiarelli F. Alterations in the oxidant-antioxidant status in prepubertal children with growth hormone deficiency: effect of growth hormone replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;63(5):537-42 (b).
- Mohn A, Chiavaroli V, Cerruto M, Blasetti A, Giannini C, Bucciarelli T, Chiarelli F. Increased oxidative stress in prepubertal children born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1372-8.
- Morrison JL, Duffield JA, Muhlhausler BS, Gentili S, McMillen IC. Fetal growth restriction, catch-up growth and the early origins of insulin resistance and visceral obesity. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(4):669-77.
- Murdolo G, Nowotny B, Celi F, Donati M, Bini V, Papi F, Gornitzka G, Castellani S, Roden M, Falorni A, Herder C, Falorni A. Inflammatory adipokines, high molecular weight adiponectin, and insulin resistance: A population-based survey in prepubertal schoolchildren. *PLoS ONE.* 2011;6(2):17264.
- Murphy KG, Bloom SR. Are all fat created equal? *Nat Med.* 2005;12:32-3.
- Muzáková V, Kand'ár R, Meloun M, Skalický J, Královec K, Záková P, Vojtíšek P. Inverse correlation between plasma beta-carotene and interleukin-6 in patients with advanced coronary artery disease. *Int J Vitam Nutr Res.* 2010;80(6):369-77.
- Myrie SB, McKnight LL, Van Vliet BN, Bertolo RF. Low birth weight is associated with reduced nephron number and increased blood pressure in adulthood in a novel spontaneous intrauterine growth-restricted model in yucatan miniature swine. *Neonatology.* 2011;100(4):380-6.
- Nakatsukasa H, Masuyama H, Akahori Y, Inoue S, Masumoto A, Hiramatsu Y. Relation between neonatal jaundice and oncostatin M, hepatocyte growth factor and soluble gp130 levels in umbilical cord. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(12):1322-8.
- Narendran V, Visscher MO, Abril I, Hendrix SW, Hoath SB. Biomarkers of epidermal innate immunity in premature and full-term infants. *Pediatr Res.* 2010;67(4):382-6.
- Nassi N, Ponziani V, Becatti M, Galvan P, Donzelli G. Anti-oxidant enzymes and related elements in term and preterm newborns. *Pediatr Int.* 2009;51(2):183-7.
- National High Blood Pressure Education Program. Working group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 2004;114(2):555-76.

- Nauck M, Russell W, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assay versus calculation. *Clin Chem.* 2002;48(2):236-54.
- Neitzke U, Harder T, Plagemann A. Intrauterine growth restriction and developmental programming of the metabolic syndrome: a critical appraisal. *Microcirculation.* 2011;18(4):304-11.
- Neta GI, von Ehrenstein OS, Goldman LR, Lum K, Sundaram R, Andrews W, Zhang J. Umbilical cord serum cytokine levels and risks of small-for-gestational-age and preterm birth. *Am J Epidemiol.* 2010;171(8):859-67.
- Ng PC, Lee CH, Lam CW, Chan IH, Wong E, Fok TF. Resistin in preterm and term newborns: relation to anthropometry, leptin, and insulin. *Pediatr Res.* 2005;58(4):725-30.
- Nikolaou KE, Malamitsi-Puchner A, Boutsikou T, Economou E, Boutsikou M, Puchner KP, Baka S, Hassiakos D. The varying patterns of neurotrophin changes in the perinatal period. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1092:426-33.
- Nobili V, Alisi A, Panera N, Agostoni C. Low birth weight in combination with catch-up associated with metabolic syndrome: a ten year systematic review. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2008;6:241-7.
- Nogueiras R, González CR, Mendieta H, Lage R, Diéguez C. Resistina: una nueva hormona expresada en el tejido adiposo. *Rev Esp Obes.* 2005;3(4):194-211.
- Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2007;156:279-84.
- Nuyt AM, Alexander BT. Developmental programming and hipertensión. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2009;18:144-52.
- Oda E. The metabolic syndrome as a concept of adipose tissue disease. *Hypertens Res.* 2008;431:1283-91.
- Odegard RA, Vatten LJ, Nilsen ST, Salvesen KA, Vefring H, Austgulen R. Umbilical cord plasma interleukin-6 and fetal growth restriction in preeclampsia: a prospective study in Norway. *Obstet Gynecol.* 2001;98:289-94.
- Oliveira Otto MC, Alonso A, Lee DH, Delclos GL, Jenny NS, Jiang R, Lima JA, Symanski E, Jacobs DR, Nettleton JA. Dietary micronutrient intakes are associated with markers of inflammation but not with markers of subclinical atherosclerosis. *J Nutr.* 2011;141(8):1508-15.
- Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright AJ, Blanco I, Gil-Martinez E, Berg H, Corridan B, Roussel AM, Chopra M, Thurnham DI. Serum concentrations of

- carotenoids and vitamins A, E, and C in control subjects from five european countries. *Br J Nutr.* 2001;85(2):227-38.
- Olsen I, Richardson D, Schmid C, Asuman L, Dwyer J. Intersite differences in weight growth velocity of extremely premature infants. *Pediatrics.* 2002;110:1125-32.
- Olsen I, Lawson L, Meinzen_Derr J, Sapsford A, Schibler K, Donovan E, Morrow A. Use of a body proportionality index for growth assessment of preterm infants. *J Pediatr.* 2009;154:486-91.
- Olsen I, Groveman S, Lawson L, Clark R, Zemel B. New intrauterine growth curves based on United States data. *Pediatrics.* 2010;125:214-24.
- Ong KK, Dunger DB. Birth weight, infant growth and insulin resistance. *Eur J Endocrinol.* 2004;151(3):131-9.
- Ortega-Senovilla H, Alvino G, Taricco E, Cetin I, Herrera E. Enhanced circulating retinol and non-esterified fatty acids in pregnancies complicated with intrauterine growth restriction. *Clin Sci (Lond).* 2009;118(5):351-8.
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation.* 2002;103:1057-63.
- Owen CG, Martin RM, Whincup PH, Smith GD, Cook DG. Effect of infant feeding on the risk of obesity across the life course: a quantitative review of published evidence. *Pediatrics* 2005;115:1367-77.
- Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormones Acrp30/adiponectin: implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem.* 2003;278:9073-85.
- Pallás Alonso CR. Programa de actividades preventivas en niños prematuros con peso al nacimiento menor de 1500 gs. *Foro Ped.* 2006:37-55.
- Palomo I, Alarcón M, Moore-Carrasco R, Argilés JM. Haemostasis alterations in metabolic syndrome. *Int Jof Mol Med.* 2006;18:969-74.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Yannakouli M, Chrysohoou C, Stefanadis C. The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: the ATTICA study. *Atherosclerosis.* 2005;183:308-15.
- Papaoannou HI, Stakos DA, Tziakas DN, Chalikias G, Tsigalou C, Kartali S, Mantadakis E, Chatzimichael A. Plasma leptin and adiponectin concentrations in healthy, non-obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2011;24(5-6):313-8.

- Pellanda LC, Duncan BB, Vigo A, Rose K, Folsom AR, Erlinger TP. Low birth weight and markers of inflammation and endothelial activation in adulthood: the ARIC study. *Int J Cardiol.* 2009;134(3):371-7.
- Peraçoli MT, Bannwart CF, Cristofalo R, Medeiros Borges VT, Araújo Costa RA, Witkin SS, Peraçoli JC. Increased reactive oxygen species and tumor necrosis factor-alpha production by monocytes are associated with elevated levels of uric acid in pre-eclamptic women. *Am J Reprod Immunol.* 2011. [Epub ahead of print].
- Pérez-Navero LJ, Benítez-Sillero JD, Gil-Campos M, Guillén-del Castillo M, Tasset I, Túnez I. Cambios en biomarcadores del estrés oxidativo inducidos por la pubertad. *An Pediatr (Barc).* 2009;70(5):424-8.
- Pérez Rodríguez, J, Peralta Calvo, J. Retinopatía de la prematuridad en la primera década del siglo XXI. Dos caras de la misma moneda. *An Pediatr (Barc).* 2007;66:549-450.
- Phillips DI, Barker DJ, Hales CN, Hirst S, Osmond C. Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia.* 1994;37:150-4.
- Pylipow M, Spector LG, Puumala SE, Boys C, Cohen J, Georgieff MK. Early postnatal weight gain, intellectual performance, and body mass index at 7 years of age in term infants with intrauterine growth restriction. *J Pediatr.* 2009;154:201-6.
- Pyrzak B, Ruminska M, Popko K, Demkow U. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome in children and adolescents. *Eur J Med Res.* 2010;4(15):147-51.
- Qiao Q, Gao W, Zhang L, Nyamdorj R, Tuomilehto J. Metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Ann Clin Biochem.* 2007;44:232-63.
- Quartu M, Serra MP, Manca A, Follesa P, Lai ML, Del Fiacco M. Neurotrophin-like immunoreactivity in the human pre-term newborn, infant, and adult cerebellum. *Int J Dev Neurosci.* 2003;21(1):23-33.
- Radmacher GP, Looney WS, Rafail TS, Adamkin HD. Prediction of extrauterine growth retardation in VLBW infants. *J Perinatol.* 2003;23:392-5.
- Ravussin E, Smith SR. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N.Y. Acad Sci.* 2002;967:363-78.
- Rasmussen EL, Malis C, Jensen CB, Jensen JE, Storgaard H, Poulsen P, Pilgaard K, Schou JH, Madsbad S, Astrup A, Vaag A. Altered fat tissue distribution in young adult men who had low birth weight. *Diabetes Care.* 2005;28:151-3.
- Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988;37:1595-1607.

- Rellan Rodríguez S, García de Ribera C, Aragón García MP. El recién nacido prematuro. Capítulo 8. Protocolos de neonatología. Asociación Española de Pediatría y Sociedad Española de Neonatología. 2ª Ed. 2008.
- Ren RX, Shen Y. A meta-analysis of relationship between birth weight and cord blood leptin levels in newborns. *World J Pediatr.* 2010;6(4):311-6.
- Rho YH, Woo JH, Choi SJ, Lee YH, Ji JD, Song GG. Association between serum uric acid and the adult treatment panel III-defined metabolic syndrome: results from a single hospital database. *Metabolism.* 2008;57:71-6.
- Río Ligorit A, Ferreira Montero IJ, Casanova Lenguas A, Alegría Ezquerro E, Laclaustra M, León M, Cordero A, Grim A. Temas de actualidad en cardiología preventiva: el síndrome metabólico. *Rev Esp Cardiol.* 2005;5:13-23.
- Ritz E, Amann K, Koleganova N, Benz K. Prenatal programming-effects on blood pressure and renal function. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7(3):137-44.
- Rizzo G, Arduini D. Intrauterine growth restriction: diagnosis and management. A review. *Minerva Ginecol.* 2009;61(5):411-20.
- Roberts JM, Lain KY. Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta.* 2002;23:359-72.
- Roeschlau P, Bernt E, Gruber WA. Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Z Klin Chem Biochem.* 1974;12:226-9.
- Rogers LK, Velten M. Maternal inflammation, growth retardation, and preterm birth: insights into adult cardiovascular disease. *Life Sci.* 2011;89(13-14):417-21.
- Rogers S, Witz G, Anwar M, Hiatt M, Hegyi T. Antioxidant capacity and oxygen radical diseases in the preterm newborn. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2000;154:544-8.
- Roggero P, Giani ML, Liotto N, Taroni F, Orsi A, Amato O, Morlacchi L, Piemontese P, Agosti M, Mosca F. Rapid recovery of fat mass in small for gestational age preterm infants after term. *PLoS ONE.* 2011;6(1):14489.
- Rondó PH, Abbott R, Tomkins AM. Vitamin A and intrauterine growth retardation. *J Pediatr (Rio J).* 1997;73(5):335-9.
- Rosal Rabes T, Sáenz de Pipaón M, Martínez Biarge M, Dorronsoro I, Quero Jiménez J. Capítulo 12. Alimentación parenteral, líquidos y electrolitos. Protocolos de neonatología. Asociación Española de Pediatría y Sociedad Española de Neonatología. 2ª Ed. 2008.
- Rossi P, Tauzin L, Marchand E, Boussuges A, Gaudart J, Frances Y. Respective roles of preterm birth and fetal growth restriction in blood pressure and arterial stiffness in adolescence. *J Adolesc Health.* 2011;48(5):520-2.

- Rotteveel J, Van Weissenbruch MM, Twisk JWR, Delemarre-Van de Waal HA. Infant and childhood growth patterns, insulin sensitivity, and blood pressure in prematurely born young adults. *Pediatrics*. 2008;122:313-21.
- Rotteveel J, van Weissenbruch MM, Twisk JW, Delemarre-Van de Waal HA. Insulin sensitivity in prematurely born adults: relation to preterm growth restraint. *Horm Res Paediatr*. 2011;75(4):252-7.
- Rubin DA, McMurray RG, Hackney AC, Harrell JS. Relationship between cardiovascular risk factors and adipokines in adolescents. *Horm Res Paediatr*. 2011;76(2):123-9.
- Rubin LP, Chan GM, Barrett-Reis BM, Fulton AB, Hansen RM, Ashmeade TL, Oliver JS, Mackey AD, Dimmit RA, Hartmann EE, Adamkin DH. Effect of carotenoid supplementation on plasma carotenoids, inflammation and visual development in preterm infants. *J Perinatol*. 2011. [Epub ahead of print].
- Ruiz JR, Ortega FB, Warnberg J, Sjöström M. Associations of low-grade inflammation with physical activity, fitness and fatness in prepubertal children; the European Youth Heart Study. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31(10):1545-51.
- Ryan V, German A, Wood I, Hunter L, Morris P, Trayhurn P. NGF gene expression and secretion by canine adipocytes in primary culture: upregulation by the inflammatory mediators LPS and TNF alpha. *Horm Metab Res*. 2008;40:861-8.
- Sacheck J. Pediatric obesity: an inflammatory condition? *J Parenter Enteral Nutr*. 2008;32:633-7.
- Saenger P, Czerrichow P, Huyhes I, Reiter EO. Small for gestational age: short stature and beyond. *Endocr Rev*. 2007;28:219-51.
- Saito M, Nishimura K, Nozue H, Miyazono Y, Kamoda T. Changes in serum adiponectin levels from birth to term-equivalent age are associated with postnatal weight gain in preterm infants. *Neonatology*. 2011;100(1):93-8.
- Saker M, Soulimane MN, Merzouk SA, Merzouk H, Belarbi B, Narce M. Oxidant and antioxidant status in mothers and their newborns according to birthweight. *Eur J Obstet Reprod Biol*. 2008;141(2):95-9.
- Sakurai M, Itabashi K, Sato Y, Hibino S, Mizuno K. Extrauterine growth restriction in preterm infants of gestational age ≤ 32 weeks. *Pediatr Int*. 2008;50:70-5.
- Salonen MK, Kajantie E, Osmond C, Forsén T, Ylihärsilä H, Paile-Hyvärinen M, Barker DJ, Eriksson JG. Developmental origins of physical fitness: the Helsinki Birth Cohort Study. *PLoS One*. 2011;6(7):22302.
- Sampath D, Jackson GR, Werrbach-Perez K, Perez-Polo JR. Effects of nerve growth factor on glutathione peroxidase and catalase in PC12 cells. *J Neurochem*. 1994;62(6):2476-9.

- Sancakli O, Darendeliler F, Bas F, Gokcay G, Disci R, Aki S, Eskiuyurt N. Insulin, adiponectin, IGFBP-1 levels and body composition in small for gestational age born non-obese children during prepubertal ages. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69(1):88-92.
- Sarni RS, Kochi C, Ramalho RA, Schoeps DO, Sato K, Mattoso LC, Ximenes CF, Souza FI, Damiani FM. Vitamin A: blood level and dietetics intake in stunted children and adolescents without hormonal disease. *Rev Assoc Med Bras*. 2002;48(1):48-53.
- Sauer P. Can extrauterine growth approximate intrauterine growth? Should it? *Am J Clin Nutr*. 2007;85:608-13.
- Savino F, Liguori SA, Lupica MM. Adipokines in breast milk and preterm infants. *Early Hum Dev*. 2010;86(1):77-80.
- Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W. The international caffeine for apnea of prematurity (cap) trial: outcomes at 18-21 months hot topics in neonatology 2007. Ed Lucey JF, Washington. 2007.
- Sebert S, Sharkey D, Budge H, Symonds ME. The early programming of metabolic health: is epigenetic setting the missing link? *Am J Clin Nutr*. 2011. [Epub ahead of print].
- Sentilhes L, Leroux P, Radi S, Ricbourg-Schneider A, Laudénbach V, Marpeau L, Bénichou J, Vasse M, Marret S. Influence of gestational age on fibrinolysis from birth to postnatal day 10. *J Pediatr*. 2011;158(3):377-82.
- Sengenès C, Miranville A, Lolmède K, Curat CA, Bouloumié A. The role of endothelial cells in inflamed adipose tissue. *J Intern Med*. 2007;262:415-21.
- Shaibi GQ, Goran MI. Examining metabolic syndrome definitions in overweight hispanic youth: a focus on insulin resistance. *J Pediatr*. 2008;152(2):171-6.
- Shan HM, Cai W, Sun JH, Cao Y, Shi YY, Fang BH. Extrauterine growth retardation and correlated factors in premature neonates. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2007;45(3):183-8.
- Shan HM, Cai W, Cao Y, Fang BH, Feng Y. Extrauterine growth retardation in premature infants in Shanghai: a multicenter retrospective review. *Eur J Pediatr*. 2009;168(9):1055-9.
- Shargorodsky M, Debby O, Matas Z, Zimlichman R. Effect of long-term treatment with antioxidants (vitamin C, vitamin E, coenzyme Q10 and selenium) on arterial compliance, humoral factors and inflammatory markers in patients with multiple cardiovascular risk factors. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;7:55.
- Shaw LM, Stromme JH, Loudon JL, Theodorsen L. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for gamma-glutamyltransferase. *J Clin Chem. Biochem*. 1983;21:633-46.

- Sheridan C. Intrauterine growth restriction. Diagnosis and management. *Aust. Fam. Physician.* 2005;34:717-23.
- Siahanidou T, Mandyla H, Papassotiriou GP, Papassotiriou I, Chrousos G. Circulating levels of adiponectin in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 2007;92:286-90.
- Siedel J. Improved Ferrozine® based reagent for the determination of serum iron (transferring iron) without deproteinization. *Clin Chem.* 1984;30(6):975.
- Simha V, Szczepaniak LS, Wagner AJ, DePaoli AM, Garg A. Effecto of leptin replacement on intrahepatic and intramyocellular lipid content in patients with generalized lipodystrophy. *Diabetes Care.* 2003;26:30-35.
- Simmons RA. Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(6):917-22.
- Singhal A, Faroogi SF, Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:993-9.
- Singhal A, Fewtrell M, Cole TJ, Lucas A. Low nutrient intake and early growth for later insulin resistance in adolescents born preterm. *Lancet.* 2003;361:1089-97.
- Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Deanfield J, Lucas A. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation.* 2004;109:1108-13 (a).
- Singhal A, Lucas A. Early origins of cardiovascular disease: is there a unifying hypothesis? *Lancet.* 2004;363 (9421):1642-5 (b).
- Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M. Promotion of faster weight gain in infants born small for gestational age: is there an adverse effect on later blood pressure? *Circulation.* 2007;115:213-220.
- Skilton MR, Celermajer DS. Endothelial dysfunction and arterial abnormalities in childhood obesity. *Int J Obes.* 2006;30:1041-9.
- Skogstrand K, Hougaard DM, Schendel DE, Bent NP, Svaerke C, Thorsen P. Association of preterm birth with sustained postnatal inflammatory response. *Obstet Gynecol.* 2008;111(5):1118-28.
- Slein MW. *Methods of Enzymatic Analysis.* Bergmeyer HU, Ed. Academic Press, New York, NY 1974;1196-1201.
- Sohi G, Revesz A, Hardy DB. Permanent implications of intrauterine growth restriction on cholesterol homeostasis. *Semin Reprod Med.* 2011;29(3):246-56.
- Soldin S, Henderson L, Hill G. The effect of bilirubin and ketones on reaction rate methods for the measurement of creatinine. *Clin Biochem.* 1978:82-6 .

- Somerset D, Li X, Afford S, Strain A, Ahmed A, Sangha R, Whittle M, Kilby M. Ontogeny of Hepatocyte Growth Factor (HGF) and its receptor (c-met) in human placenta. Reduced HGF expression in intrauterine growth restriction. *Am J Pathol.* 1998;153:1139-47.
- Soto A, Bellido D, Buño M, Pértega S, Martínez M, Vidal O. Asociación entre inflamación y resistencia a la insulina en el síndrome metabólico. *Rev Esp Obes.* 2006;4:49-55.
- Sowers JR. Endocrine functions of adipose tissue: focus on adiponectin. *Clin Cornerstone.* 2008;9(1):32-8.
- Soylemez N, Demirbag R, Sezen Y, Yildiz A, Akpinar O. The levels of the leptin and adiponectin according to body mass index and their relationship with oxidative parameters. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2010;10(5):391-6.
- Stefan N, Bunt JC, Salbe AD, Funahashi T, Matsuzawa Y, Tataranni PA. Plasma adiponectin concentrations in children: relationships with obesity and insulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4652-6.
- Steppan C, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001;409:307-12.
- Stern J, Lewis WHP. The colorimetric estimation of calcium in serum with O-cresolphthalein complexone. *Clin Chim Acta.* 1957;2:576-80.
- Street ME, Seghini P, Fieni S, Ziveri MA, Volta C, Martorana D, Viani I, Gramellini D, Bernasconi S. Changes in interleukin-6 and IGF system and their relationships in placenta and cord blood in newborns with fetal growth restriction compared with controls. *Eur J Endocrinol.* 2006;155:567-74.
- Street ME, Volta C, Ziveri MA, Viani I, Bernasconi S. Markers of insulin sensitivity in placentas and cord serum of intrauterine growth-restricted newborns. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009;71(3):394-9.
- Street ME, Viani I, Ziveri MA, Volta C, Smerieri A, Bernasconi S. Impairment of insulin receptor signal transduction in placentas of intra-uterine growth-restricted newborns and its relationship with fetal growth. *Eur J Endocrinol.* 2011;164(1):45-52.
- Sturgess ML, Weeks I, Evans PJ, Mpoko CN, Laining I, Woodhead JS. An immunochemiluminometric assay for serum free thyroxine. *Clin Endocrinol.* 1987;27:383-93.
- Surmi BK, Hasty AH. Macrophage infiltration into adipose tissue: initiation, propagation and remodeling. *Future Lipidol.* 2008;3:545-56.
- Suzuki K, Inoue T, Hashimoto S, Ochiai J, Kusuhara Y, Ito Y, Hamajima N. Association of serum carotenoids with high molecular weight adiponectin and

- inflammation markers among Japanese subjects. *Clin Chim Acta*. 2010;411(6):1330-4.
- Syrenicz A, Garanty-Bogacka B, Syrenicz M, Gebala A, Dawid C, Walczak M. Relation of low-grade inflammation and endothelial activation to blood pressure in obese children and adolescents. *Neuro Endocrinol Lett*. 2006;27:459-64.
- Szalowska E, Elferink MG, Hoek A, Groothuis GM, Vonk RJ. Resistin is more abundant in liver than adipose tissue and is not up-regulated by lipopolysaccharide. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:3051-7.
- Tahara N, Yamagishi SI, Matsui T, Takeuchi M, Nitta Y, Kodama N, Mizoguchi M, Imaizumi T. Serum levels of advanced glycation end products (ages) are independent correlates of insulin resistance in nondiabetic subjects. *Cardiovasc Ther*. 2010. (Publicación on line). doi: 10.1111/j.1755-5922.2010.00177.x.
- Takaya J, Yamato F, Higashino H, Kaneko K. Intracellular magnesium and adipokines in umbilical cord plasma and infant birth size. *Pediatr Res*. 2007;62(6):700-3.
- Talke H, Schubert GE. Enzymatic urea determination in the blood and serum in the warburg optical test. *Klin Wochenschr*. 1965;43:174.
- Tanner JM. Growth at adolescence. Oxford: Blackwell Scientific, 1962;325. 2nd Ed. London.
- Ten S, Maclaren N. Insulin resistance syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2526-39.
- Thenola S, Martikainen A, Rahiala E, Herrgard E, Halonen P, Voutilainen R. Serum lipid concentrations and growth characteristic in 12 years old children born small for gestational age. *Pediatr Res*. 2000;48:623-8.
- Thenola S, Halonen P, Jääskeläinen J, Voutilainen R. Serum markers of GH and insulin action in 12-year-old children born small for gestational age. *Eur J Endocrinol*. 2005;152:335-40.
- Theodorsen L, Stromme JH. Gamma-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide: the substrate of choice for routine determinations of gamma-glutamyl-transferase activity in serum? *Clin Chim Acta*. 1976;72:205.
- Therond P. Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Ann Pharm Fr*. 2006;64(6):383-9.
- Tietz NW, Editor. Clinical guide to laboratory tests, 2nd Ed. Philadelphia: WB Saunders, 1990;333.
- Tietz NW, Editor. Clinical guide to laboratory tests, 3rd Ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1995.

- Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(10):772-83.
- Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 2008;14(3-4):222-31.
- Tong KM, Shieh DC, Chen CP, Tzeng CY, Wang SP, Huang KC, Chiu YC, Fong YC, Tang CH. Leptin induces IL-8 expression via leptin receptor, IRS-1, PI3K, Akt cascade and promotion of NF-kappaB/p300 binding in human synovial fibroblasts. *Cell Signal.* 2008;20:1478-88.
- Torre P, Ladaki C, Scirè G, Spadoni GL, Cianfarani S. Catch-up growth in body mass index is associated neither with reduced insulin sensitivity nor with altered lipid profile in children born small for gestational age. *J Endocrinol Invest.* 2008;31(9):760-4.
- Torres M, Tormo M, Campillo C, Carmona M, Torres M, Reymundo M, García P, Campillo J. Factores etiológicos y de riesgo cardiovascular en niños extremeños con obesidad. Su relación con la resistencia a la insulina y la concentración plasmática de adipocitoquinas. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61(9):923-9.
- Townsend RR, Chirinos JA, Parsa A, Weir MA, Sozio SM, Lash JP, Chen J, Steigerwalt SP, Go AS, Hsu CY, Rafey M, Wright JT Jr, Duckworth MJ, Gadegebeku CA, Joffe MP. Central pulse pressure in chronic kidney disease: a chronic renal insufficiency cohort ancillary study. *Hypertension.* 2010;56(3):518-24.
- Tsai PJ, Yu CH, Hsu SP, Lee YH, Chiou CH, Hsu YW, Ho SC, Chu CH. Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. *Clin Endocrinol.* 2004;61:88-93.
- Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, Heuser JE, Lodish HF. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and scavenger specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem.* 2003;278:50810-7.
- Trayhurn P, Wood S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* 2004;92:347-55.
- Tresaco B, Bueno G, Pineda I, Moreno LA, Garagorri JM, Bueno M. Homeostatic model assessment (HOMA) index cut-off values to identify the metabolic syndrome in children. *J. Physiol. Biochem.* 2005;61(2):381-8.
- Trivedi R, Rebar L, Berta E. New enzymatic method for serum uric acid at 500 nm. *Clin Chem.* 1978;24(11):1908-11.
- Tucker J, McGuire W. Epidemiology of preterm birth. *BMJ.* 2004;329:675-8.
- Tobias JH, Cooper C. PTH/PTHrP activity and the programming of skeletal development in utero. *J Bone Miner Res.* 2004;19:177-82.

- Turpaev KT. Reactive oxygen species and regulation of gene expression. *Biochem.* 2002;67(3):281-92.
- Tzschoppe A, Struwe E, Rascher W, Dörr HG, Schild RL, Goecke TW, Beckmann MW, Hofner B, Kratzsch J, Dötsch J. Intrauterine growth restriction (IUGR) is associated with increased leptin synthesis and binding capability in neonates. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(4):459-66.
- Unger BL, McGee DW. Hepatocyte growth factor and keratinocyte growth factor enhance IL-1-induced IL-8 secretion through different mechanisms in Caco-2 epithelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2011;47(2):173-81.
- Ustundag B, Gungor S, Aygün AD, Turgut M, Yilmaz E. Oxidative status and serum leptin levels in obese prepubertal children. *Cell Biochem Funct*. 2007;25(5):479-83.
- Uthaya S, Thomas EL, Hamilton G, Dore CJ, Bell J, Modi N. Altered adiposity after extremely preterm birth. *Pediatr Res*. 2005;57:211-5.
- Vaag A, Jensen CB, Poulsen P, Brons C, Pilgaard K, Grunnet L, Vielwerth S, Alibegovic A. Metabolic aspects of insulin resistance in individuals born small for gestational age. *Horm Res*. 2006;65(3):137-43.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-8.
- Valle M, Gascón F, Martos R, Ruz FJ, Bermudo F, Morales R, Cañete R. Metabolic cardiovascular syndrome in obese prepubertal children: the role of high fasting insulin levels. *Metabolism*. 2002;51:423-8.
- Valle Jiménez M, Martos Estepa R, Morales Camacho R, Cañete Estrada R, Gascón Luna F, Bermudo Guitarte F. Endothelial dysfunction is related to insulin resistance and inflammatory biomarker levels in obese prepubertal children. *Eur J Endocrinol*. 2007;156:497-502.
- Valuniene M, Verkauskiene R, Boguszewski M, Dahlgren J, Lasiene D, Lasas L, Wikland KA. Leptin levels at birth and in early postnatal life in small- and appropriate-for-gestational-age infants. *Medicin*. 2007;43:784-91.
- Valsamakis G, Kanaka-Gantenbein C, Malamitsi-Puchner A, Mastorakos G. Causes of intrauterine growth restriction and the postnatal development of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092:138-47.
- Van Gaal LC, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006;444:875-80.
- Varvarigou AA. Intrauterine growth restriction as a potential risk factor for disease onset in adulthood. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2010;23(3):215-24.

- Veening MA, Van Weissenbruch MM, Delemarre-Van De Waal HA. Glucose tolerance, insulin sensitivity, and insulin secretion in children born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4657–61.
- Vignini A, Nanetti L, Moroni C, Testa R, Sirolla C, Marra M, Manfrini S, Fumelli D, Marcheselli F, Mazzanti L, Rabini RA. A study on the action of vitamin E supplementation on plasminogen activator inhibitor type 1 and platelet nitric oxide production in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008;18(1):15-22.
- Vogel S, Trapp T, Börger V, Peters C, Lakbir D, Dilloo D, Sorg RV. Hepatocyte growth factor-mediated attraction of mesenchymal stem cells for apoptotic neuronal and cardiomyocytic cells. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67:295-303.
- Vogelsang A, van Lingen RA, Slootstra J, Dikkeschei BD, Kollen BJ, Schaafsma A, van Zoeren-Grobbe D. Antioxidant role of plasma carotenoids in bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Int J Vitam Nutr Res.* 2009;79(5-6):288-96.
- Wada J. Vaspin: a novel serpin with insulin-sensitizing effects. *Expert Opin Investig Drugs.* 2008;17:327-33.
- Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. Expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture: integrated response to TNF- α . *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288:731-40.
- Wang J, Shang LX, Dong X, Wang X, Wu N, Wang SH, Zhang F, Xu LM, Xiao Y. Relationship of adiponectin and resistin levels in umbilical serum, maternal serum and placenta with neonatal birth weight. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2010;50(5):432-8.
- Wang H, Necheles J, Birme JS, Li Z, Xing H, Tang G, Christoffel KK, Brickman WJ, Zimmerman D, Wang X. Association of adipokines with blood pressure in rural Chinese adolescents. *J Hum Hypertens.* 2011. [Epub ahead of print].
- Wärnberg J, Moreno LA, Mesana MI, Marcos A, grupo AVENA. Inflammatory mediators in overweight and obese spanish adolescents. The AVENA study. *Int J Obes.* 2004;28:59-63.
- Wärnberg J, Marcos A. Low-grade inflammation and the metabolic syndrome in children and adolescents. *Curr Opin Lipidol.* 2008;19:11-5.
- Warn J, Nova E, Moreno LA, Romeo J, Mesana MI, Ruiz JR, Ortega FB, Sjöström M, Bueno M, Marcos A, grupo de estudio AVENA. Inflammatory proteins are related to total and abdominal adiposity in a healthy adolescent population: the AVENA Study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:505-12.
- Weiss R, Dziura J, Burgert T, Tamborlane W, Taksali S, Yeckel C, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin R, Caprio S. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med.* 2004;350:2362-74.

- Wen X, Triche EW, Hogan JW, Shenassa ED, Buka SL. Prenatal factors for childhood blood pressure mediated by intrauterine and/or childhood growth? *Pediatrics*. 2011;127(3):713-21
- Wiedmeier JE, Joss-Moore LA, Lane RH, Neu J. Early postnatal nutrition and programming of the preterm neonate. *Nutr Rev*. 2010;69(2):76-82.
- Willemsen RH, van Dijk M, de Rijke YB, van Toorenenbergen AW, Mulder PG, Hokken-Koelega AC. Effect of growth hormone therapy on serum adiponectin and resistin levels in short, small-for-gestational-age children and associations with cardiovascular risk parameters. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:117-23
- Willemsen RH, de Kort SW, van der Kaay DC, Hokken-Koelega AC. Independent effects of prematurity on metabolic and cardiovascular risk factors in short small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:452-8.
- Wit JM, Finken MLL, Rijken M, Zegher F. Preterm Growth Restraint: A paradigm that unifies intrauterine growth retardation and preterm extrauterine growth retardation and has implications for the small-for-gestational-age indication in growth hormone therapy. *Pediatrics*. 2006;117:793-5.
- Wu B, Kukuo K, Suzuki K, Yoshino G, Kazumi T. Relationships of systemic oxidative stress to body fat distribution, adipokines and inflammatory markers in healthy middle-aged women. *Edocr J*. 2009;56(6):773-82.
- Wu JT, Wu LL. Linking inflammation and atherogenesis: soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. *Clin Chim Acta*. 2006;366:74-80.
- Yagüe R, Pastor C, Medina P. Alteraciones del metabolismo del calcio, fósforo y magnesio. P 593-02. En: Carnevali D, Medina P, Pastor C, Sánchez MD, Satué JA. Editores. Manual de diagnóstico y terapéutica médica. Hospital 12 de Octubre. 3ª Ed. Madrid. 1994.
- Yajnik CS. Early life origins of insulin resistance and type 2 diabetes in India and other asian countries. *J Nutr*. 2004;134(1):205-10.
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi Y, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and apoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem*. 2003;278:2461-8.
- Yanai H, Tomono Y, Ito K, Furutani N, Yoshida H, Tada N. The underlying mechanisms for development of hypertension in the metabolic syndrome. *Nutr J*. 2008;17:7-10.
- Yanagawa Y, Morimura T, Tsunekawa K, Seki K, Ogiwara T, Kotajima N, Machida T, Matsumoto S, Adachi T, Murakami M. Oxidative stress associated with rapid

- weight reduction decreases circulating adiponectin concentrations. *Endocr J*. 2010;57(4):339-45.
- Yang R, Li W, Shi Y, Le G. Analysis of correlation between serum somatostatin levels, antioxidant index and metabolic syndrome. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2011;40(4):466-7.
- Yano M, Kishida E, Iwasaki M, Kojo S, Masuzawa Y. Docosahexaenoic acid and vitamin E can reduce human monocytic U937 cell apoptosis induced by tumor necrosis factor. *J Nutr*. 2000;130(5):1095-101.
- Yeh SL, Wang HM, Chen PY, Wu TC. Interactions of beta-carotene and flavonoids on the secretion of pro-inflammatory mediators in an in vitro system. *Chem Biol Interact*. 2009;179(2-3):386-93.
- Yoshida T, Nagasaki H, Asato Y, Ohta T. The ratio of high-molecular weight adiponectin and total adiponectin differs in preterm and term infants. *Pediatr Res*. 2009;65(5):580-3.
- Yoshida T, Nagasaki H, Asato Y, Ohta T. Early weight changes after birth and serum HMW-adiponectin level in preterm infants. *Pediatr Int*. 2011. [Epub ahead of print].
- Yu VYH. Extrauterine Growth restriction in preterm infants: importance of optimizing nutrition in neonatal intensive care units. *Croat Med J*. 2005;46(5):737-43.
- Zadrozna M, Gawlik M, Nowak B, Marcinek A, Mrowiec H, Walas S, Wietecha-Posluszny R, Zagrodzki P. Antioxidants activities and concentration of selenium, zinc and copper in preterm and IUGR human placentas. *J Trace Elem Med Biol*. 2009;23(2):144-8.
- Zandi-Nejad K, Luyckx VA, Brenner BM. Adult hypertension and kidney disease: the role of fetal programming. *Hypertension*. 2006;47:502-8.
- Zhao P, Zhang XL, Yu C, Lu XY, Wang YM. Umbilical cord serum levels of insulin-like growth factor-1, insulin and growth hormone in neonates with intrauterine growth retardation. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2010;12(10):771-3.
- Zimmet P, Alberti KG, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S. IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents- an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes*. 2007;8:299-306.
- Zou ChCh, Liang L, Hong F. Relationship between insulin resistance and serum levels of adiponectin and resistin with childhood obesity. *Indian Pediatr*. 2007;44:275-9.

