



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Facultad de Medicina y Enfermería

Departamento de Ciencias Morfológicas y Sociosanitarias

Doctorado en Biomedicina

RELEVANCIA DEL ÁCIDO ÚRICO Y MARCADORES DE FUNCIÓN  
HEPÁTICA EN EL SÍNDROME METABÓLICO, DISFUNCIÓN  
ENDOTELIAL E INFLAMACIÓN, EN RESPUESTA AL  
TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD INFANTIL.

URIC ACID AND LIVER FUNCTION MARKERS RELEVANCE IN METABOLIC  
SYNDROME, ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND INFLAMMATION, IN  
RESPONSE TO THE TREATMENT OF CHILDHOOD OBESITY

---

TESIS DOCTORAL

ROSARIO VALLE MARTOS

DIRECTORES DE TESIS:

Prof. Dr. LUIS JIMÉNEZ REINA

Dra. MARÍA DOLORES CAÑETE VÁZQUEZ

CÓRDOBA, Noviembre 2022

TITULO: *Relevancia del ácido úrico y marcadores de función hepática en el síndrome metabólico, disfunción endotelial e inflamación, en respuesta al tratamiento de la obesidad infantil*

AUTOR: *Rosario Valle Martos*

---

© Edita: UCOPress. 2023  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>  
[ucopress@uco.es](mailto:ucopress@uco.es)

---



**TÍTULO DE LA TESIS:** RELEVANCIA DEL ÁCIDO ÚRICO Y MARCADORES DE FUNCIÓN HEPÁTICA EN EL SÍNDROME METABÓLICO, DISFUNCIÓN ENDOTELIAL E INFLAMACIÓN, EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD INFANTIL.

**DOCTORANDO/A:** ROSARIO VALLE MARTOS

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

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La Tesis doctoral presentada por la Lda. Doña ROSARIO VALLE MARTOS ha sido realizada en el Departamento de Ciencia Morfológicas y Sociosanitarias, de la Facultad de Medicina y Enfermería, bajo la dirección del Prof. Luis Jiménez Reina y la Dra. María Dolores Cañete Vázquez ambos de la Universidad de Córdoba.

La revisión bibliográfica de la introducción está actualizada con bibliografía muy reciente.

La hipótesis está bien enunciada, así como los objetivos planteados, a los cuales se adaptan posteriormente las conclusiones.

Este trabajo se ha proyectado sobre una muestra de niños prepúberes con obesidad y peso normal habiendo recibido acreditación del Comité Ético y de Investigación Clínica.

La memoria de la tesis ha sido realizada de acuerdo con los plazos estipulados y asimismo se han ido presentando a la Comisión del Doctorado. El desarrollo se ha hecho sobre estos niños a los que se han analizado diversos parámetros bioquímicos que quedan expuestos claramente en el apartado de materiales y métodos, obteniendo resultados que han permitido la elaboración de unas conclusiones concisas.

Los resultados de esta memoria de Tesis Doctoral se han financiado con dos proyectos del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS PI021155 y FIS PI183/97) y un proyecto del Servicio Andaluz de Salud (PI4400).

Esta tesis posee criterios de calidad de acuerdo a los establecidos en el programa de Biomedicina de la Universidad de Córdoba, que se adjuntan en el correspondiente documento.

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

Córdoba, 28 de septiembre de 2022

Firma del/de los director/es

**JIMENEZ  
REINA LUIS  
ANTONIO -  
30419949B**

Firmado digitalmente  
por JIMENEZ REINA  
LUIS ANTONIO -  
30419949B  
Fecha: 2022.09.28  
22:45:23 +02'00'

Fdo.: Luis Jiménez Reina

**M  
DOLORES  
CAÑETE  
VÁZQUEZ**

Firmado digitalmente  
por M DOLORES  
CAÑETE VÁZQUEZ  
Fecha: 2022.09.29  
17:03:04 +02'00'

Fdo.: María Dolores Cañete Vázquez





A mi padre, admiro su fuerza.

Nada de lo que soy y ninguna de las cosas  
importantes que tengo en mi vida existiría  
sin ellos, sin lo que han creado ellos,

mi padre y mi madre.

## AGRADECIMIENTOS

. Al Profesor Luis Jiménez Reina, conocido en mis inicios de estudiante de la Universidad de Medicina de Córdoba como un gran profesor, y que después me ha dado la oportunidad de continuar mi formación y experiencia con esta Tesis.

. A la Doctora María Dolores Cañete Vázquez por el apoyo y la constancia, así como el haber aportado todos sus conocimientos al conducir el proceso, y conseguir de este trabajo un buen camino y resultado.

. Al Profesor Ramón Cañete Estrada por ser una imagen de referencia como investigador, y a su vez, del saber disfrutar con los proyectos desde los andamios hasta el tejado.

. A todos los pacientes y sus familias que participaron en el proyecto y confían en la investigación y el estudio continuo para mejorar la Salud individual y colectiva.

. A la Universidad de Córdoba en general, y en especial al Instituto de Estudios de Postgrado de la misma, donde se avala rigor y profesionalidad a la hora de iniciar y poder conseguir este tipo de proyectos.

. Al IMIBIC, centro de referencia de Investigación Biomédica, que apoya a jóvenes emprendedores, con variedad de oportunidades y actividades.

. Los resultados presentados en este trabajo se financiaron con dos proyectos del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS PI021155 y FIS PI183/97) y un proyecto del Servicio Andaluz de Salud (PI4400).

. A mi familia, que ha formado parte de todo esto desde el inicio, y me ha acompañado hasta el final.

## **PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS:**

- Valle-Martos R, Valle M, Martos R, Cañete R, Jiménez-Reina L, Cañete MD. Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity. *Front Pediatr.* 2021 Feb 16;9:629346. doi: 10.3389/fped.2021.629346.

- Valle M, Martos R, Cañete MD, Valle R, van Donkelaar EL, Bermudo F, Cañete R. Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children. *Pediatr Diabetes.* 2015 Sep;16(6):441-7. doi: 10.1111/pedi.12199.

## **COMUNICACIONES:**

- R. Valle-Martos, M.D. Cañete Vázquez, R. Martos estepa, Miguel Valle Jiménez, Ramón Cañete Estrada, Luis Jiménez Reina. Asociación entre ácido úrico, tensión arterial y medidas antropométricas en niños obesos prepúberes después de 9 meses de tratamiento. XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. Málaga. Octubre 2018.

- Rosario Valle Martos, María Dolores Cañete Vázquez, Rosario Martos Estepa, Miguel Valle Jiménez, Ramón Cañete Estrada, Luis Jiménez Reina. Relación entre niveles de alanina aminotransferasa, marcadores de inflamación y medidas antropométricas en niños obesos prepúberes. XLI Congreso de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica. 2019.

- Valle Martos, R. Cañete Vázquez, M.D. Martos Estepa, R. Valle Jiménez, M. Cañete Estrada, R. Jiménez Reina, L. Asociación entre enzimas de función hepática y marcadores



de disfunción endotelial en niños prepúberes obesos. 33º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. 2019.

- Valle Martos, R. Cañete Vázquez, M.D. Martos Estepa, R. Valle Jiménez, M. Cañete Estrada, R. Jiménez Reina, L. Relación entre alanina aminotransferasa y variables asociadas al síndrome metabólico en niños obesos prepúberes. 33º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. 2019.

- Rosario Valle Martos, Rosario Martos Estepa, Miguel Valle Jiménez, Ramón Cañete Estrada, Luis Jiménez Reina, María Dolores Cañete Vázquez. Asociación entre enzimas de función hepática, adipocinas y marcadores de resistencia a la insulina en niños prepúberes con obesidad. 34º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. 2020.

- Rosario Valle Martos, Rosario Martos Estepa, Miguel Valle Jiménez, Ramón Cañete Estrada, Luis Jiménez Reina, María Dolores Cañete Vázquez. Los niveles séricos de ácido úrico se correlacionan con marcadores de inflamación de fácil aplicación y valores de leptina en niños prepúberes con obesidad. 34º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. 2020.

-

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

ALT = alanina aminotransferasa

Apo-AI = apolipoproteína A-I

Apo B = apolipoproteína B

AST = aspartato aminotransferasa

AU = ácido úrico

CC = circunferencia cintura

ChE = colinesterasa

EHGNA = enfermedad del hígado graso no alcohólico

ChE = colinesterasa

HD-c = colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad

HOMA-IR = del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance

IL-6 = interleuquina 6

IMC = índice de masa corporal

IMC-SDS = IMC-standard deviation score

INL = índice neutrófilos/linfocitos

IPL = índice plaquetas/linfocitos

MAFLD = enfermedad del hígado graso asociado a disfunción metabólica

MetS= síndrome metabólico

PCR = proteína C reactiva

RI = resistencia a la insulina

sICAM-1 = molécula de adhesión intercelular 1 soluble

TAD = tensión arterial diastólica

TAS = tensión arterial sistólica



## -ÍNDICE-

<b>I.- INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>19</b>
<b>1.- OBESIDAD</b>	<b>22</b>
<b>1.1.- Concepto .....</b>	<b>22</b>
<b>1.2.- Medidas .....</b>	<b>23</b>
<b>1.3.- Epidemiología .....</b>	<b>26</b>
<b>1.4.- Alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad .....</b>	<b>30</b>
<b>1.5.- Morbilidades relacionadas con la obesidad .....</b>	<b>32</b>
<b>2.- SÍNDROME METABÓLICO</b>	<b>35</b>
<b>2.1.- Historia .....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.- Prevalencia en adultos e infancia .....</b>	<b>36</b>
<b>2.3.- Definiciones .....</b>	<b>37</b>
<b>2.4.- Síndrome metabólico y obesidad .....</b>	<b>42</b>
<b>2.5.- Síndrome metabólico y otras asociaciones patológicas .....</b>	<b>43</b>
<b>3.- RELEVANCIA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES</b>	<b>44</b>
<b>4.- TRATAMIENTO DE OBESIDAD Y MetS EN LA INFANCIA</b>	<b>46</b>
<b>5.- ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO</b>	<b>49</b>
<b>5.1.- Histopatología .....</b>	<b>49</b>
<b>5.2.- Epidemiología .....</b>	<b>51</b>
<b>5.3.- Patologías asociadas .....</b>	<b>52</b>
<b>5.4.- Fisiopatología .....</b>	<b>53</b>
<b>5.5.- Diagnóstico .....</b>	<b>56</b>
<b>5.6.- Tratamiento .....</b>	<b>58</b>

<b>5.7.- Evolución .....</b>	60
<b>6.- EVOLUCIÓN IDEA PRINCIPAL DE LA HIPÓTESIS</b>	61
<b>7.- MARCADORES</b>	62
<b>7.1.- Papel de la Inflamación .....</b>	62
7.1.1.- Factores y marcadores de inflamación .....	62
7.1.2.- Tejido adiposo .....	65
7.1.3.- Relevancia e implicación .....	67
<b>7.2.- Enzimas hepáticas. Alanina aminotransferasa .....</b>	68
7.2.1.- Su relación con el diagnóstico de EHGNA .....	68
7.2.2.- Utilidad en otras asociaciones .....	69
7.2.3.- Limitaciones .....	71
7.2.4.- Relación entre alanina aminotransferasa y ácido úrico en la EHGNA y MetS .....	71
<b>7.3.- Ácido úrico .....</b>	73
7.3.1.- Fisiopatología .....	73
7.3.2.- Ácido úrico y asociaciones patológicas .....	74
7.3.3.- Ácido úrico y síndrome metabólico .....	74
7.3.4.- Ácido úrico y tensión arterial .....	75
7.3.5.- Ácido úrico y resistencia a la insulina .....	75
7.3.6.- Ácido úrico y aterosclerosis .....	77
7.3.7.- Ácido úrico y EHGNA .....	77
7.3.8.- Ácido úrico y enfermedades cardiovasculares .....	77
7.3.9.- Relevancia de los valores de ácido úrico en la infancia .	79
<b>II.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	81
<b>1.- Función hepática y obesidad infantil. Hipótesis, objetivos .....</b>	83

<b>2.- Ácido úrico y obesidad infantil. Hipótesis, objetivos .....</b>	<b>84</b>
<b>III- PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>87</b>
<b>1.- DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO</b>	<b>89</b>
<b>2.- SELECCIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA</b>	<b>90</b>
2.1.- Ámbito de estudio .....	90
2.2.- Sujetos de estudio .....	90
2.3.- Tamaño de la muestra .....	93
<b>3.- RECOGIDA DE DATOS</b>	<b>94</b>
3.1.- Protocolo de estudio .....	94
3.2.- Protocolo de tratamiento .....	94
3.3.- Determinaciones analíticas .....	95
3.4.- Medidas antropométricas .....	97
3.5.- Medida de la tensión arterial .....	97
<b>4.- MÉTODOS ANALÍTICOS</b>	<b>98</b>
4.1.- Muestras .....	98
4.2.- Determinaciones analíticas .....	98
4.2.1.- Función hepática y ácido úrico .....	98
4.2.2.- Metabolismo hidrocarbonado .....	98
4.2.3.- Metabolismo lipídico .....	99
4.2.4.- Marcadores de inflamación .....	100
4.2.5.- Marcadores de disfunción endotelial .....	100
4.2.6.- Hemograma .....	101
4.2.7.- Leptina .....	101
<b>5.- CONTROL DE CALIDAD</b>	<b>102</b>

<b>6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	103
<b>IV.- RESULTADOS</b>	105
<b>1.- TOTAL DE NIÑOS ESTUDIADOS</b>	107
1.1.- Comparación entre niños con obesidad y niños con peso normal .....	109
1.1.1.- Parámetros clínicos y antropométricos .....	109
1.1.2.- Valores de ácido úrico, enzimas hepáticas y bilirrubina .....	109
1.1.3.- Síndrome metabólico, inflamación, disfunción endotelial y leptina	113
<b>2.- PROGRAMA DE TRATAMIENTO .....</b>	<b>115</b>
<b>2.1.- Comparación entre los niños con obesidad que disminuyeron su</b>	
<b>IMC-SDS y los que mantienen su IMC-SDS estable tras el tratamiento ....</b>	<b>115</b>
2.1.1.- Resultados a nivel basal. Parámetros clínicos, antropométricos, variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina .....	115
2.1.2.- Resultados después de nueve meses de tratamiento. Parámetros clínicos, antropométricos, variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina .....	118
<b>2.2.- Función hepática. Valores de enzimas hepáticas, colinesterasa y bilirrubina.</b>	
2.2.1.- Resultados basales, previo al tratamiento .....	121
2.2.2.- Resultados después de nueve meses de tratamiento .....	125
2.2.2.1.- Valores de enzimas hepáticas, bilirrubina y colinesterasa en el grupo de niños que disminuyeron su IMC-SDS comparado con los niños que mantienen su IMC-SDS estable tras el tratamiento .....	125
2.2.2.2.- Asociación entre los cambios en los niveles de enzimas hepáticas y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina, después de nueve meses de tratamiento .....	129
2.2.2.3.- Asociación entre los cambios en los niveles de bilirrubina y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina, después de nueve meses de tratamiento .....	133

<b>2.3.- Valores de ácido úrico .....</b>	<b>137</b>
2.3.1.- Resultados basales, previo al tratamiento .....	137
2.3.1.1.- Correlación entre los valores de ácido úrico y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina, a nivel basal .....	138
2.3.2.- Resultados después de nueve meses de tratamiento .....	141
2.3.2.1.- Valores de ácido úrico en el grupo de niños que disminuyeron su IMC-SDS, comparado con los niños que mantienen su IMC-SDS estable tras el tratamiento .....	141
2.3.2.2.- Asociación entre los cambios en los niveles de ácido úrico y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina, tras el tratamiento.....	144
<b>V.- DISCUSIÓN</b>	<b>149</b>
<b>1.- OBESIDAD INFANTIL Y EHGNA</b>	<b>152</b>
1.1.- Enzimas hepáticas, resistencia a la insulina y parámetros relacionados con el MetS .....	154
1.2.- Enzimas hepáticas, leptina y biomarcadores de inflamación .....	158
<b>2.- BILIRRUBINA, OBESIDAD INFANTIL Y PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL MetS</b>	<b>161</b>
<b>3. ÁCIDO ÚRICO Y OBESIDAD INFANTIL</b>	<b>163</b>
3.1. Ácido úrico y parámetros relacionados con el MetS .....	163
3.2. Ácido úrico y biomarcadores de inflamación, disfunción endotelial y presión arterial .....	166
3.3. Asociación entre cambios en los niveles de ácido úrico y cambios en el resto variables analizadas, después de nueve meses de tratamiento .....	168
<b>4. RELACIÓN ENTRE ÁCIDO ÚRICO Y ENZIMAS HEPÁTICAS EN EL MetS Y EHGNA</b>	<b>170</b>
<b>VI.- CONCLUSIONES</b>	<b>173</b>



<b>VII.- BIBLIOGRAFÍA</b>	177
<b>VIII.- RESUMEN</b>	217
<b>IX.- ANEXO 1</b>	221
<b>X.- ANEXO 2</b>	233



## **I.- INTRODUCCIÓN**



Nuestro proyecto inicia ante la visualización en la práctica clínica diaria de un problema de salud y económico-social. Partimos de una patología convertida en epidemia, la obesidad. Centrándonos en la población pediátrica.

Existen muchos estudios y patrones establecidos con respecto a la obesidad y, en su conjunto, el síndrome metabólico en adultos. En cambio, son mucho menores los abordajes en este ámbito en la franja pediátrica. Considerando necesario ampliar los estudios y proyectos de investigación, como una pieza clave para el conocimiento, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de esta amplia área. Pudiendo aportar nuevos datos y reafirmar algunos ya en estudio.

Nombrado como área previamente, ya que el estudio de la misma engloba diversas patologías y conceptos: obesidad, resistencia insulínica, hipertensión, afectación hepática, síndrome metabólico, marcadores bioquímicos.

Todos ellos serán abordados a lo largo de esta introducción y el resto de apartados para la comprensión completa de nuestra tesis.

## **1.- OBESIDAD**

### **1.1.- CONCEPTO**

La obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa corporal (*OMS, 2016*). Se clasifica según los valores del índice de masa corporal (IMC). En adultos, un IMC por encima de 25 se considera sobrepeso y superior a 30, obesidad. En rango pediátrico, se diagnostica según los valores IMC (peso y talla) reflejados en los percentiles por género y edad. Un IMC  $\geq$  o igual 95ºpercentil se considera obesidad. Un IMC  $\geq$  o igual 85ºpercentil y  $<$ 95ºpercentil se correspondería con sobrepeso (*Wittcopp C, 2016*).

Es una enfermedad compleja, crónica, multifactorial, con importantes implicaciones para la salud, que se suele iniciar en la infancia y adolescencia, resultado de un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético (*OMS, 2021*). En este desequilibrio participan numerosos factores: genéticos, metabólicos, ambientales, de comportamiento, sociales y culturales, entre otros (*Han JC, 2010*).

## 1.2.- MEDIDAS

Existen diversas técnicas de medida. Algunas de ellas con mayor grado de sofisticación, lo cual permiten determinar de forma más exacta la grasa y la composición corporal pero que por su complejidad técnica o alto coste sólo se utilizan para realizar trabajos clínicos con un número reducido de pacientes: tomografía axial computarizada, resonancia nuclear magnética, densitometría, técnicas dilucionales, interactancia infrarroja, impedanciometría, activación de neutrones, absorciometría radiológica de energía dual (DEXA) (*Sopher AB, 2004*) (*Taylor RW, 2000*).

Disponemos por lo tanto, de medidas aceptadas más accesibles en la práctica clínica habitual:

### **Medidas antropométricas:**

Las técnicas antropométricas son utilizadas de forma habitual en la práctica clínica, así como en estudios epidemiológicos, a partir de la medición del peso, talla, circunferencias y pliegues cutáneos (según edad y sexo), se establecen una serie de índices.

### **Índice de masa corporal**

El índice de masa corporal (IMC) es el que mejor correlación tiene con el porcentaje de grasa corporal, siendo útil para valorar la adiposidad. Se calcula por la fórmula:  $\text{Peso (Kg)} / \text{Talla}^2 \text{ (metros)}$ .

En los adultos es relativamente constante y proporciona la medida más útil del sobrepeso y la obesidad en la población, ya que es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades. De este modo, cuando su valor es superior a 30 se habla de obesidad y cuando está entre 25 y 30, de sobrepeso.

En los niños es necesario tener en cuenta la edad y el sexo, ya que hay varios periodos fisiológicos. El acúmulo de grasa se eleva durante el primer año y luego desciende para volver a subir a partir de los seis años, admitiéndose que el niño obeso a

esta edad tiene un riesgo elevado de seguir siéndolo en la adolescencia y, a su vez, el adolescente obeso de llegar a ser un adulto obeso.

Para poder comparar los resultados con los datos obtenidos por otros autores, se ha de valorar la situación ponderal teniendo en cuenta el Criterio de la International Obesity Task Force (IOTF) (Cole TJ, 2000;2007) y a nivel nacional se usan con frecuencia las curvas de crecimiento de la Fundación Orbegozo, tanto las del estudio transversal inicial (Hernández M, 1988) (Fernández C, 2011), como las del estudio longitudinal (Sobradillo B, 2004).

### **Relación lineal peso/talla**

Compara el peso real del niño con el peso “ideal” de un niño que tuviese su misma talla. Se formularía: peso real / peso “ideal” para la talla del niño x 100. El peso “ideal” es el que corresponde al P50 para la talla y sexo del niño. En general se considera que un niño tiene obesidad cuando su peso real es superior al 120% del peso ideal, estableciéndose distintos grados de obesidad.

### **Circunferencia de la cintura**

La circunferencia de la cintura es un buen indicador de la grasa intrabdominal responsable de un número importante de alteraciones metabólicas tanto en niños como en adultos. En distintos estudios el perímetro de la cintura se ha mostrado como predictor de resistencia a la insulina, alteraciones lipídicas y alteraciones de la presión arterial (Krebs NF, 2007). Se mide pasando la cinta métrica por una línea horizontal equidistante de la última costilla y la cresta iliaca, a nivel del ombligo, con el niño en posición erguida, con el abdomen relajado, los brazos a los lados y los pies señalando hacia delante y juntos.

Se utilizan para valorar la distribución de la grasa. Son útiles en adolescentes, en los que los cambios hormonales determinan el inicio del acúmulo graso con patrones similares al adulto. Los niños suelen tener una distribución homogénea y generalizada de la grasa.



### **Circunferencia de la cadera**

La medida se ha localizado en el punto de máxima circunferencia sobre los glúteos, colocando la cinta en un plano horizontal al suelo a la altura de los trocánteres mayores, medida en centímetros.

### **Medida de los pliegues cutáneos**

En la clínica diaria resulta poco práctica su aplicación, exige la utilización de un instrumento (caliper) que requiere práctica y entrenamiento en su manejo para evitar una variabilidad importante en las medidas. Con el aumento del grado de adiposidad, el error en las mediciones también sube.

Entre los pliegues medidos están el tricípital, bicipital, subescapular y suprailíaco, convencionalmente en el lado izquierdo. El más útil para valorar el porcentaje global de grasa y la obesidad periférica es el pliegue del tríceps, mientras que el pliegue subescapular valora preferentemente la grasa del tronco. Se han propuesto diversas ecuaciones para determinar la cantidad de grasa corporal total a partir de los pliegues cutáneos, pero existe gran imprecisión. También se ha introducido la medida del pliegue submandibular, correlacionándolo con otros parámetros nutricionales de medición de grasa.

### 1.3.- EPIDEMIOLOGÍA:

En cuanto a su epidemiología, se puede afirmar que la obesidad se ha convertido en una epidemia mundial, en la que más de 100 millones de niños de todo el mundo son obesos (*Afshin A, 2017*). Esta realidad introduce a la obesidad en un enclave de suma importancia y preocupación mundial. Ya no solo por la patología en sí, si no por todas las consecuencias que ella conlleva y que deben ser comprendidas y estudiadas. La obesidad sienta una base sobre la que se suman y añaden otras patologías con una interrelación con la misma y entre ellas. Por otro lado, genera un gasto social y sanitario considerable.

En la situación actual de pandemia por coronavirus (COVID-19) supone un riesgo añadido debido a que la obesidad representa un factor de riesgo para padecer una COVID grave.

En Europa, la obesidad infantil y el sobrepeso constituyen uno de los principales problemas de salud pública y se asocian a numerosas complicaciones de salud tanto en la infancia como posteriormente durante la edad adulta, como son la diabetes y las cardiopatías. Los niños y adolescentes con obesidad tienen unas 5 veces más probabilidades de presentar obesidad en la edad adulta (*Simmonds M, 2016*).

La Región Europea de la OMS impulsó en 2007, tras la Conferencia Ministerial Europea contra la Obesidad en 2006, la WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative (COSI), como sistema armonizado de vigilancia de la obesidad infantil en todos los estados miembros de la Unión Europea.

España participa en la iniciativa COSI a través del “Estudio ALADINO sobre la Alimentación, Actividad física, Desarrollo Infantil y Obesidad” que la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) desarrolla periódicamente desde 2011. Desde esta fecha se han realizado diferentes estudios en 2011, 2013, 2015, y el último de ellos, El Estudio ALADINO 2019, cuyos resultados se han dado a conocer en 2021 (*Estudio ALADINO, 2019*). Consolidándose como el estudio de referencia en España en la vigilancia del sobrepeso y obesidad infantil.

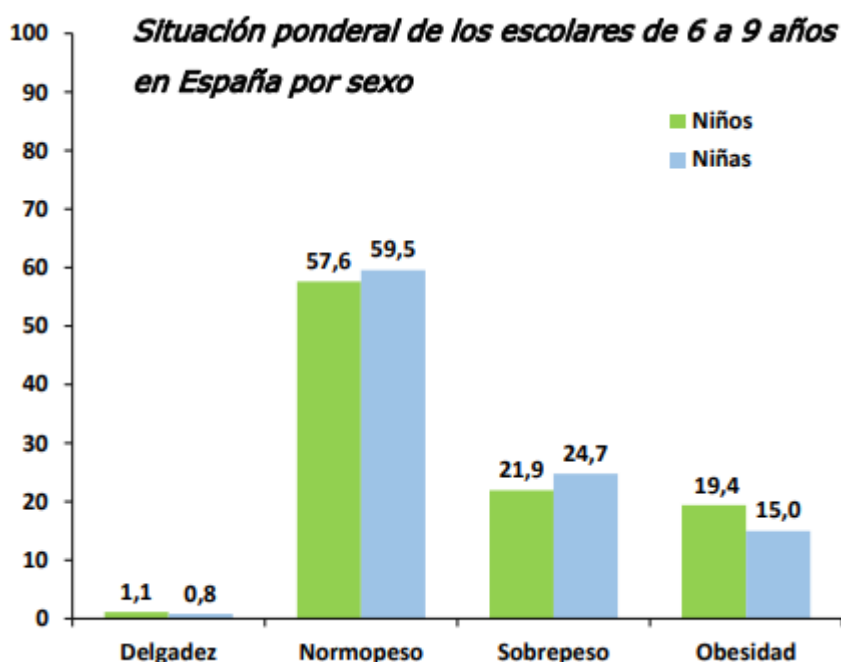
ALADINO 2019 es un estudio descriptivo transversal de las medidas antropométricas obtenidas por medición directa y de factores asociados obtenidos mediante cuestionarios en una muestra de 16.665 escolares. Representativa de la

población escolar de 6 a 9 años residente en España, obtenida de forma aleatoria. Son varios los motivos por los que se elige esta edad. Uno de ellos supone que con este rango de edad se reducen las posibles diferencias atribuibles a la edad de aparición de la pubertad. La prevalencia de obesidad es preocupante en esta edad, y además, la infancia es una etapa en la que se puede intervenir para adquirir buenos hábitos de vida que permitan prevenir la aparición de obesidad.

El 12 de mayo de 2021 se publicó dicho informe de la iniciativa COSI (WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative). Aparecen los resultados de la cuarta ronda de COSI 2015 – 2017 en la que participaron 36 países y que, en el caso de España, incluye los datos de ALADINO 2015. En los resultados publicados, la prevalencia de exceso de peso (sobrepeso + obesidad) en la región europea de la OMS (muestra total) fue de 29% en niños y 7% en niñas. Las prevalencias de exceso de peso más altas se observaron en algunos países mediterráneos [Chipre (niños 43,0%, niñas 43,1%), España (niños 42,4%, niñas 40,4%), Grecia (niños 42,0%, niñas 37,8%), Italia (niños 41,9%, niñas 38,5%)]. La prevalencia de obesidad en la región europea de la OMS (muestra total) fue del 13% en niños y 9% en niñas, siendo los países mediterráneos nuevamente los más afectados [Chipre (niños 21,5%, niñas 19,2%), España (niños 18,7%, niñas 16,8%), Grecia (niños 20,1%, niñas 14,3%) y Malta (niños 18,0%, niñas 14,9%)].

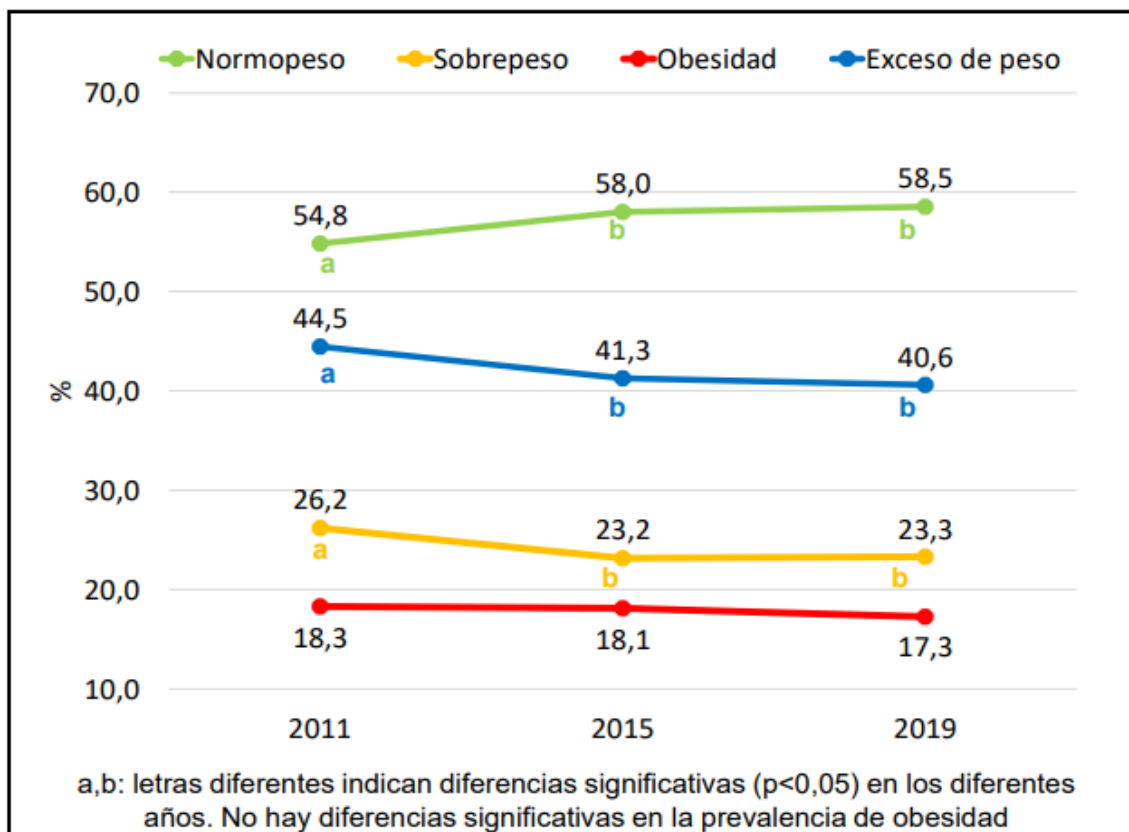
En España, los resultados de la siguiente ronda (2019) se han publicado en septiembre de 2020 (Estudio ALADINO 2019). La situación ponderal de los escolares de 6 a 9 años en España muestra una prevalencia de sobrepeso del 23,3% y de obesidad del 17,3% (Figura 1).

**Figura 1.-** Prevalencia de sobrepeso y obesidad según los estándares de situación ponderal de la OMS. (Estudio ALADINO 2019).



Entre 2011 y 2019 se observa un descenso del 2,9% en sobrepeso, 1,0% en obesidad y 3,9% en exceso de peso (sobrepeso + obesidad), más pronunciado entre 2011 y 2015 y con tendencia a la estabilización entre 2015 y 2019, cuando la disminución no alcanza significación estadística (Figura 2). En 2019, la prevalencia de obesidad central es de un 22,6% en el total de la muestra, sin diferencias entre niños (22,4%) y niñas (22,9%) Por sexo (Figura 1), el sobrepeso es significativamente más prevalente en niñas (24,7% en niñas y 21,9% en niños), y la obesidad, incluida la obesidad severa, es significativamente mayor en niños (19,4% en niños y 15,0% en niñas; o. severa: 6,0% en niños y 2,4% en niñas). Por edad, en los niños la frecuencia de sobrepeso es mayor en los de 9 años y la de obesidad en los de 7, 8 y 9, respecto a grupos de menor edad. En niñas, no hay diferencias por edad en el sobrepeso, mientras que la obesidad, aumenta de los 6 a los 8 años.

**Figura 2.-** Evolución de la prevalencia de sobrepeso, obesidad y exceso de peso, en escolares de 6 a 9 años, en las diferentes fases de ALADINO (estudios ALADINO 2011 a 2019).



#### 1.4.- ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS A LA OBESIDAD

En estudios realizados durante casi 35 años, Vague et al establecieron una asociación entre la distribución central de la grasa corporal y los efectos metabólicos desfavorables. Fue ya a principios de 1980 cuando este concepto fue aceptado, definiéndose progresivamente (*Bray GA, 1996*). La fisiopatología y evolución que conduce desde el estado de obesidad hasta los posibles patrones de enfermedad metabólica posteriores es amplia, y comprende varios posibles mecanismos.

La obesidad central supone aumento de adipocitos viscerales que contribuye a la infiltración por macrófagos y liberación de citocinas, con consecuente aumento de la inflamación sistémica (*Tilg H., 2008*). La disfunción de los adipocitos incluye una producción reducida de la adiponectina y una mayor liberación de ácidos grasos libres. Todo ello, a nivel periférico tiene un efecto de reducción de la capacidad de la insulina para estimular los transportadores de glucosa a la superficie celular (*Shulman GI, 2014*).

La obesidad se asocia frecuentemente con resistencia a la insulina, lo que conlleva una disminución de la habilidad de esta hormona para activar la captación de glucosa y su utilización y una respuesta compensatoria por las células  $\beta$  pancreáticas que determina una situación de hiperinsulinemia (*Samson SL, 2014*). En este proceso de desarrollo de resistencia a la insulina, (*Matsuzawa Y, 2011*) el tejido adiposo puede tener un papel importante liberando múltiples moléculas bioactivas (adipoquinas), entre otras, la leptina, factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), que desempeñan un papel importante en la fisiopatología de los trastornos metabólicos asociados a la obesidad. Junto a la resistencia a la insulina, la inflamación se encuentra entre los principales mecanismos implicados.

También demostrado en un estudio de Caprio et al (*Caprio S, 2018*), concluyen que un aumento en el tejido adiposo visceral y una capa superficial delgada de grasa subcutánea abdominal se asocian con la propensión a almacenar grasa en el hígado y los músculos, lo cual conduce a resistencia a la insulina y MetS. La escasa capacidad de la expansión de grasa subcutánea abdominal podría conducir a una acumulación excesiva de lípidos en el tejido adiposo visceral, que actúa como fuente importante de mediadores proinflamatorios y ácidos grasos libres (FFA), los dos principales participantes en el desarrollo del hígado graso y la resistencia a la insulina (*Umano Gr, 2018*). La activación

de los macrófagos del estroma del tejido adiposo puede ser el principal involucrado en la generación de IL-6 y TNF-alfa a partir de la inflamación, con mayor expresión de citocinas proinflamatorias (*Zeyda M, 2007*). Independientemente de la masa total de grasa corporal, una distribución alterada de la grasa abdominal representa un factor clave en la patogénesis de la resistencia a la insulina, enfermedad del hígado graso y síndrome metabólico en edad pediátrica.

## 1.5.- MORBILIDADES RELACIONADAS CON LA OBESIDAD

En 1765, Morgagni, un médico italiano, ya identifica las principales características de lo que ahora definimos como síndrome metabólico. En este sentido, describió la base anatómica de la obesidad androide y asoció dichos hallazgos con hipertensión, hiperuricemia, aterosclerosis y síndrome de apnea obstructiva del sueño, antes del reconocimiento moderno de este síndrome (*Enzi G, 2003*).

La obesidad en la infancia es un riesgo de síndrome metabólico a lo largo de la vida. Al igual que lo es la resistencia a la insulina y otros factores subyacentes como la inflamación sistémica y disfunción celular. Una intervención desde los inicios sobre los mismos puede ayudar a frenar el proceso de la enfermedad. Prevenir la obesidad en niños y adolescentes supone la mejor forma de reducir la prevalencia de síndrome metabólico en el futuro.

Por lo tanto, sabemos que el sobrepeso y la obesidad se asocian con comorbilidades importantes, que incluyen prediabetes y diabetes tipo 2, dislipidemia, prehipertensión e hipertensión, aterosclerosis subclínica, proteinuria y glomeruloesclerosis, hiperandrogenemia y síndrome de ovario poliquístico, deslizamiento de la epífisis de la cabeza femoral y pseudotumor cerebral (*Reinehr T, 2013*) (*McGill HC Jr, 2002*) (*Chirstensen SB, 2013*). También se asocia con morbilidad por enfermedades cardiovasculares y mortalidad prematura en la edad adulta (*Eriksson JG, 2015*) (*Tirosh A, 2011*) (*Franks PW, 2010*).

Cuanto mayor es la gravedad de la obesidad, mayores son los riesgos de factores cardiometabólicos, especialmente en los niños (*Skinner AC, 2015*). Estos riesgos de enfermedad cardiovascular entre niños y adolescentes que tenían obesidad, y se controlaron con un IMC normal, en la edad adulta parecen igualar el riesgo de ECV a los que nunca tuvieron obesidad (*Juonala M, 2011*).

La base se sustenta en que la obesidad conduce a una respuesta inflamatoria sistémica de bajo nivel, que afecta a hígado, vascular, músculo esquelético, riñón, páncreas, cerebro (*Saltiel AR, 2017*) (*Zhou H, 2020*). Se aumenta la circulación de ácidos grasos libres (FFA) en los tejidos, implicados en la patogénia proinflamatoria que se produce en adipocitos, células endoteliales vasculares y células mieloides. Estas citocinas



proinflamatorias estimulan el proceso patológico de acumulación grasa en los hepatocitos, y la inflamación crónica, pudiendo aumentar el riesgo de esteatohepatitis e incluso cáncer de hígado (*Sun B, 2012*) (*Pinheiro Volp AC, 2015*).

Últimos estudios centrados en la afectación hepática en pacientes obesos, nos muestran también un aspecto interesante para el diagnóstico y mediciones de obesidad. Cuando nos basamos en la división por IMC y comparamos con la circunferencia de cintura, se observa un mayor riesgo de mortalidad cardiovascular en pacientes con EHGNA que tienen IMC normal pero se clasifican como obesos por la circunferencia de la cintura que en aquellos con sobrepeso por IMC con EHGNA con una circunferencia de la cintura normal (*Golabi P, 2020*).

La obesidad, vista como causa importante de comorbilidad, riesgo para las enfermedades cardiovasculares y muerte, es una causa prevenible. Comprender el impacto de la obesidad en la respuesta inflamatoria y sus interacciones en el metabolismo, es un fundamento para la prevención y tratamiento de las patologías con las que se relaciona, incluido la enfermedad del hígado graso no alcohólica (EHGNA).

### **Necesidad de intervención temprana.**

En consecuencia, a nivel sociosanitario, se debe valorar los antecedentes médicos y familiares, junto a las evaluaciones de laboratorio en niños y adolescentes con sobrepeso u obesidad. Así identificar las comorbilidades de forma temprana e iniciar su tratamiento adecuado correspondiente.

El abordaje de la obesidad inicia con su diagnóstico, es decir, debe incluirse en las revisiones la medición de peso, altura, IMC y presión arterial.

Hay signos indirectos que pueden llamar la atención del médico, como la polidipsia, poliuria, pérdida de peso inexplicable como signos de prediabetes/diabetes. Dolores de cabeza frecuentes inexplicables, ronquidos, cansancio generalizado, somnolencia diurna excesiva como síntoma de hipertensión o apnea del sueño (*Wise MS, 2011*).

A medida que la proporción de población con obesidad sigue aumentando, la prevalencia del síndrome metabólico está aumentando tanto en niños como en adolescentes (*Ogden CL, 2016*). Trastornos que anteriormente se observaban principalmente en adultos. Por lo tanto, en los últimos años, la investigación sobre ello ha aumentado significativamente. Quedando aún muchas respuestas por aclarar con respecto a la definición de síndrome metabólico y las implicaciones para la atención clínica en Pediatría (*Magge SN, 2017*).

## 2.- SÍNDROME METABÓLICO

### 2.1.- HISTORIA

El síndrome metabólico (MetS), es una entidad médica definida por un conjunto de patologías en sí y modificaciones en diversos biomarcadores. Dada esta complejidad de asociaciones que se han ido documentando a lo largo de la historia, su mismo nombre y definición han ido cambiando. El concepto de síndrome metabólico más actual relacionado con lo que ahora conocemos, se inició con el llamado Síndrome X definido por Reaven en 1988, asociando la hipertensión, hiperglucemia y obesidad (*Reaven GM, 1988*). Ampliando por primera vez, la relación entre la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico a los tres conceptos anteriores, ya descritos en asociación en 1965 por Avogaro y Crepaldi (*Avogaro P, 1965*). Aunque su comienzo, incluso, puede retrasarse en el tiempo a la demostración de la asociación entre hipertensión, hiperglucemia y gota, por el médico Kylin en 1920 (*Kylin E, 1923*).

## 2.2.- PREVALENCIA EN ADULTOS E INFANCIA

Inicialmente, se consideró un síndrome con afectación en adultos, relacionándolo con un aumento de morbilidad y mortalidad. Sin embargo, posteriormente fue relacionado también con la infancia (*Weiss R, 2004*). Lo que nos marca un inicio más prematuro del daño metabólico y la concienciación de un estudio precoz. La prevalencia de MetS varía entre el 6% y el 39% debido a los diversos criterios diagnósticos en población pediátrica.

Los datos recogidos en la Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición de EE. UU. indican un aumento de la prevalencia de MetS pediátrico del 4 % al 9 % entre 1988 y 2006, con una prevalencia de 30 % a 50 % en niños obesos. Dado que la prevalencia de obesidad sigue en aumento, los datos de MetS también incrementarán.

En estudios en adultos, existe variación por edad, sexo y raza, siendo más común en blancos e hispanos en comparación con afroamericanos (*Lee AM, 2016*). Otra característica epidemiológica es el aumento del mismo en países ya no sólo desarrollados, sino en vías de desarrollo. Probablemente secundario al aumento de la obesidad también en estas zonas y la mayor accesibilidad a alimentos densos en calorías (*Gupta N, 2012*).

### 2.3.- DEFINICIONES

Para el diagnóstico y clasificación siempre ha habido controversia. Desde su descripción inicial se han planteado varias definiciones por las diversas asociaciones, en las que se modifican incluso los factores y parámetros de medición, lo que dificulta las comparaciones entre estudios.

La Organización Mundial de la Salud en 1998 sentó las bases de la definición del MetS dando relevancia a la resistencia a la insulina.

**Tabla 1.- Criterios de la Organización Mundial de la Salud (1998) (Alberti KG, 1998)**

La resistencia a la insulina se define como diabetes mellitus tipo 2 o alteración de la glucosa en ayunas ( $> 100$  mg/dl) o alteración de la tolerancia a la glucosa, más dos de los siguientes:

- . Obesidad abdominal (relación cintura-cadera  $> 0,9$  en hombres o  $> 0,85$  en mujeres, o índice de masa corporal  $> 30$  kg/m<sup>2</sup>).
- . Triglicéridos elevados (150 mg/dl)
- . HDL-colesterol bajo ( $< 40$  mg/dl en hombres y  $< 50$  mg/dl en mujeres).
- . Presión arterial 140/90 mmHg o mayor.
- . Microalbuminuria (tasa de secreción de albúmina urinaria  $\geq 20$   $\mu$ g/min, o proporción de albúmina a creatinina  $\geq 30$  mg/g).

Esta definición original ha ido evolucionando según los criterios de diferentes organizaciones, en 2001 la ATP III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III), en 2005 la Federación Internacional de Diabetes (FID) con la Asociación Estadounidense del Corazón (AHA) y el Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre (NHLI), entre otros.

**Tabla 2.- Criterios del Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP:ATPIII) (2001)**

La ATP III postula que no es necesario la demostración de resistencia a la insulina y sí la presencia de tres de los siguientes cinco criterios:

- . Obesidad abdominal. Circunferencia de cintura > 102 cm en hombres, > 88 cm en mujeres.
- . Triglicéridos 150 mg/dl o más.
- . HDL-colesterol < 40 mg/dl en hombres y < 50 mg/dl en mujeres.
- . PA 130/85 mmHg o mayor.
- . Alteración de la glucosa en ayunas o diabetes mellitus tipo 2.

Entre los criterios establecidos se encuentran, también, los propuestos por La Federación Internacional de Diabetes (FID) en 2005, que elimina el requisito de resistencia a la insulina.

**Tabla 3.- Criterios de La Federación Internacional de Diabetes (Alberti KG, 2005)**

. Obesidad central (definida como la circunferencia de la cintura, pero se puede suponer si el IMC es > 30 kg/m<sup>2</sup>), más dos de los siguientes criterios:

- . Triglicéridos 150 mg/dl o más.
- . HDL-colesterol < 40 mg/dl en hombres y < 50 mg/dl en mujeres.
- . PA 130/85 mmHg o mayor.
- . Glucosa en ayunas de 100 mg/dl o más.

Alberti K.G.M.M. et al en el 2009 proponen una definición de consenso que intenta homogeneizar los criterios de las organizaciones anteriores, basada principalmente en los criterios propuestos en 2005 por la Federación Internacional de

Diabetes (IDF) con la Asociación Estadounidense del Corazón (AHA) y el Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre (NHLI) dando importancia de establecer claros los puntos de corte del diámetro de cintura según grupos de edad, sexo o etnia:

**Tabla 4.- Harmonizing the Metabolic Syndrome:**

Para llegar al diagnóstico de síndrome metabólico se requiere la presencia de tres de los cinco componentes que se exponen.

- . Aumento de la circunferencia de la cintura: hombres >94 cm, mujeres >88 cm.
- . Elevación de triglicéridos: mayores o iguales 150 mg/dL (o en tratamiento hipolipemiante específico).
- . Disminución de HDL-colesterol: menor de 40 mg/dL en hombres o menor de 50 mg/dL en mujeres (o en tratamiento con efecto sobre el HDL).
- . Elevación de la presión arterial: presión arterial sistólica (PAS) mayor o igual a 135 mmHg y/o PAD mayor o igual a 85 mmHg (o en tratamiento antihipertensivo).
- . Elevación de la glucosa de ayunas: mayor o igual a 100 mg/dL (o en tratamiento con fármacos por elevación de glucosa).

Harmonizing the Metabolic Syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International atherosclerosis society; And international association for the study of obesity) (Alberti K.G.M.M., 2009).

En criterios posteriores, como los de las guías ALAD 2010, se acentúa la importancia de la obesidad, requiriendo este criterio para el diagnóstico sumado a otros dos criterios del resto.

En relación con los pacientes pediátricos no hay un consenso reconocido internacionalmente. Los criterios utilizados en adultos han sido modificados para la utilización en adolescentes, la definición propuesta refleja tanto valores absolutos, como la correspondencia con el percentil para edad (*Cook S, 2003*), importante en la infancia. Esta definición es la descrita en 2003 por Cook et al. En ella se incluyen como criterios

la obesidad central, hipertensión, hipertrigliceridemia, HDL bajo y glucosa alterada, características relevantes del síndrome metabólico.

**Tabla 5.- Criterios adaptados para adolescentes (Cook S, 2003).**

Obesidad central	Circunferencia de la cintura $\geq$ percentil 90
Hipertensión	Presión arterial $\geq$ percentil 90
Triglicéridos elevados	Triglicéridos $\geq$ 110 mg/dL
HDL- colesterol bajo	HDL-colesterol $<$ 40 mg/dL
Alteración de la glucosa en ayunas	Glucosa $>$ 110mg/dL

En el año 2007, el grupo de consenso de la International Diabetes Federation (IDF) propuso una definición de MetS en la infancia y adolescencia que resulte fácil de aplicar en la práctica clínica, y permita unificar criterios de las distintas *organizaciones* (Zimmet P, 2007). Según esta definición, no se puede diagnosticar el síndrome metabólico en los menores de 10 años.



**Tabla 6.- Criterios diagnósticos del síndrome metabólico en la infancia y adolescencia de la International Diabetes Federation (Zimmet P, 2007)**

Edad	6-<10 años	10-16 años	>16 años
Obesidad (perímetro cintura)	≥P90	≥P90	Varones ≥94cm Mujeres ≥80cm
Triglicéridos (mg/dL)	ND	≥150	≥150
DHL-colesterol (mg/dL)	ND	<40	Varones <40 Mujeres <50
Presión arterial (mmHg)	ND	Sistólica >130 Diastólica >85	Sistólica >130 Sistólica >85
Glucosa en ayunas (mg/dL)	ND	Glucosa >100 DM2	Glucosa >100 DM2

ND= no definido; DM2: diabetes mellitus tipo2

Como se puede comprobar, las distintas definiciones siguen un mismo camino clínico, con importantes factores en común. El grupo de expertos de la OMS (WHO Expert Consultation) publicó un reporte cuyas conclusiones sobre el MetS se resumen en varias afirmaciones o recomendaciones. El MetS debe verse más que como un diagnóstico clínico como una condición premórbida, excluyéndose a los pacientes con diabetes o enfermedad cardiovascular ya establecida.

Según esto, se sienta un área de implicación y actividad preventiva en la que cada país necesita identificar sus factores de riesgo e implementar estrategias para su control y prevención. Por último y no menos evidente, se refleja la necesidad de mayor investigación para aclarar los mecanismos comunes de los factores de riesgo de DM2 y ECV, incluyendo los enmarcados dentro del MetS, su detección temprana, control y medidas de prevención.

## 2.4.- SÍNDROME METABÓLICO Y OBESIDAD

La relación entre obesidad abdominal e insulinoresistencia ha sugerido a la primera como origen o factor desencadenante del síndrome. Referida la obesidad central como un incremento del perímetro abdominal, como medida indirecta del aumento de grasa visceral.

Dado que la obesidad es el factor principal del síndrome metabólico, se prevé un rápido aumento de la prevalencia del síndrome metabólico pediátrico y sus consecuencias a largo plazo en la edad adulta. La grasa visceral supone la formación en el tejido graso de sustancias químicas denominadas adipoquinas, que favorecen estados proinflamatorios y protrombóticos. Esto a su vez contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, alteración en la fibrinólisis y disfunción endotelial (*De Fronzo RA, 1991*). La adiponectina, a diferencia del resto, se encuentra disminuida en esta situación, lo que condiciona un incremento del nivel de triglicéridos, disminución de HDL, elevación de apolipoproteína B y presencia de partículas pequeñas y densas de LDL, contribuyendo al estado aterotrombótico que representa el perfil inflamatorio de la adiposidad visceral.

## 2.5.- SÍNDROME METABÓLICO Y OTRAS ASOCIACIONES PATOLÓGICAS

Al igual que el resto de la medicina, y en particular este ámbito tan candente y con tantas implicaciones en la sociedad global, ha seguido avanzando. Con el estudio e investigación continuos, se han ampliado nuevos determinantes y componentes de este síndrome metabólico. A la obesidad, dislipemia, hipertensión e intolerancia a la glucosa/DM2, se añaden otros factores como la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA), síndrome de ovario poliquístico, marcadores de inflamación. Entre estos últimos se incluyen interleucina-6, factor de necrosis tumoral alfa y proteína C reactiva (*Korner A, 2007*). La PCR se asocia con resistencia a la insulina en niños y adolescentes con sobrepeso y obesidad, y su relación con el síndrome metabólico sigue en estudio (*Oliveira AC, 2008*).

El síndrome metabólico es una entidad en sí, multifactorial, y con múltiples interacciones. Se puede abordar y utilizar como una forma de evaluar el riesgo cardiovascular y de comorbilidad. Mediante un abordaje práctico, que nos ayudaría en el seguimiento y control del paciente.

### 3.- RELEVANCIA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES

Siguiendo la evolución de las enfermedades descritas, es lógico pensar que la base y raíz de las enfermedades cardiovasculares, que suponen la causa de mortalidad más común en adultos en todo el mundo, comienza en muchas ocasiones en la infancia.

Parte clave en la atención Pediátrica es una identificación y evaluación de los pacientes con mayor riesgo de padecer las patologías relacionadas con el síndrome metabólico. Sin duda sería un beneficio a largo plazo, a la hora de prevenir y diagnosticar de forma temprana factores de riesgo e inicio de enfermedad. Una ayuda son las evaluaciones automáticas realizadas por sistemas de historia clínica electrónica (*Scheitel MR, 2017*). Al igual que debe ser rutinario la toma de medidas precisas de talla y peso, así como evaluar el IMC en los percentiles estandarizados según edad, como los de la Organización Mundial de la Salud (*OMS, 2015*).

Esta importancia de considerar el MetS en la atención continuada se ha visto reflejado en estudios prospectivos sobre población infantil con un seguimiento hasta 31 años después. En particular, se demostraron vínculos entre el MetS infantil (versus sin MetS) y la DM2 futura 14-31 años después con un odds ratio de 2,3-11,5 (*Morrison JA, 2008*) (*Magnussen CG, 2010*). Para el grosor medio de la arteria carótida elevado (marcador subclínico de riesgo ECV), tuvo un resultado de una odds ratio de 2, 14-27 años después (*Magnussen CG, 2010*). En otro estudio anterior sobre síndrome metabólico infantil, ya se demostró una odds ratio de 14,6 para ECV a los 24-31 años después (*Morrison JA, 2007*). Al utilizar una puntuación Z de MetS en la infancia para evaluar el riesgo de enfermedad en adultos entre 24 y 31 años después, la razón de posibilidades de aumento del riesgo por cada desviación estándar de la puntuación fue de 2,7 para DM2 (*DeBoer MD, 2015*) y 9,8 para ECV en el futuro (*DeBoer MD, 2015*).

Según estas relaciones, acompañadas del aumento de la prevalencia de MetS, en la década de 1970 de un 3,9%, y en comparación con prevalencias más actuales alrededor 9,8% en algunos estudios, refleja un enorme riesgo a futuro (*Lee AM, 2016*). Es decir, un aumento de la prevalencia de factores de riesgo de DM2 y enfermedades cardiovasculares, el desarrollo de las mismas, de una forma correlacionada y progresiva.

Niños y adolescentes no deben considerarse un grupo aparte, de hecho, son una continuación en muchas ocasiones de lo aprendido y vivido en el hogar familiar. La presencia de obesidad en los padres es un factor de riesgo para la obesidad infantil (*Barlow SE, 2007*).

Es necesario introducir medidas activas y correctivas en la población general en apoyo con las instituciones gubernamentales y sociedades científicas para intentar disminuir la alta prevalencia de MetS y DM2. Estas medidas deberían centrarse en primer lugar a nivel educativo hacia una mejor alimentación y aumento de la actividad física.

#### 4.- TRATAMIENTO OBESIDAD Y MetS EN LA INFANCIA

El objetivo del tratamiento de la obesidad es conseguir el peso ideal para la talla con los aportes nutricionales necesarios para no interferir con el crecimiento a estas edades (*Dalmau Serra J, 2007*).

El abordaje de la obesidad se basa en tres pilares fundamentales: la modificación de la conducta alimentaria, el fomento de la actividad física y el soporte emocional para el paciente y su familia, cuya implicación y colaboración es imprescindible. Además, se debe actuar en otro ámbito fundamental de desarrollo como es el entorno escolar.

La mayoría de las medidas para el MetS son equiparables a las intervenciones que se realizan en la obesidad. Tienen como objetivo modificar los factores de estilo de vida poco saludables, que en su base contribuyeron a los problemas metabólicos iniciales. Entre estos factores destaca una dieta con alto contenido en grasas saturadas y carbohidratos y niveles de actividad física por debajo de las recomendaciones.

Estos dos factores deben llegar a un equilibrio entre la energía ingerida y la gastada. Principalmente, como se ha nombrado, esto disminuiría el grado de obesidad y las consecuentes anomalías metabólicas. Independientemente, ya se ha descrito en estudios el beneficio de la actividad física al aumentar la sensibilidad a la insulina (*Guinhouya BC, 2011*).

Una intervención combinada sería lo más efectivo. Ya que, un aumento aislado de la actividad física puede conducir a un aumento compensatorio de la ingesta de alimentos, y una restricción calórica aislada tiene como resultado una disminución de la tasa metabólica basal.

En la Guía de práctica clínica de la Sociedad de Endocrinología, basada en varias revisiones sistemáticas (*Rajjo T, 2017*), se facilitan recomendaciones a seguir sobre diagnóstico y tratamiento de la obesidad.

Centrado en el tratamiento, apoyan como pilar fundamental el estilo de vida. Los hábitos de vida saludables son la base de la prevención y el tratamiento del exceso de peso y sus complicaciones. Entre los cambios recomendados se incluye la disminución del consumo de comidas rápidas, del consumo de azúcar de mesa agregado, así como el jarabe de maíz y alimentos con alto contenido de grasas, sodio o alimentos procesados.

También incluye el consumo de fruta entera en lugar de zumo de frutas y reducir la ingesta de grasas saturadas en la dieta en mayores de dos años, favoreciendo la ingesta de fibra dietética, frutas y verduras. Los hábitos deberían centrarse en una educación de comidas regulares y oportunas y evitar el “pastoreo” constante, junto con el control de las porciones y la búsqueda de señales de alimentación como pueden ser el aburrimiento, el estrés, la soledad o el tiempo frente a la pantalla.

No hay que olvidar el indagar en posibles comorbilidades psicosociales. Las cuales pueden influir, y sobre todo, sentar una base muy alejada de una rutina saludable. Es necesario sospecharlas y atajarlas de forma multidisciplinar.

Con respecto al ejercicio, se debe considerar varios requisitos. A corto plazo la intención es cambiar el hábito sedentario, normalmente iniciando con caminar (recomendación D). A mediano plazo, la frecuencia del ejercicio deberá ser al menos de 3 a 5 veces por semana, con una duración mínima de 30 minutos. A largo plazo, hay que ir aumentando la frecuencia e intensidad. Se recomienda el ejercicio aeróbico (caminar, trotar, correr, nadar, ciclismo).

En el estudio ALADINO mencionado anteriormente sobre obesidad (2019), se recomiendan una serie de acciones para reducir el sobrepeso y la obesidad infantil en España y que representan un buen resumen de medidas eficaces para el tratamiento. Abarcan la alimentación, la actividad física e incluye medidas a seguir en el colegio. Son las siguientes:

### **Hábitos alimentarios**

- Realizar un desayuno saludable a diario.
- Incrementar la ingesta de frutas y hortalizas, recomendando un mínimo de 5 piezas al día, incluyendo una en el desayuno.
- Aumentar el consumo de legumbres, cereales de grano entero (integrales), pescado y reducir el consumo de carne.
- Elegir agua como bebida preferente en todas las comidas y momentos del día.
- Reducir al mínimo el consumo de bollería, galletas y chucherías.

### **Hábitos de actividad física**

- Ir y regresar del colegio caminando, en bicicleta o patinete si es posible.
- Reducir y limitar el uso de pantallas (TV, tablet, móvil, ordenador, consola) y evitar que estén en el dormitorio.
- Aprovechar cualquier oportunidad para realizar actividad física, como correr o saltar en el parque, o apuntarse a alguna actividad deportiva o de baile.

### **Entorno escolar**

- Proporcionar agua, frutas y hortalizas de forma gratuita.
- Limitar el acceso a máquinas de vending y suprimir de éstas los alimentos poco saludables (aperitivos salados, bollería, refrescos...).
- Incrementar la educación física y nutricional en el currículum del centro.
- Incrementar los descansos activos entre clases y en los recreos.
- Permitir el acceso a zonas deportivas y gimnasios exteriores e interiores del colegio fuera de la hora escolar.

Todos estos son puntos muy importantes y que, en conjunto, de llevarse a cabo en la práctica diaria, nos ayudaría a reducir la prevalencia de obesidad.

Por último, nombrar otra medida, el abandono de tóxicos como el tabaco. Aunque parezca evidente, no es por ello una medida fácil ni con menor requerimiento de esfuerzo médico y por parte del paciente.

Las revisiones de guías dedicadas al tratamiento de MetS, coinciden en mantener como objetivos la prevención de enfermedades cardiovasculares y corregir sus componentes ya establecidos hacia unos valores de normalidad. Todo ello con las medidas referenciadas.



## 5.- ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCÓHOLICO

Con el aumento de la prevalencia de obesidad infantil, la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) se está convirtiendo en uno de los problemas de salud más comunes en niños y adolescentes obesos (*Nobili V, 2013*).

### 5.1.- HISTOPATOLOGÍA

La enfermedad del hígado graso no alcohólico se define por esteatosis macrovesicular en el 5% o más de los hepatocitos, en ausencia de una causa secundaria como alcohol, medicación esteatogénica, enfermedad autoinmune, infecciones virales.

La enfermedad del hígado graso no alcohólico abarca el espectro de esteatosis simple o hígado graso no alcohólico (NAFL/EHGNA) a su forma más agresiva de enfermedad, la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA/NASH) definida histológicamente como esteatosis hepática, inflamación hepática y abombamiento hepatocelular con o sin fibrosis. NASH puede progresar a cirrosis y carcinoma hepatocelular (*Chalasani N, 2012*).

La EHGNA tiene, en la mayoría, un curso benigno. En cambio, en parte de los pacientes, puede evolucionar a la mencionada EHNA. Se ha estudiado en algunas poblaciones, como en un estudio de población chilena, ocurriendo esta evolución en aproximadamente un 15-20% de los mismos. Estimándose un valor global de entre el 2% y el 5% de prevalencia en la población general (*Weitz J, 2017*). En otros estudios también se muestran prevalencias del desarrollo hacia cirrosis (10,8%) (*Bellentani S, 2009*) (*Ekstedt M, 2006*). E incluso, aumento de riesgo de hepatocarcinoma (*White DL, 2012*) y mortalidad secundaria a afectación hepática (7,3% a los 15 años de seguimiento) (*Angulo P, 2010*).

La historia de la histopatología de EHGNA comienza en 1836 cuando Addison describe por primera vez el hígado graso (*Addison T, 1836*). En 1938, Connor describió la infiltración de hígado graso que podría conducir al desarrollo de cirrosis en diabéticos, incluyendo varios casos de varices esofágicas sangrantes en paciente diabéticos y con

hígado graso (*Connor CL, 1938*). En 1958, Westwater y Feiner informan los hallazgos histológicos de infiltración grasa del hígado en pacientes obesos. En 1980, se acuña el término esteatohepatitis no alcohólica (NASH), que describe la forma progresiva histopatológica de la enfermedad del hígado graso, la cual se asemeja a la esteatohepatitis alcohólica, en pacientes que negaban abuso de alcohol, la mayoría mujeres obesas y diabéticas (*Ludwing J, 1980*). Estos cambios histopatológicos incluyen hepatitis lobulillar, infiltrados inflamatorios, cuerpos de Mallory y necrosis focal con cirrosis. En 1983, se extendió a niños obesos, donde la esteatohepatitis presentaba enzimas hepáticas anormales y síntomas inespecíficos (*Moran JR, 1983*). En 1986 se utiliza por primera vez el nombre de enfermedad del hígado graso no alcohólico (*Schaffner F, 1986*).

## 5.2.- EPIDEMIOLOGÍA

EHGNA es una de las principales causas a día de hoy de enfermedad hepática crónica en todo el mundo. La prevalencia mundial de EHGNA es de aproximadamente el 25%, variando del 13% en África al 23% en Europa y al 32% en Oriente Medio (*Younossi ZM, 2016*). Esta variación refleja diferencias étnicas, con tasas más altas en los grupos hispanos y cierto efecto protector de la etnia negra (*Bambha K, 2012*). También asociado a variantes de riesgo genético.

La mayoría de los estudios sobre la epidemiología de la EHGNA se realizan en EE. UU., donde se ha establecido una prevalencia del 24,13 %, siendo la más baja entre los afroamericanos, seguidos de los europeos americanos y luego de los hispanoamericanos.

La EHGNA no solo es común en EEUU y en Europa, afectando aproximadamente a una cuarta parte de la población general como se ha comentado. En ciertas áreas del mundo como América del Sur, la India urbana, Sri Lanka, Israel y Turquía, la prevalencia oscila entre el 30% y el 48% (*Younossi ZM, 2019*). Por lo tanto, esta distribución epidémica convierte a la EHGNA en un importante problema de salud pública en todo el mundo (*Farrell GC, 2013*) (*Pimpin L, 2018*) (*Zhou F, 2019*) (*Arshad T., 2020*) (*Stepanova M, 2017*).

Por otro lado, se desconoce el número de pacientes de la población general con EHGNA que desarrollan EHNA, pero es superior al 10 % de la población general de EHGNA (*Delli Bovi AP, 2021*).

### 5.3.- PATOLOGÍAS ASOCIADAS

En cuanto a prevalencias, también se ha demostrado una asociación con la diabetes tipo 2 (23%), obesidad central (51%), dislipemia (69%) y con el síndrome metabólico (43%) (*Younossi ZM, 2016*). Un metaanálisis de estudios epidemiológicos en niños mostró que la prevalencia media de EHGNA era del 7,6% en los estudios de población general, y del 34,2% en los estudios de niños con obesidad (*Anderson EL, 2015*). La ingesta calórica excesiva, basada en alimentación rica en grasas saturadas, carbohidratos y bebidas azucaradas se han implicado en el desarrollo de EHGNA (*Rosqvist F, 2014*).

De este modo, también se demuestra en un metaanálisis reciente, que se encuentran unas tasas más bajas de hipertensión, ácido úrico y glucosa en ayunas, junto a lipoproteínas de alta densidad mayores entre pacientes no obesos con EHGNA que entre aquellos obesos con EHGNA (*Shi Y*).

La causa más común de muerte en pacientes con EHGNA es la enfermedad cardiovascular (40%), suponiendo ésta de forma independiente un factor de riesgo de enfermedad cardíaca (*Sinn DH, 2017*). De hecho, la evidencia clínica indica que los niños con EHGNA experimentan una mayor incidencia y mortalidad de enfermedades cardiovasculares en edad adulta (*Feldtein AE, 2009*).

EHGNA tiene, con el síndrome metabólico, una relación mutua y bidireccional. De hecho, recientemente, este término tiende a rebautizarse en algunos estudios como enfermedad del hígado graso asociado a disfunción metabólica (MAFLD) (*Eslam M, 2020*). La idea es representar la estrecha asociación con los trastornos metabólicos, en lugar de definirla por lo que no es (no alcohólico). Esta idea también está apoyada en estudios previos, en los que se identifica que los niños con EHGNA eran más propensos a desarrollar glucosa, insulina, triglicéridos y colesterol HDL anormales, comparados con los niños sin EHGNA con edad, sexo e IMC similares (*Schwimmer JB, 2008*).

## 5.4.- FISIOPATOLOGÍA

A lo largo del tiempo ha habido varias teorías sobre la patogenia de la EHGNA. Inicialmente, se instauró la hipótesis de los “dos golpes”. Esta defiende el proceso como un “primer golpe”, donde la obesidad, la dieta rica en grasas y la resistencia a la insulina son responsables del depósito de triglicéridos en los hepatocitos, siendo éste el inicio de la lesión en los mismos. En un “segundo golpe”, el estrés oxidativo, las citocinas inflamatorias, adipocinas, la disfunción mitocondrial y el estrés del retículo endoplásmico desencadenan la progresión a NASH (*Mann JP, 2018*) (*Zhang X, 2018*).

Actualmente, esta hipótesis ha sido sustituida por el modelo de “múltiples impactos”. En esta, se entrelazan factores genéticos y ambientales (PNPLA3, dieta rica en grasas saturadas y fructosa, vida sedentaria) con los factores clínicos (obesidad central, resistencia a la insulina/DM2, dislipemia, hipertensión). Todos ellos, mediante diversos mecanismos, incluida la activación inmune innata, lipotoxicidad y efectos del microbioma. En el contexto de estos factores genéticos y ambientales, el resto de “factores de impacto” contribuyen a la evolución de enfermedad hígado graso no alcohólico hasta fibrosis y cirrosis pasando por esteatohepatitis (*Wree A, 2013*).

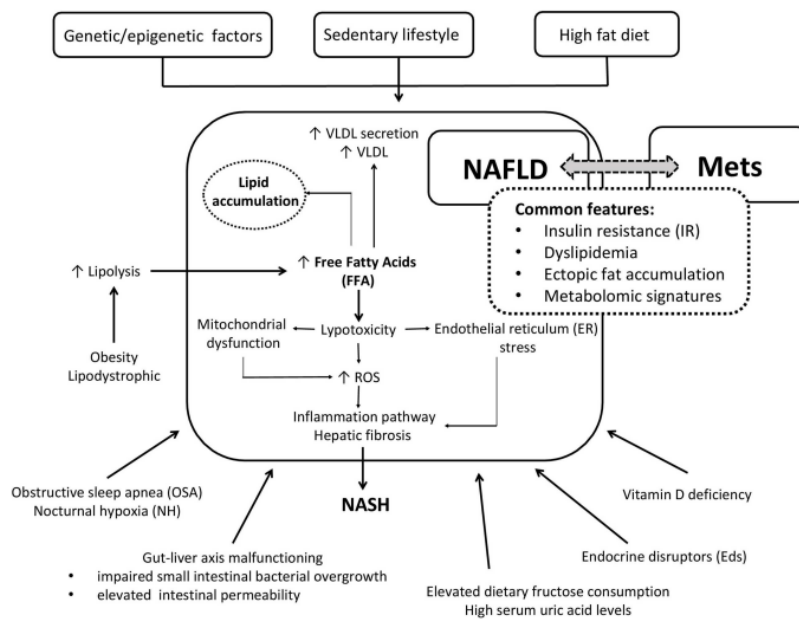
Un punto también estudiado es la relación entre la inflamación intestinal y la esteatosis hepática. Los ácidos grasos monoinsaturados, saturados y poliinsaturados actúan sobre los microorganismos intestinales, por lo tanto, en el sistema inmunológico, y a su vez regulador de obesidad y proinflamación. Se produce daño en la mucosa intestinal, disminuyendo su grosor y aumentando la permeabilidad, con mayor inflamación, provocando así un círculo vicioso (*Candido FG, 2018*). Además, existe una relación directa circulatoria entre intestino e hígado, recibiendo este último, vascularización a través de la porta. Y por ello, expuesto a productos tóxicos derivados del intestino. Esta conexión es llamada “eje intestino-hígado” (*Anania C, 2018*).

La obesidad y la resistencia a la insulina, mediado por TNF alfa, incrementan la liberación de ácidos grasos libres (FFA) por los adipocitos, aumentando su concentración en el hígado. Esta sobrecarga de adipocitos y citocinas proinflamatorias que provienen del tejido adiposo causan lipotoxicidad, con la consiguiente disfunción mitocondrial, aumento de producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) citotóxicas y estrés del retículo endoplásmico (*Mann JP, 2018*) (*Ashraf NU, 2015*). El papel del estrés oxidativo

ha sido demostrado en varios estudios como factor en la progresión de NAFLD (Fang YL, 2018) (Mann JP, 2017). Ya en un estudio transversal se demostró un aumento de los parámetros por estrés oxidativo en adolescentes obesos con EHGNA respecto a adolescente sin dicha afectación (Pirgon O, 2013).

Por lo comentado, parece posible la correlación entre la esteatosis hepática y el síndrome metabólico, ya que existen en ambas factores desencadenantes y consecuentes en común. Aunque dicha relación es compleja, dada la patogénesis multifactorial de ambas enfermedades (D'Adamo E, 2013). Estudios en niños apoyan la asociación entre EHGNA y varios componentes del Síndrome metabólico como la resistencia a la insulina, obesidad central y dislipidemia (Bussler S, 2017).

**Figura 3.- Principales mecanismos fisiopatológicos que vinculan NAFLD y Mets en niños.**



D'Adamo et al. The Liver in Children With Metabolic Syndrome. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00514>

En revisiones al respecto encontramos diversos estudios. En una muestra de 254 niños y adolescentes de 6 a 17 años, demostraron que la gravedad de la resistencia a la insulina se correlacionó significativamente con las características histológicas de

EHGNA y que, a su vez, el riesgo de síndrome metabólico fue mayor en personas con esteatosis severa (*Patton HM, 2010*).

Prokopowicz et al, observaron alteraciones como una mayor circunferencia de cintura, resistencia a la insulina y dislipidemia en el 45% de los adolescentes con sobrepeso con esteatosis hepática. Incluso describieron que el 40,8% de los niños con EHGNA presentaron MetS. Esto fue demostrado con un estudio prospectivo realizado en una cohorte multiétnica (*Tricò D, 2018*). Se destaca la asociación entre una fracción alta de grasa hepática y la sensibilidad a la insulina alterada y el desarrollo de alteraciones metabólicas en niños. Muchos estudios clínicos sugieren que la resistencia a la insulina suele estar asociada con EHGNA en adultos y niños (*Jain V, 2018*) (*Tominaga K, 2009*). Un estudio de niños con EHGNA diagnosticado por biopsia demostró que el 95% de los mismos tenían resistencia a la insulina (*Schwimmer JB, 2003*). La patogenia de la EHGNA como ya ha sido comentada, es la esteatosis de los hepatocitos y la lesión de los mismos, en la que la resistencia a la insulina tiene un papel importante. Conforme aumenta la resistencia a la insulina periférica en estos pacientes, también aumentan los ácidos grasos libres sintetizados a través de la lipólisis del tejido graso visceral y la grasa de la dieta, siendo el origen de los triglicéridos hepáticos. La sobrecarga de lípidos también puede influir en la disminución del funcionamiento oxidativo. Mientras tanto, con la producción de especies reactivas de oxígeno, se inducen citocinas, se quimioatraen las células inflamatorias y se activan las células estrelladas hepáticas, todo lo cual daña los hepatocitos (*Neuschwander-Tetri BA, 2017*). La resistencia a la insulina, en consecuencia, está involucrada en la aparición y desarrollo de EHGNA y esteatohepatitis.

Según la evolución lógica comentada desde la obesidad y el síndrome metabólico hasta la patogénesis explicada de la EHGNA, se puede añadir que el riesgo de desarrollar esteatohepatitis también está influido por el proceso de inflamación sistémica crónica que ocurre en los niños obesos, con la elevación de la leptina y disminución de los niveles de adiponectina. Consecuentemente, el proceso inflamatorio crónico conlleva al desarrollo de fibrosis.

## 5.5.- DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se basa en pruebas no invasivas e invasivas, combinando factores clínicos e imágenes. Implica la identificación de la esteatosis hepática, seguida de la estratificación del riesgo de fibrosis significativa (marcador pronóstico). Siendo el gold estándar la biopsia hepática para la estratificación de NAFLD. No existe una prueba no invasiva validada para NASH. Al ser un procedimiento invasivo y no exento de cierto riesgo, su utilización no puede plantearse como estudio de cribado ni de seguimiento.

Hay que considerar el diagnóstico también en pacientes de alto riesgo con diabetes tipo 2 o síndrome metabólico, independientemente de los niveles de transaminasas (*Glen J, 2016*).

A pesar de ello, la base de la mejora en el diagnóstico y la toma de decisión, ante las dificultades de realizar pruebas invasivas, se centra en los métodos no invasivos: marcadores bioquímicos y pruebas de imagen. Esta relación diagnóstica entre marcador y patología sigue en estudio, así como su viabilidad y efectividad.

Como se ha comentado, EHGNA se ha convertido en la enfermedad hepática más frecuente en niños y adolescentes. La cirrosis puede ser el evento final en su evolución, por lo que es importante establecer el diagnóstico en niños con sobrepeso y obesidad. Determinar la sospecha de EHGNA desde la clínica y seleccionar los exámenes complementarios adecuados y posibles para el diagnóstico de certeza son un objetivo principal a día de hoy.



**Figura 4.-** Un acercamiento actual hacia los criterios diagnóstico en la infancia se simplifican en la siguiente imagen.

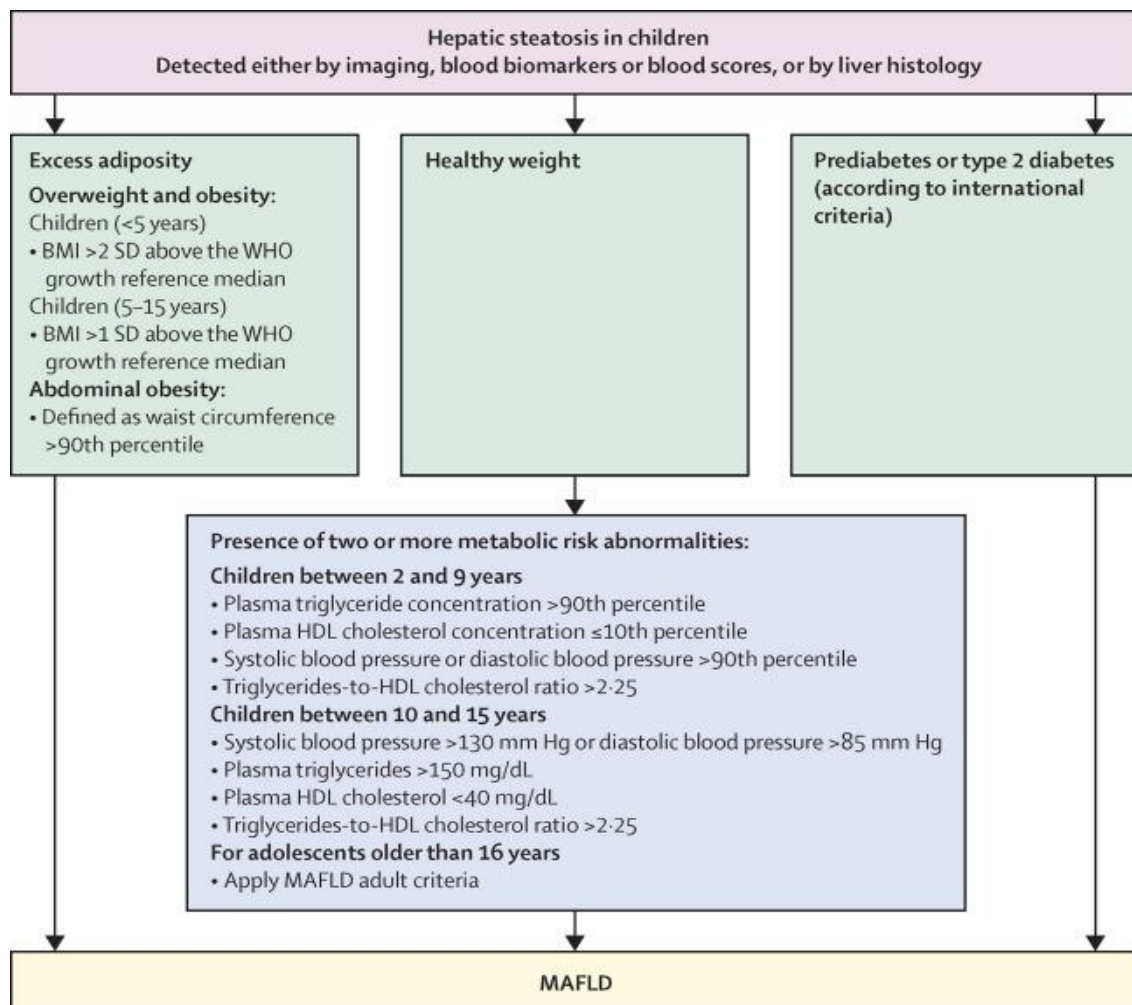


Diagrama de flujo de los criterios diagnósticos para MAFLD pediátrico. Los criterios incluyen la evaluación de parámetros antropométricos y metabólicos dependientes del sexo y la edad. (Mohammed Edlam, 2021).

## 5.6.- TRATAMIENTO

El tratamiento y la forma de gestionar esta enfermedad, en principio no se sale de lo comentado como pilar básico previamente. Para algunos autores la EHGNA forma parte de la definición del MetS, y para otros, éste es un factor de riesgo para desarrollarla. En cualquier caso, todas las medidas dirigidas a impedir la aparición de MetS son igualmente válidas para disminuir el riesgo de EHGNA. De forma global, consiste en modificar los factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión arterial, la hiperlipemia, obesidad y diabetes. Esto se realiza principalmente en atención primaria (*Ghevariya V, 2014*).

El punto principal de este pilar lo forman la dieta y el ejercicio físico. Existe evidencia de que la pérdida de peso no solo reduce el contenido de grasa hepática, sino que la resolución histológica de la EHGNA puede ocurrir con una pérdida de peso tan pequeña como el 5%, y casi la mitad de los pacientes con una pérdida de peso del 10% presentará regresión de la fibrosis (*Vilar-Gómez E, 2015*).

Algunos de los fármacos ofrecidos como opción tras fracaso del tratamiento sobre los hábitos de vida han sido, por ejemplo, la metformina, como sensibilizador a la insulina, o la vitamina E y D. En estudios, no han sido superiores a los cambios dietéticos (*Lavine JE, 2011*). El ácido ursodexosicólico podría ser hepatoprotector, aunque su estudio en niños no ha demostrado beneficio (*Della Corte C, 2011*). Los ácidos grasos poliinsaturados tienen efectos antiinflamatorios y aumentan la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos. Se ha demostrado una disminución de triglicéridos y mejoría de los niveles de ALT en seguimiento a dos años (*Alisi A, 2012*). Otra opción sería el uso de probióticos. Ya se ha comentado la conexión intestino-hígado, mejorando éstos la barrera de la mucosa intestinal e impidiendo el sobrecrecimiento bacteriano. Lo cual podría ser un factor protector en la patogénesis de la EHGNA, mejorando los valores de ALT, independientemente del IMC (*Alisi A, 2014*).

Secundariamente, están surgiendo nuevas terapias y estrategias farmacológicas. Algunos en reciente estudio. Un ejemplo, un agonista de FXR, el ácido obetinólico, ha demostrado mejoría en la fibrosis. Otro de ellos con buenos resultados en fases finales es el Cenicriviroc, antagonista CCR2/5 (*Anstee QM, 2020*).

Tras una pérdida de peso en pacientes con obesidad, disminuyen los niveles de mediadores inflamatorios implicados como lo son la proteína C reactiva, IL-6 (*Dalmas E, 2011*). En varios estudios se representa la importancia de las citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF-alfa) en las fases de EHGNA. Los niveles de TNF-alfa e IL-6 aumentan en los pacientes con NASH, y la supresión de las mismas en ensayos en roedores, mejora la EHGNA (*Tilg H, 2010*).

Por último, añadir que ya se encuentran en formación guías sobre directrices en cuanto al tratamiento poblacional de esta patología. Como, por ejemplo, la llevada a cabo por la Sociedad Italiana de Diabetes y la Sociedad Italiana de Obesidad (*Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF), Società Italiana di Diabetologia (SID) and Società Italiana dell'Obesità (SIO), 2021*). En ella, se reflejan recomendaciones en respuesta a preguntas PICO, siguiendo la evidencia disponible. Por ejemplo, en relación al tratamiento establecen recomendaciones como una pérdida de peso mayor al 7-10%, ya que se evidencia relación con mejoría histológica. Así como, apoyan para ello, el seguimiento de una dieta mediterránea, y cualquier tipo de actividad física, ya sea incluso un sedentarismo reducido, que debe ser asesorada, con el fin de reducir grasa hepática, independientemente de los cambios en el peso corporal. Respecto al tratamiento terapéutico también hace algunas referencias y recomendaciones. El uso de pioglitazona (específicamente en pacientes con DM2) y la Vitamina E se refuerza en pacientes con EHNA y fibrosis con una evidencia B2. Otros tratamientos antidiabéticos aún no están recomendados específicamente para su uso en EHGNA/EHNA.

Igualmente, abordan aspectos diagnósticos. Afirman que los puntajes no invasivos pueden ser útiles en estudios poblacionales para el diagnóstico de esteatosis, con una evidencia A1, reflejando la ecografía como primera línea para detectando EHGNA, ya que tiene una alta precisión para esteatosis moderada-severa y también proporciona información diagnóstica adicional.

## 5.7.- EVOLUCIÓN

En general, todos los estudios afirman que la EHGNA es compleja. Se ve afectada por factores metabólicos y ambientales, junto a predisposiciones genéticas y epigenéticas, que comprenden a múltiples órganos y mecanismos. Se desconoce la participación exacta de cada factor en el desarrollo de EHGNA y puede variar según la ubicación geográfica.

A día de hoy, existe una mayor concienciación sobre la EHGNA. Como se puede comprobar, van aumentando los estudios al respecto, lo que conlleva a un mayor conocimiento de su patogenia y de las posibles opciones terapéuticas y respuesta a las mismas. Aun así, las enfermedades metabólicas y la EHGNA siguen en aumento, convirtiéndose en una pandemia progresiva. Esto se traduce en una carga sanitaria y económica importante. En consecuencia, disminuye la calidad de vida relacionada con la salud (*Younossi ZM, 2019*). Por tanto, son necesarios futuros estudios para comprender mejor dichos mecanismos patogénicos que se desarrollan en la EHGNA con el objetivo de personalizar el tratamiento de los pacientes y poder mejorar sus resultados.

## **6.- EVOLUCIÓN IDEA PRINCIPAL DE NUESTRA TESIS, FORMACIÓN DE HIPÓTESIS**

El estudio progresivo de las patologías implicadas en este ámbito de la medicina, conlleva a una visión de conjunto, de relaciones, interacción y vínculo entre todas ellas. Obesidad, MetS, EHGNA, deben tomarse como un continuo, una progresión o varios ángulos de un mismo triángulo. Sólo partiendo de este punto podemos llegar a la comprensión de la importancia de las mismas y la necesidad de investigar y ampliar el conocimiento y métodos de detección precoz.

De hecho, este es el punto primordial que ha llevado a continuar el proyecto y el estudio de sus resultados. Apareciendo, nuevas hipótesis y respuestas interesantes a partir de datos propios, no tratados previamente, que han permitido obtener resultados de valor, desarrollamos en esta Tesis Doctoral, y en parte, plasmados en dos artículos publicados y otros dos ya elaboradas, pendientes de publicar.

Una afirmación que marca el diagnóstico y evolución de la misma, radica en que la EHGNA es asintomática en la etapa inicial. Al estar su prevalencia estrechamente relacionada con un IMC alto, sexo, resistencia a la insulina y otros aspectos del síndrome metabólico, se plantea necesaria una monitorización de los factores de riesgo de la obesidad infantil como estrategia de prevención de la enfermedad hepática en una etapa temprana.

Para esta monitorización y detección precoz, son necesarios datos y valores cuantificables y objetivos. Aquí parte la base del estudio de biomarcadores relacionados con EHGNA.

## 7.- MARCADORES

### 7.1.- PAPEL DE LA INFLAMACIÓN

Los efectos inflamatorios inducidos por la obesidad, conllevan múltiples reacciones y progresión de enfermedad. Los mecanismos implicados en la relación entre inflamación y obesidad y sus complicaciones son complejos y no claramente establecidos.

Como ya ha sido comentado, la obesidad juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad del hígado graso no alcohólico. En esta línea participan los procesos proinflamatorios producidos a nivel de tejido adiposo, vascular, intestinal, músculo esquelético y cerebro. Todo ello, con un reflejo en la aparición y sucesión de factores de inflamación.

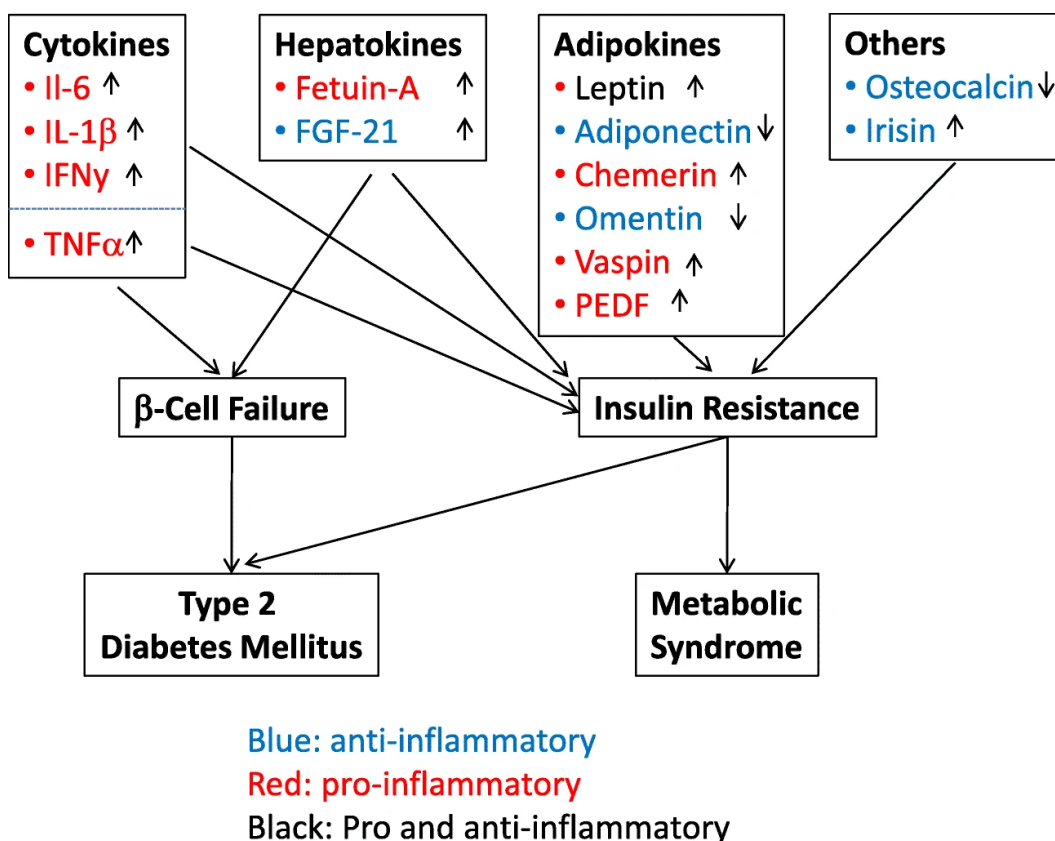
#### 7.1.1.- Factores y marcadores de inflamación

La inflamación crónica, las adipoquinas y las hepatoquinas se han pronunciado como base de la resistencia a la insulina y el fallo de las células  $\beta$  en modelos animales. En una revisión sistemática se reúne información de estudios previos relacionados con esta afirmación, aclarando estos factores inflamatorios y su participación (*Reinher T, 2018*). El tejido adiposo interactúa con el hígado y libera una serie de adipoquinas involucradas en procesos como la inflamación (*Boutari C, 2018*), la sensibilidad a la insulina y la EHGNA.

Las citocinas proinflamatorias relacionadas con la resistencia a la insulina y MetS en niños las constituyen el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL)-6, IL-1 $\beta$ , interferón gamma, factor derivado del epitelio pigmentario, quemerina, vaspin y fetuin R. Las citoquinas antiinflamatorias asociadas con la resistencia a la insulina y MetS en niños son leptina, adiponectina, omentina, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)-21, osteocalcina e irisina. Estas citocinas antiinflamatorias pueden estar disminuidas (adiponectina, omentina y osteocalcina), o aumentadas en el caso de la leptina, FGF-21 e irisina en la obesidad, lo que sugiere un estado de resistencia. TNF- $\alpha$ , fetuin A y FGF-21

están alterados en niños obesos con T2DM, lo que sugiere una participación en la falla de las células  $\beta$ .

**Figura 5. Marcadores inflamatorios y su relación con MetS y T2DM en la población pediátrica**

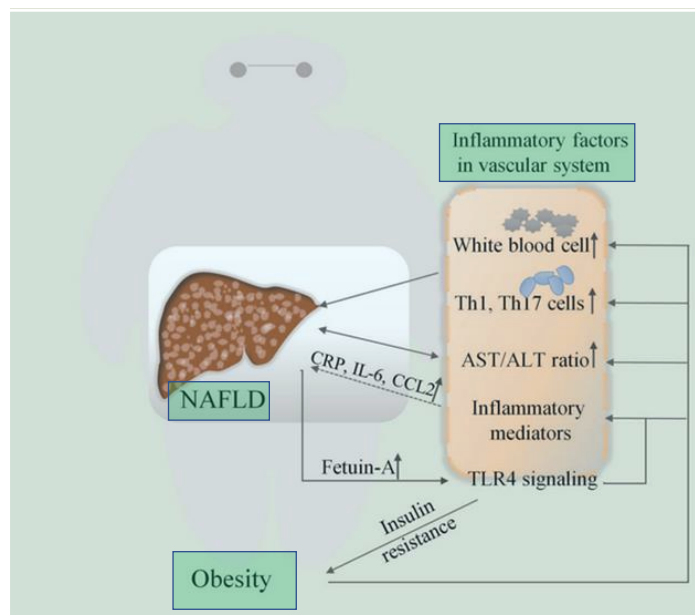


En otro estudio, se analizaron parámetros hematológicos de los pacientes con síndrome metabólico (*Yunfei Luo, 2021*). Se observó que el nivel de repercusión médica de los pacientes se correlacionó significativamente de forma positiva con dichos parámetros, como el recuento de neutrófilos, de glóbulos blancos, recuento total de linfocitos y de glóbulos rojos. El índice neutrófilos, linfocitos y el índice de plaquetas, también se han propuesto como marcadores de inflamación fácilmente medibles que pueden estar asociados con hipertensión (*Sunbul M, 2014*) (*Skrzypczyk P, 2018*) y enfermedades cardiovasculares (*Uthamalingam S, 2011*).

El riesgo de MetS aumenta a medida que aumenta la NLR, y los valores de este índice pueden ser útiles para predecir el desarrollo de MetS (Liu CC, 2019).

También en niños, se han descrito los niveles de leucocitos, linfocitos, eritrocitos y plaquetas significativamente elevados en los niños con sobrepeso/obesidad, lo que pone de manifiesto el estado inflamatorio, relacionado con la obesidad, desde temprana edad (Mărginean CO, 2019).

**Figura 6. Relación entre los factores inflamatorios vasculares relacionados con la obesidad y EHGNA.** (Yunfei Luo, 2021)



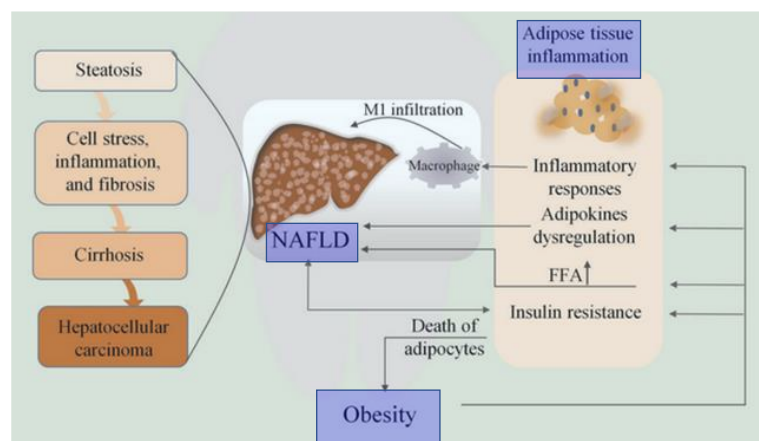
Igualmente, se demostró que la pérdida de peso en pacientes con obesidad, disminuyó los niveles de otros mediadores inflamatorios como el amiloide sérico A (SAA), la proteína C reactiva (CRP), las citocinas proinflamatorias, incluida la IL-6, y las quimiocinas como CCL2/MCP-1, IL-8 y CCL5/RANTES (modulación de activación y expresión y secreción de células T normales).



### 7.1.2.- Tejido adiposo

El tejido adiposo como tal, lugar de almacenamiento de grasa, funciona a su vez como un órgano endocrino. Los adipocitos inflamados secretan, a nivel local y sistémico, citocinas proinflamatorias (*Hotamisligil GS, 2017*). Desde este punto de vista, el tejido adiposo, puede considerarse un órgano inmune y secretor, y la obesidad una enfermedad inmune inflamatoria.

**Figura 7. Relación entre la inflamación del tejido adiposo inducida por la obesidad y la EHGNA.** (*Yunfei Luo, 2021*)



La leptina y la adiponectina son dos adipocinas importantes implicadas en el gasto de energía, el metabolismo de los lípidos y glucosa y la inflamación (*H. Cao, 2014*) (*M. Coelho, 2013*). Las alteraciones en sus niveles se asocian con el riesgo de obesidad, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Varios reportes sugieren la utilidad de las adipocinas como predictores del síndrome metabólico en adultos (*Madeira I, 2017*) (*Ghadge A.A, 2018*). La leptina en particular, actúa como una vía de señalización del estado metabólico y media en varios procesos metabólicos, como la homeostasis energética y las funciones neuroendocrinas. La resistencia a la leptina está asociada con condiciones patológicas como la obesidad y la DM2. De hecho,

los niveles más bajos de leptina circulante tienen una correlación positiva con una mejor sensibilidad a la insulina, aumento del metabolismo de los lípidos y una menor adiposidad e inflamación. El aumento de la sensibilidad a la leptina podría ser un objetivo interesante para el tratamiento de los trastornos metabólicos.

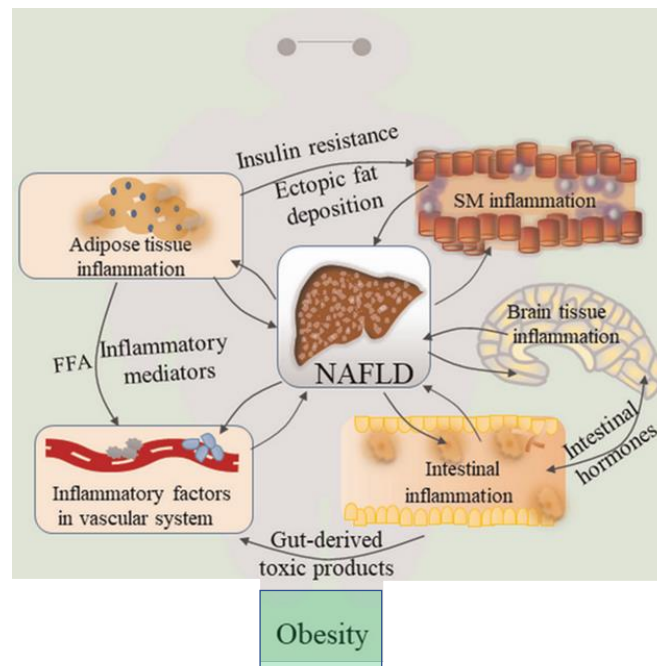
La leptina aumenta la resistencia a la insulina y la producción de ácidos grasos en los hepatocitos, y promueve vías inflamatorias y fibrogénicas en el hígado (*Meek TH, 2016*), mecanismos que pueden contribuir al desarrollo de NAFLD. Los niveles más altos de leptina están asociados con NAFLD y la concentración de leptina sérica se correlaciona con su gravedad (*Rotundo L, 2018*).

Datos pertenecientes a un subgrupo de niños, incluidos en el estudio IDEFICS, muestran que los niveles más altos de leptina se asociaron con el MetS, independientemente de la masa corporal. Se sugiere que la determinación de leptina podría tener utilidad para discriminar aquellos niños con sobrepeso/obesidad con mayor riesgo de complicaciones metabólicas a una edad temprana (*Nappo A, 2017*).

En una revisión reciente se recoge que, salvo en pacientes con deficiencia congénita de leptina, el tratamiento con leptina sigue siendo muy controvertido, poniendo de manifiesto la importancia de continuar investigando sobre el desarrollo de análogos de leptina que conserven el efecto antiesteatósico y carezcan de acción proinflamatoria y profibrogénica. Por otra parte, los autores indican que la leptina podría tener utilidad como un biomarcador en el diagnóstico y seguimiento de EHGNA, en combinación con otras variables relacionadas con el metabolismo lipídico y niveles de glucosa (*Jiménez-Cortegana C, 2021*).

Varios estudios previos sugieren que las citoquinas proinflamatorias, especialmente TNF- $\alpha$  e IL-6, juegan un papel importante en la fase de EHNA. Sus niveles aumentan en pacientes con ENHA, mientras que la supresión de estas citoquinas mejora la EHGNA en roedores.

**Figura 8. El papel de la inflamación inducida por la obesidad en la enfermedad del hígado graso no alcohólico.** (Yunfei Luo, 2021)



### 7.1.3.- Relevancia e implicación

Los factores inflamatorios de la sangre, por tanto, son importantes para identificar y realizar seguimiento en los pacientes con mayor riesgo metabólico y complicaciones cardiovasculares. La disponibilidad limitada de muestras de tejido humano (intestino, grasa e hígado) dificulta su estudio. Por el contrario, los componentes de sangre periférica se pueden extraer por procedimientos mínimamente invasivos, fácilmente cuantificables y reproducibles, lo que les confiere mayor utilidad en la evaluación y seguimientos de niños con obesidad a edades tempranas. Se hace necesario profundizar en el conocimiento de los trastornos metabólicos asociados a la obesidad y su reflejo en sangre periférica.

## **7.2.- ENZIMAS HEPÁTICAS. ALANINA AMINOTRANSFERASA**

La ALT es una enzima que se encuentra principalmente en el hígado. Su elevación en sangre, por tanto, puede mostrar daño hepático. Junto con AST (aspartato aminotransferasa) son consideradas marcadores de enfermedad hepática (hepatitis, esteatosis, cirrosis).

La determinación de alanina transferasa es un análisis de sangre coste eficiente y a favor en beneficio-riesgo, mínimamente invasivo y universalmente disponible.

### **7.2.1.- SU RELACIÓN CON EL DIAGNÓSTICO EHGNA**

El gold estándar en el diagnóstico de la EHGNA pediátrica es la biopsia hepática (*Dezsofi A, 2015*). Sin embargo, tiene varias limitaciones como la accesibilidad, coste y complicaciones graves. Además, en edad pediátrica es recomendable realizarla bajo anestesia general (*Vos MB, 2017*).

Alternativamente, y en fases más precoces de diagnóstico, se debe sustituir o posponer la realización de biopsia hepática por otras pruebas menos invasivas.

En este sentido, se ha afirmado que la EHGNA es la causa más común de enzimas hepáticas elevadas en pacientes en países desarrollados (*Vos MB, 2017*) (*Schwimmer JB, 2013*). Gracias a ello, esta enzima se utiliza como marcador sustituto de sospecha de EHGNA, considerada la mejor herramienta de detección de EHGNA pediátrica (*Koutny F, 2020*).

La Academia Americana de Pediatría ha recomendado, para el tamizaje de EHGNA en niños con sobrepeso ( $IMC \geq 1DE$ ) y obesos ( $IMC \geq 2DE$ ), la medición bianual de ALT (*Schwimmer JB, 2010*), y su uso se ha recomendado por algunos comités de expertos para detectar EHGNA en niños mayores de 10 años (*Vos MB, 2017*).

## 7.2.2.- UTILIDAD EN OTRAS ASOCIACIONES

La asociación entre resistencia a la insulina, NAFLD, y MetS también se ha confirmado mediante el uso de niveles de ALT como marcador de esteatosis hepática. En un estudio transversal con niños obesos no diabéticos, se describe un aumento paralelo de los niveles de ALT a mayor número de criterios diagnósticos de MetS (*Hampe CS, 2017*).

ALT también se ha relacionado de forma independiente al grado de obesidad y con la alteración de la glucosa en ayunas (*Putri RR, 2021*). En este mismo estudio, se aprecia correlación en cuanto a niveles más altos de colesterol total, LDL y triglicéridos aumentaban las probabilidades de aumento leve de ALT, siendo esta asociación más fuerte con un aumento notable de ALT.

### Obesidad

Existe una relación dosis-respuesta entre el grado de obesidad y el aumento de ALT. Esto se ha reflejado en varios estudios (*Greber-Platzer S, 2019*) (*Putri RR, 2021*). Puede explicarse por varios mecanismos. Uno de ellos consiste en la relación del grado de obesidad con la acumulación de grasa ectópica en el hígado, produciendo lesión hepática. Por otro lado, igualmente un mayor grado de obesidad conlleva un aumento de las citoquinas inflamatorias circulantes. Incluyendo también, la asociación de la obesidad con el aumento de la resistencia a la insulina y ésta con la respuesta inflamatoria (*Hagman E, 2019*). Cabe recordar, que esta resistencia a la insulina y la obesidad, forman los principales factores del llamado primer golpe en la patogénesis de la EHGNA.

Como conclusión a los estudios previos analizados, se describe asociación, de forma independiente, del aumento de ALT con el sexo masculino, el aumento de la edad, la gravedad de la obesidad, HDL disminuido, triglicéridos, LDL, colesterol total y HOMA elevados.

En un estudio reciente sobre la prevalencia del aumento de transaminasas en relación a sexo, edad y otros parámetros de Mets en niños y adolescentes con obesidad en un estudio de cohorte transversal, se muestran algunas conclusiones (*Putri RR, 2021*). En los resultados de prevalencias de elevación de ALT correlacionado con la obesidad de

clase I, clase II y III se encontraron: mayores razones de probabilidad, para un aumento leve de ALT (obesidad de clase II OR, IC del 99 %: 1,51, 1,35–1,70; obesidad de clase III OR, IC del 99 %: 2,17, 1,66–2,61) y para ALT marcadamente aumentada (obesidad clase II OR, IC 99 %: 1,82, 1,51–2,20; obesidad clase III OR, IC 99 % 3,38, 2,71–4,23). Además, la dislipidemia se asoció con un aumento leve y marcado de ALT, todos estos resultados muestran un nivel de significación estadística  $p < 0,001$ . La prevalencia de alteración de la glucosa en ayunas fue del 19,1 % en el grupo de ALT normal, del 20,4 % en el grupo de ALT levemente elevado y del 29,0 % en el grupo de ALT marcadamente elevado. En general, Los trastornos metabólicos fueron más frecuentes entre las personas con ALT leve y marcadamente aumentada.

### 7.2.3.- LIMITACIONES

A pesar de ser un indicador importante de EHGNA infantil, es insuficiente como marcador único. Debería resultar de la combinación entre pruebas de imagen no invasivas, marcadores bioquímicos (ALT, ácido úrico, marcadores inflamatorios), con la intención de ser una buena alternativa y reemplazar la biopsia hepática en el futuro.

La aspartato aminotransferasa (AST), es otra enzima hepática marcadora de citólisis. Sin embargo, no es usada como marcador en la EHGNA relacionada con la obesidad pediátrica.

### 7.2.4.- RELACIÓN ALT Y ÁCIDO ÚRICO EN LA EHGNA Y MetS:

En busca de otros marcadores, se ha estudiado la asociación entre Ácido úrico y ALT.

En un estudio reciente en población de Bangladesh observaron que los niveles séricos de ALT y GGT aumentaron gradualmente de acuerdo con las concentraciones de AU en los grupos de cuartiles. En el análisis de regresión, el AU mostró una asociación fuerte e independiente con la ALT y la GGT séricas después de controlar las variables potenciales. Mostrando por tanto, una fuerte y positiva asociación entre AU y ALT y GGT en adultos, independientemente de los factores de confusión (*Molla NH, 2021*). Estos hallazgos respaldan el hecho de que los niveles séricos elevados de AU pueden ser un marcador eficaz para predecir anomalías en las enzimas hepáticas, especialmente para la ALT y la GGT séricas.

Ya en otro estudio anterior, se indicaba que un nivel elevado de AU, incluso dentro del rango de referencia, se asoció de forma independiente con una ALT elevada en adultos chinos (*Chen S, 2016*). Siguiendo esta base, ya recomiendan el ácido úrico sérico como una medida adicional útil en la evaluación del riesgo de NAFLD en el entorno clínico. Así como se sugiere que los niveles de AU sérico podrían ser un factor de riesgo importante para la ALT elevada.

En este mismo estudio se explican posibles mecanismos de esta asociación. Se centran en la fisiopatología que presentan en común. Por ejemplo, la hiperuricemia y la EHGNA comparten trastornos metabólicos similares, como la diabetes, la resistencia a la insulina, la obesidad central y la dislipidemia. La resistencia a la insulina lleva a una hiperinsulinemia, lo cual provocaría una reducción de la excreción renal de AU. Además, hace que los hepatocitos sean más vulnerables al daño debido a ciertos factores desencadenantes, como la acumulación de grasa en el hígado (*Choi SS, 2008*). Otra explicación para la asociación entre AU y ALT elevadas sería el estrés oxidativo. En pacientes con EHGNA, los niveles elevados de AU pueden alterar la defensa antioxidante endógena contra la peroxidación de la grasa hepática y, por lo tanto, promover la progresión del daño hepático (*Lanaspa MA, 2012*) (*Salomone F, 2013*).

Centrados en su utilización como biomarcadores de enfermedad hepática, ya hay algunos estudios que incluso han dedicado su trabajo a marcar unos valores de corte de estos dos parámetros. Sobre todo, confirman la ALT como un predictor independiente de la enfermedad del hígado graso según la puntuación de índice de hígado graso utilizada tanto en hombres como en mujeres. Y además, un punto de corte más bajo de ALT, mejora la sensibilidad de detección de personas en riesgo de EHGNA, así como de prevención de progresión (*Kliscic A, 2019*).

Otro estudio, tuvo como objetivo investigar la asociación entre los niveles combinados de AU y ALT y el riesgo de síndrome metabólico en adultos mayores o igual a 60 años de edad (*Wang J, 2020*). Demostrando una correlación significativa con Mets y factores de riesgo cardiovascular en ancianos. Tanto la ALT como el AU aumentaron y se correlacionaron más fuertemente con el síndrome metabólico que cualquiera de los índices solos. ALT y AU están estrechamente asociadas con el síndrome metabólico a través del depósito de lípidos, la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo. Los resultados de este estudio poblacional respaldan el uso de estos marcadores bioquímicos simples y disponibles de forma rutinaria para evaluar el síndrome metabólico y el riesgo cardiovascular.



### 7.3.- ÁCIDO ÚRICO

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas dietéticas y endógenas. Este es eliminado principalmente por el riñón (*Nakanishi N, 1999*).

#### 7.3.1.- FISIOPATOLOGÍA

Cuando hay un aumento en la producción o disminución de la eliminación, se produce un aumento de niveles en sangre del mismo, denominado hiperuricemia. Puede ocurrir de forma exógena a partir de una dieta rica en purinas o de forma endógena a partir del aumento de la producción, como en las neoplasias malignas y las alteraciones congénitas del metabolismo, así como en la disminución de la excreción renal.

Además de los factores genéticos, nos encontramos como determinante principal, forma exógena de hiperuricemia, la dieta. La ingesta de alimentos ricos en purinas como la carne o el marisco, toma de bebidas y alimentos con importante cantidad de azúcar, en particular fructosa y el consumo de alcohol, especialmente cerveza, supone la ingesta de cantidades excesivas de purina. El mecanismo por el cual la fructosa eleva los niveles de ácido úrico es el siguiente. La fructosa se fosforila a fructosa-1-fosfato mediante ATP en la cascada de la glucólisis. El consumo excesivo de fructosa resulta en el uso de grandes cantidades de ATP, junto a la producción de ADP y AMP y la mejora de la actividad de la AMP desaminasa, que convierte el AMP en IMP. Todo esto acelera la producción de ácido úrico (*Li L, 2020*) (*Zhang Z, 2020*).

Se han apreciado diferencias en cuanto a poblaciones, en este factor externo modificable. Encontrando una mayor prevalencia de hiperuricemia en la población con estilo de vida occidental. De hecho, en la actualidad, los niveles séricos de ácido úrico siguen siendo bajos en regiones sin un estilo de vida predominantemente occidental (*Roman YM, 2019*).

### 7.3.2.- ÁCIDO ÚRICO Y ASOCIACIONES PATOLÓGICAS

La hiperuricemia en adultos se ha asociado a riesgo cardiovascular. Aumenta el riesgo de comorbilidades como hipertensión, enfermedades renales y enfermedades cardiovasculares (*Sui X, 2008*). Sin embargo, disponemos de menos datos sobre dicha asociación en la infancia.

El ácido úrico supone un biomarcador de enfermedades dependientes del estilo de vida, que predispondrían a las personas a MetS, hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares y renales. Estas relaciones sugieren que la medición del AU sérico en edad pediátrica, con el fin de mejorar los estilos de vida, como reducir los alimentos ricos en purinas y las dietas altas en fructosa, podría reducir el riesgo de enfermedades crónicas desde la infancia y disminuir el efecto nocivo de las mismas en la edad adulta (*Feig Di, 2008*) (*Coutinho T de A, 2007*).

### 7.3.3.- ÁCIDO ÚRICO Y METS

La asociación de la concentración elevada de ácido úrico con MetS podría explicarse por varios mecanismos (*Hayden MR, 2004*). Uno de ellos sería la reducción de la biodisponibilidad de óxido nítrico producida con valores altos de ácido úrico. El óxido nítrico es un factor antioxidante a nivel de los vasos sanguíneos, su reducción conduce a cierto nivel de disfunción endotelial. El óxido nítrico también es necesario para la captación de glucosa, por lo que aumentar el AU aumentará la glucosa en sangre. Otro mecanismo supone la relación del ácido úrico con el proceso de adipogénesis, el cual podría acelerar. Esto provocaría alteraciones oxidativas e inflamatorias en los adipocitos, con la expresión de xantina oxidorreductasa a partir de xantina (*Cardoso AS, 2013*). Estas reacciones han sido valoradas en estudios experimentales, donde el MetS en ratones obesos se origina a partir de estos cambios inflamatorios y oxidativos (*Johnson RJ, 2009*).

En un estudio reciente, se analiza la asociación de los niveles de ácido úrico con otros componentes del MetS. Los resultados revelaron una fuerte asociación de TG y colesterol LDL elevados, así como HDL-C bajo con niveles de ácido úrico séricos elevados (*Goli P, 2020*).

### 7.3.4.- ÁCIDO ÚRICO Y TENSIÓN ARTERIAL

Otra de las asociaciones estudiadas previamente es la de los niveles de ácido úrico y los valores de tensión arterial (*Feig DI, 2004*) (*Feig DI, 2005*). Igualmente podría estar explicado por varios mecanismos. Una alta concentración de AU, reduce el óxido nítrico en la mácula densa, y activa directamente el sistema renina-angiotensina. Ambas vías provocarían hipertensión por vasoconstricción (*Choi HK, 2007*). En cuanto a estudios en niños, ya se ha considerado el uso de los niveles de ácido úrico como un factor diagnóstico y preventivo de hipertensión, así como de reconocimiento temprano de MetS (*Alper AB, 2005*) (*Feig DI, 2003*). La elevación temprana de la concentración de AU podría actuar como un factor principal de riesgo para el MetS al desarrollar hipertensión. Un estudio taiwanés predijo que un alto nivel de AU ( $\geq 7.3$  para hombres y  $\geq 6.2$  mg/dL para mujeres) aumenta las posibilidades de desarrollar hipertensión en ambos sexos y síndrome metabólico en adolescentes varones después de 10 años de seguimiento (*Sun HL, 2015*).

### 7.3.5.- ÁCIDO ÚRICO Y RESISTENCIA A LA INSULINA

Si nos centramos en otro aspecto de las relaciones del ácido úrico, como es la resistencia a la insulina, apreciamos cierto cambio en la visión. Históricamente, la hiperuricemia se constituía como una consecuencia secundaria a la resistencia a la insulina (*Facchini F, 1991*), pero estudios posteriores ya sugieren su papel causal (*Krishnan E, 2012*), dado que a menudo, un ácido úrico sérico elevado precede al desarrollo de resistencia a la insulina.

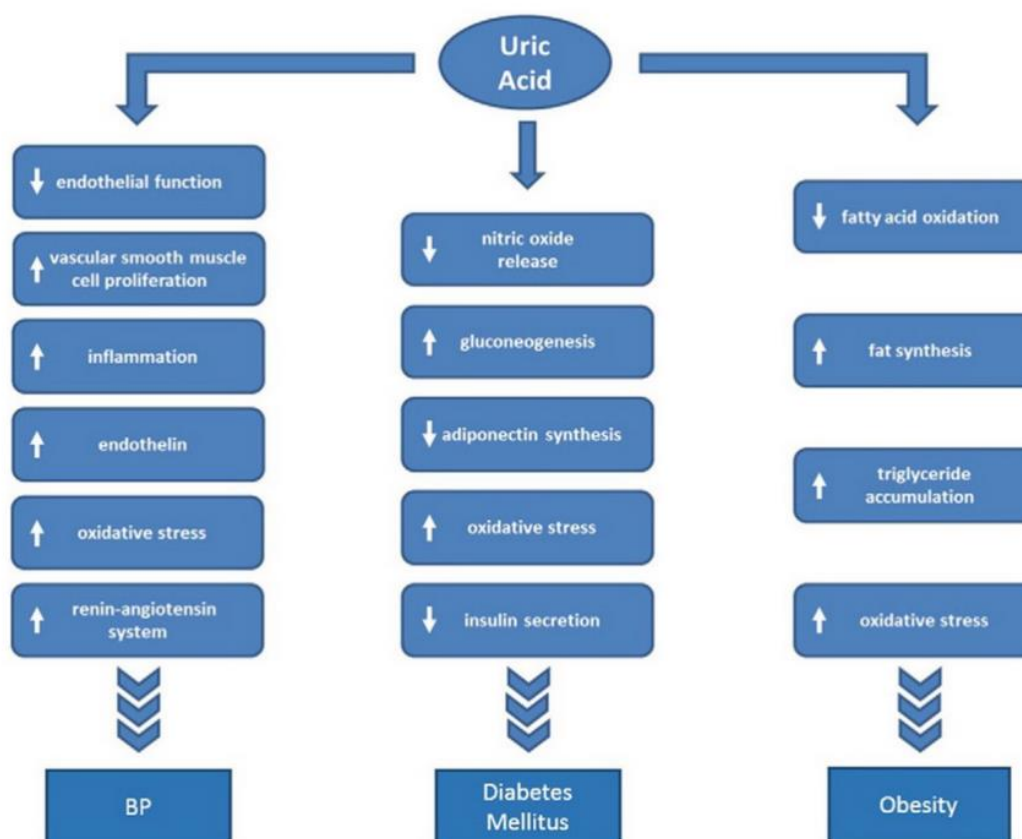
Existen varios puntos que han sido demostrados en diferentes estudios. Uno de ellos, se refleja en que el ácido úrico bloquea la proteína quinasa activada por AMP y estimula la gluconeogénesis (*Cicerchi C, 2014*). Además, induce estrés oxidativo en los adipocitos, lo que conduce a una menor síntesis de adiponectina (*Sautin YY, 2007*).

Por otro lado, centrando la mirada a nivel pancreático, se ha demostrado que el ácido úrico produce estrés oxidativo en las células de los islotes. En un estudio en ratas, la insulina sérica se redujo en un 26 % y la glucemia aumentó un 24-38% en aquellas en las que se inhibió durante unas semanas la uricasa (elimina ácido úrico) (*Scott FW, 1981*).

La eliminación del medio del ácido úrico restauró rápidamente la secreción de insulina, lo que sugiere que el ácido úrico podría tener un efecto citostático o citotóxico en las células  $\beta$  del páncreas.

Este efecto de la reducción del ácido úrico sobre la resistencia a la insulina se ha reafirmado de forma indirecta en estudios que han reflejado la mejora de la resistencia a la insulina (índice HOMA) con el tratamiento con benzbromarona y alopurinol. Además, con este último fármaco se apreció una mejora en los niveles de hemoglobina A1C en sujetos diabéticos normotensos (*Ogino K, 2010*) (*Dogan A, 2011*).

**Figura 5.- Efectos inducidos por el ácido úrico que pueden desempeñar un papel en la patogenicia de la hipertensión, la diabetes y la obesidad.** (*Kanbay M, 2016*)



### **7.3.6.- ÁCIDO ÚRICO Y ATEROSCLEROSIS**

El mecanismo de estrés oxidativo comentado, dado el poder inductor del mismo de la hiperuricemia, también se ha localizado como responsable en la patogenia de la aterosclerosis. Los mecanismos responsables son el aumento de la actividad de la xantina oxidasa en el proceso metabólico del ácido úrico con la formación de ROS, el aumento de la expresión y actividad de NADPH oxidasa y lesión mitocondrial con producción de mtROS.

### **7.3.7.- ÁCIDO ÚRICO Y EHGNA**

En algunos estudios ya se ha afirmado que la hiperuricemia está relacionada con la EHGNA tanto en adultos como en niños (*Sirota JC, 2013*). En un estudio de 2017 en adolescentes, la hiperuricemia predijo de forma independiente la presencia de EHGNA después de ajustar por posibles factores de confusión (*Mosca A, 2017*). Otro estudio apoya la relación entre mayor nivel de ácido úrico con mayor grado de esteatosis e inflamación lobulillar en EHGNA estudiada por biopsia (*Cohen JC, 2011*).

### **7.3.8.- ÁCIDO ÚRICO Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR**

La asociación con la enfermedad cardiovascular sigue estando en auge. En los primeros estudios se han sugerido beneficios de la reducción de ácido úrico en angina (*Noman A, 2010*), hipertrofia ventricular izquierda (*Kao MP, 2011*), el grosor de la íntima carotídea (*Higgins P, 2014*), rigidez arterial (*Grimaldi-Bensouda L, 2015*) y eventos cardiovasculares en sujetos con y sin enfermedad renal crónica (*Goikoechea M, 2010*) (*Terawaki H, 2013*).

En búsqueda de metaanálisis recientes, aparecen varios basados en estudios prospectivos, que continúan la línea de afirmación de la elevación de ácido úrico como factor de riesgo independiente para enfermedades cardiovasculares.

Uno de ellos, analiza 14 estudios prospectivos en pacientes adultos con más de trecentosmil participantes. Informan que el riesgo relativo (RR) de mortalidad por

cardiopatía coronaria aumentó en pacientes con hiperuricemia (RR: 1,14, intervalo de confianza [IC] del 95 %: 1,06–1,23). Los riesgos generales de cardiopatía coronaria y mortalidad por todas las causas aumentaron en un 20 % y un 9 %, respectivamente, por cada aumento de 1 mg/dl en el ácido úrico sérico. Siendo este aumento mayor en mujeres que en hombres (*Zuo T, 2016*).

Li M et al. realizan un metaanálisis con 29 estudios de cohortes prospectivos con una muestra de más de novecientosmil participantes. Observaron que la hiperuricemia se asociaba con un aumento de riesgo de morbilidad por cardiopatía coronaria (RR 1,13; IC 95 % 1,05–1,21) y de mortalidad (RR 1,27; IC 95 % 1,16 –1,39). En este caso, también se aprecia una mayor relación mujer-hombre. El riesgo de mortalidad por cardiopatía coronaria en mujeres por cada aumento de 1 mg/dl de ácido úrico fue de 2,44. En cambio, en hombres fue del 1,02 (*Li M, 2016*).

### 7.3.9.- RELEVANCIA DE LOS VALORES DE ÁCIDO ÚRICO EN LA INFANCIA

En consecuencia a todo lo comentado, se puede afirmar que el ácido úrico elevado puede llegar a ser uno de los factores de riesgo remediables más importantes para las enfermedades metabólicas y cardiovasculares.

Sería interesante referenciar niveles del mismo y rangos en los que hacer incapié en prevención, seguimiento y tratamiento desde la infancia.

En un estudio reciente en una amplia muestra en niños y adolescentes coreanos se desarrollan rangos de referencia de percentiles y cuartiles de ácido úrico sérico. Este estudio también confirma la asociación entre los cuartiles más altos de suero AU y mayores riesgos de MetS y sus componentes en niños y adolescentes coreanos (*Myung Hyun Cho, 2020*).

Una revisión sistemática actual, en la que incluyen un gran número de estudios con muestra consiguiente muy heterogénea, obtiene también resultados en línea con los estudios previos (*Goli P, 2020*). Apoyan la relación entre MetS y los niveles de ácido úrico séricos, encontrando evidencia consistente para una asociación significativa entre niveles elevados de ácido úrico y diferentes componentes del síndrome metabólico pediátrico. Estos resultados revelaron fuerte asociación de TG y colesterol LDL elevados, así como HDL bajo con niveles séricos de ácido úrico elevados. También se encontró una asociación significativa entre ácido úrico elevado y tensión arterial elevada en niños y adolescentes. La elevación temprana de la concentración de AU podría actuar como el principal factor de riesgo de MetS al desarrollar hipertensión.

Con vistas a futuro, se precisan más ensayos clínicos con muestra amplia y mayor heterogeneidad poblacional para corroborar datos y escalas de estudios previos e ir más allá. Determinar si la reducción de los niveles de AU puede prevenir y tratar la obesidad abdominal, el MetS y controlar niveles de HDL-C bajo y otras alteraciones bioquímicas.

El ácido úrico tiene un papel como biomarcador eminente del estilo de vida, y en consecuencia, de enfermedades que predispondrían a MetS, hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares y renales.





**II.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA,  
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.**



## **1.- Función hepática y obesidad infantil**

### **Planteamiento del problema**

Además de los componentes tradicionales, la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) y la hiperuricemia se han sugerido como componentes adicionales del síndrome metabólico (MetS). Este síndrome puede comenzar en los niños con obesidad a edades muy tempranas. Todos los estudios previos expuestos, que nos relacionan el síndrome metabólico con estos parámetros y alteraciones a nivel hepático, nos hacen pensar en una punta de iceberg a profundizar. Tenemos evidencia, por lo tanto, de dicha relación y perspectiva en conjunto de estas patologías, pero aún existen interrogantes a estudiar y responder. Se precisa analizar, cuantificar y buscar cambios y modificaciones de la EHGNA reflejada en parámetros asumibles y accesibles. Aquí surge el planteamiento del problema de nuestra Tesis.

La EHGNA se ha convertido en la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica, tanto en niños como en adultos. Se asocia con componentes importantes del MetS, como la obesidad, algunos autores consideran que son manifestaciones hepáticas de este síndrome.

Los niveles elevados de alanina aminotransferasa están asociados con la incidencia de MetS, diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular y se ha demostrado que es un factor predictivo de esteatosis no alcohólica. La ALT está estrechamente relacionada con la acumulación de grasa en el hígado y se considera un indicador sensible de daño hepático.

La bilirrubina en concentraciones normales es un potente agente antioxidante endógeno con propiedades antiinflamatorias. Los niveles bajos de bilirrubina están asociados con la obesidad, MetS e inflamación sistémica y la pérdida de peso provoca un rápido aumento de los niveles de bilirrubina y de la capacidad antioxidante.

La alta prevalencia de EHGNA y sus posibles consecuencias graves para la salud hacen que su detección temprana sea importante ya que la esteatosis simple es reversible mediante modificaciones en el estilo de vida, especialmente la pérdida de peso.

### **Hipótesis**

Los trastornos metabólicos asociados a la obesidad, incluyendo la elevación de enzimas hepáticas relacionados con EHGNA y descenso de bilirrubina, se inician en el

niño con obesidad antes de la pubertad. La disminución en el IMC-SDS produce una mejora en los niveles de enzimas hepáticas, y éstos se asocian con cambios favorables en parámetros relacionados con la obesidad.

### **Objetivos**

**Objetivo 1.-** Cuantificar las diferencias en los valores de enzimas hepáticas entre niños prepúberes con obesidad y niños con peso normal para determinar cualquier asociación entre ellos y parámetros relacionados con MetS, adipocinas o marcadores de inflamación, disfunción endotelial y resistencia a la insulina.

**Objetivo 2.-** Estudiar los cambios que ocurren en los niveles de enzimas hepáticas en respuesta al tratamiento estándar de la obesidad infantil para determinar si existen diferencias entre los niños que disminuyen su IMC-SDS después de nueve meses de tratamiento y los que mantienen su IMC-SDS estable.

**Objetivo 3.-** Determinar si existe una asociación entre los cambios en los niveles de enzimas hepáticas y los cambios en parámetros relacionados con el MetS, leptina, marcadores de insulina e inflamación, en respuesta al tratamiento.

**Objetivos 4.-** Analizar las diferencias en los valores de bilirrubina entre niños con obesidad y normopeso, y determinar los cambios que se producen en la misma con el tratamiento.

## **2.- Ácido úrico y obesidad infantil**

### **Planteamiento del problema**

Los pacientes con MetS tienen niveles elevados de ácido úrico (AU), siendo la obesidad el principal factor determinante de la variación del nivel de AU.

El aumento de los valores de AU se asocia con mayor probabilidad de obesidad, hipertensión, diabetes mellitus, dislipidemia y enfermedad cardiovascular, así como con el MetS.

Este aumento de AU puede inducir estrés oxidativo e inflamación, provocando disfunción endotelial y el desarrollo de hipertensión. La inflamación y la activación

endotelial a menudo se asocian con la obesidad y el MetS, tanto en adultos como en niños y ambas pueden contribuir al desarrollo y progresión de la aterosclerosis.

La disminución de los niveles de AU se asocia con una mejoría en la función endotelial. La pérdida de peso disminuye los niveles elevados de citocinas y disminuye la inflamación, lo que puede estar relacionado con cambios en los niveles de AU.

El ácido úrico puede estar involucrado en los procesos relacionados con la inflamación, disfunción endotelial e hipertensión desde una edad muy temprana, incluso antes de la pubertad.

### **Hipótesis**

Los niveles de ácido úrico están elevados en niños con obesidad antes de la pubertad, disminuyen con el descenso del IMC-SDS, y esta disminución se asocia con cambios favorables en marcadores de inflamación, disfunción endotelial y parámetros relacionados con el MetS.

### **Objetivos**

**Objetivo 5.-** Cuantificar las diferencias en los niveles de ácido úrico en niños prepúberes con obesidad respecto de niños con peso normal, y determinar si existe una relación entre los niveles de ácido úrico biomarcadores de inflamación, disfunción endotelial y parámetros asociados con MetS.

**Objetivo 6.-** Estudiar los cambios que se producen en los niveles de AU en respuesta al tratamiento habitual de la obesidad infantil y determinar las diferencias entre los niños que disminuyen su IMC-SDS y los que mantienen su IMC-SDS estable a los nueve meses de tratamiento.

**Objetivo 7.-** Evaluar si existe asociación entre los cambios en los niveles de AU y la expresión de marcadores de disfunción endotelial, inflamación, hipertensión o MetS.

**Objetivo 8.-** Valorar si existe asociación entre cambios en los niveles de enzimas hepáticas y cambios en los niveles de ácido úrico.



### **III- PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS.**





## **1.- DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Se recogen y analizan aspectos novedosos, sobre trastornos recientemente relacionados con el síndrome metabólico, de proyectos de investigación de nuestro grupo dentro de una misma línea de investigación, en niños prepúberes con obesidad, de seis a nueve años. Su análisis conjunto nos permite, además de evaluar una amplia población, establecer una continuidad en el estudio, según en dos fases diferenciadas:

Primera fase, se comparan en situación basal previa al tratamiento el grupo de niños con obesidad (n= 123) con un grupo control formado por 61 niños con peso normal de igual edad y estadio puberal (estudio observacional, analítico, transversal de casos y controles). La obesidad infantil se definió según Cole et al. (*Cole TJ, 2000*) utilizando los puntos de corte del IMC específicos por edad y sexo (correspondiente al punto de corte para adultos de 30 kg / m<sup>2</sup>).

Una segunda fase correspondiente a un estudio observacional, analítico, de seguimiento (o de cohorte) prospectivo en niños con obesidad de ambos sexos (n= 63). Valoramos la respuesta al tratamiento habitual de la obesidad infantil. Después de nueve meses de tratamiento, analizamos las diferencias entre los niños que disminuyen su IMC-SDS y los que mantienen su IMC-SDS estable. (SDS del IMC se basó en los estándares de referencia españoles publicados por Sobradillo). Además, se analizó la correlación entre los cambios de enzimas hepáticas, bilirrubina y ácido úrico con las variaciones ocurridas en el conjunto de variables estudiadas.

## **2.- SELECCIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA**

### **2.1.- Ámbito de estudio**

El ámbito de estudio comprendía la Consulta de Endocrinología Pediátrica del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, cinco Zonas Básicas de Salud de Atención Primaria de Córdoba (Centro de Salud de Poniente, Pozoblanco, Hinojosa del Duque, Peñarroya y Palma del Río) y el Hospital comarcal “Valle de los Pedroches” de Pozoblanco.

### **2.2.- Sujetos de estudio**

#### **Población diana**

El estudio se generaliza a todos los niños con obesidad de edad comprendida entre 6 y 9 años.

#### **Población de estudio**

##### **. Estudio transversal**

Grupo de casos: Estudiamos 123 niños prepúberes (Tanner stage 1) con obesidad (Cole TJ, 2000) de edades comprendidas entre 6 y 9 años.

El grupo control incluye 61 niños con peso normal y edad comprendida entre 6 y 9 años, seleccionados de la misma población que el grupo de casos.

### **. Estudio longitudinal**

Del grupo inicial de niños con obesidad, 63 participaron en un programa de seguimiento en el que se valoró la respuesta al tratamiento habitual de la obesidad infantil durante 9 meses.

Todas las variables se midieron al inicio del estudio y nuevamente después de nueve meses de tratamiento para el grupo de niños con obesidad. Se controlaron los cambios en los parámetros antropométricos, de presión arterial o bioquímicos en el grupo con obesidad. Los cambios ( $\Delta$ ) en todas las variables analizadas se expresaron como la diferencia entre el valor después de los nueve meses menos el valor a nivel basal para cada parámetro estudiado.

Estudiamos la asociación entre los cambios en los niveles de ácido úrico, bilirrubina y enzimas hepáticas con las modificaciones producidas, a los nueve meses, en cada una de las variables analizadas.

También comparamos a los niños con obesidad que habían disminuido sustancialmente su IMC-SDS (en más de 0,5) con aquellos cuyo estado de IMC-SDS se había mantenido estable después del tratamiento. Una disminución considerable en el IMC-SDS se definió como una reducción en el IMC-SDS de 0,5 o más. Así se estimó dado que un estudio anterior informó una mejora de la sensibilidad a la insulina y los factores de riesgo cardiovascular en niños obesos cuando el IMC-SDS había disminuido en esta cantidad (*Reinehr T, 2004*). Los niños para los que el IMC-SDS no había cambiado en más de 0,5 se consideraron parte del grupo cuyo IMC-SDS no había cambiado sustancialmente.

Se analizan de forma consecutiva datos no evaluados anteriormente, relacionados con estos nuevos componentes del MetS (enfermedad del hígado graso no alcohólico, ácido úrico), de tres proyectos de investigación de nuestro grupo en niños con obesidad, con iguales criterios de selección y mismo protocolo: Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS PI021155). Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS PI183/97). Proyecto financiado por el Servicio Andaluz de Salud (PI4400). En todos estos proyectos se estudiaron niños de iguales características, con criterios de inclusión y exclusión idénticos. Todos los padres de los niños participantes cumplimentaron su consentimiento escrito de adhesión al estudio. Todos los proyectos

cuentan con la correspondiente autorización del Comité responsable de Investigación y Ética.

### **Los criterios de selección**

#### **• Criterios de inclusión**

- Niños de edad comprendida entre los 6 y 9 años de ambos sexos con obesidad, prepúberes en estadio I de Tanner. La obesidad infantil se definió según Cole et al. (*Cole TJ, 2000*) utilizando los puntos de corte del IMC específicos por edad y sexo (correspondiente al punto de corte para adultos de 30 kg / m<sup>2</sup>)

#### **• Criterios de exclusión**

- Niños con diabetes.

- Hiperlipemia primaria.

- Niños con hipertensión arterial.

- Niños sometidos a cualquier tratamiento farmacológico, especialmente aquéllos que puedan interferir sobre el estado de sensibilidad a la insulina.

- Pacientes con obesidad secundaria: enfermedades endocrinas, síndromes hipotalámicos, síndromes malformativos, cromosopatías...

#### **• Criterios de inclusión para el grupo control**

- Niños de edad comprendida entre 6 y 9 años de ambos sexos con peso normal (*Cole TJ, 2000*), prepúberes en estadio I de Tanner (sin desarrollo de caracteres sexuales secundarios).

• **Criterios de exclusión para el grupo control**

- Niños diabéticos.
- Aquéllos con hiperlipemia primaria.
- Niños con hipertensión arterial.
- Niños sometidos a cualquier tratamiento farmacológico, especialmente aquéllos que puedan interferir sobre el estado de sensibilidad a la insulina.

**2.3.- Tamaño de la muestra**

En la segunda fase, niños con obesidad en seguimiento, el tamaño de muestra requerido fue: Considerando los niveles de ALT como variable principal y, en base a datos previos, asumimos que después de 9 meses de tratamiento las desviaciones estándar para los dos grupos serían de 3,7 y 4,1 respectivamente, y con una diferencia de medias esperada de 2,95 calculamos que se requeriría 29 que los pacientes en cada grupo (con y sin una disminución sustancial en su IMC-SDS) para alcanzar un poder del 80 % con un nivel de confianza del 95 %.

La primera fase del estudio, comparación entre niños con obesidad y niños con peso normal el tamaño de la muestra, ha sido ya publicada como parte de esta Tesis, estando disponible el cálculo del tamaño muestral tanto para las variables relacionadas con el ácido úrico (*Valle M, 2015*), como para los parámetros relacionados con las enzimas hepáticas (*Valle-Martos R, 2021*).

### **3.- RECOGIDA DE DATOS**

#### **3.1.- Protocolo de estudio**

La recogida y análisis de datos procedentes de los proyectos referidos se realizan de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión mencionados. Se establecen dos fases diferenciadas, según los objetivos marcados:

En una primera fase se recogen las características clínicas y analíticas en niños prepúberes con obesidad, de 6 a 9 años, y se les compara con niños, de igual edad y estadio puberal, con peso normal.

En una segunda fase se estudian exclusivamente niños con obesidad, analizando la respuesta al tratamiento habitual de la obesidad infantil, en el conjunto de variables objeto de este trabajo y se valora su posible asociación con los niveles de ácido úrico, bilirrubina y parámetros bioquímicos relacionados con la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

#### **3.2.- Protocolo de tratamiento**

El tratamiento estándar de la obesidad infantil consta de componentes conductuales, ejercicio físico y educación nutricional, según las recomendaciones del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatras [23, 24]. Se recomienda para todos los niños con obesidad que visitan a su pediatra y también se recomendó en este estudio, sin ninguna modificación. No hay asignación aleatoria y la asignación de la intervención médica no queda a discreción del investigador, estudios observacionales. La evidencia sugiere que el manejo debe involucrar a toda la familia y enfocarse en cambios en el comportamiento sedentario, la actividad física y la dieta.

La dieta se basa en el principio de hacer coincidir la ingesta de energía y nutrientes con las necesidades reales del niño mediante una estrategia de dos niveles: corrección de errores e intervención dietética activa. Todos los participantes fueron informados sobre los alimentos permitidos y prohibidos. La dieta debe aportar menos energía que la requerida para mantener el peso corporal, ser nutricionalmente adecuada para mantener

la masa magra y el crecimiento lineal, y ser aceptable por el paciente. La restricción calórica irá en función del grado de obesidad.

También se aconsejó a los sujetos que realizaran una actividad física de moderada a intensa (caminar u otro ejercicio físico), inicialmente durante 30 min / día al menos 5 días a la semana, con el objetivo de aumentar este tiempo activo a 60 min / día después del primer mes. También se les animó a aumentar su movimiento diario general como parte de un programa mejorado de actividad física: caminar, subir escaleras, realizar tareas domésticas, evitar ascensores, disminuir las horas de televisión, participar en actividades deportivas de acuerdo con las preferencias del niño.

En la primera visita se excluyó a los niños que no cumplieran con los criterios de selección y se evaluó el estilo de vida familiar, actividad física, dieta, hábitos de sueño, horas de televisión y comportamiento sedentario. Los problemas que se reconocieron durante la evaluación inicial como posibilidades de mejora determinaron las prioridades individuales. Ninguno de los participantes estaba recibiendo ningún tratamiento con ningún medicamento.

Tras un ayuno de 12 horas, entre las 8 y las 9 de la mañana se les realizaba una extracción de sangre. Igualmente se realizaron todas aquellas exploraciones necesarias para descartar la existencia de obesidad secundaria y/o cualquier tipo de patología que implicase la exclusión del estudio. Posteriormente se les citaba de forma mensual, recogiendo de nuevo todos los datos antropométricos y la toma de tensión arterial e insistiendo en el tratamiento de la obesidad infantil. Se realizaron extracciones de sangre basales y 9 meses de seguimiento.

### **3.3.- Determinaciones analíticas**

A nivel basal (grupo de niños con obesidad y con peso normal) y a los 9 meses (grupo de niños con obesidad en seguimiento) se determinaron los siguientes parámetros analíticos:

- Ácido úrico

- Función hepática
  - . Enzimas hepáticas (AST y ALT)
  - . Colinesterasa
  - . Bilirrubina total y directa.
- Metabolismo hidrocarbonado
  - . Glucosa
  - . Insulina
  - . Índice HOMA
- Metabolismo lipídico
  - . Colesterol total
  - . Triglicéridos
  - . HD-colesterol
  - . Apolipoproteína A-I (Apo A-I), Apolipoproteína B (Apo B).
- Marcadores de Inflamación
  - . Interleuquina 6 (IL-6)
  - . Proteína C reactiva (PCR) ultrasensible
  - . Índice neutrófilos/linfocitos (INL)
  - . Índice plaquetas/linfocitos (IPL).
- Marcadores de disfunción endotelial
  - . Molécula de adhesión intercelular-1 soluble (sICAM-1)
- Hemograma
- Leptina



### **3.4.- Medidas antropométricas**

Peso: Se determinó con el niño en ropa interior y descalzo en báscula que precisaba fracciones de 100 gramos, de marca Atlántida Añó-Sayol.

Talla (T): Se utilizaron tallímetros de la marca Atlántida Añó-Sayol con precisión de 0,1 cm. Los niños se medían en bipedestación, mirando al frente con el vértex tangente al tope móvil, alineando la cabeza siguiendo la línea trago comisural, sin zapatos, con los talones desnudos apoyados sobre la base fija de la báscula, procurando que contactaran con el listón de la misma, el occipucio, hombros, nalgas y talones.

Circunferencia de la cintura: pasando la cinta métrica por una línea horizontal equidistante de la última costilla y la cresta iliaca, a nivel del ombligo.

Índice de masa corporal o de Quetelet:  $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Talla}^2 (\text{m}^2)$ .

### **3.5.- Medida de la tensión arterial**

La determinación se realizó con los niños en decúbito supino tras reposo de al menos 10 minutos, aprovechando la entrevista y recogida de datos a los padres. La estimación se realizó a partir de la media aritmética de dos observaciones diferentes separadas, como mínimo, por cinco minutos de intervalo. Para la medición se utilizó el método auscultatorio con esfigmomanómetro de mercurio marca Pymah-Trimline con apreciaciones de 5 mm de mercurio y estetoscopio ordinario Littman 2113-R. Las dimensiones del manguito utilizado eran de 11 cm de anchura por 36 cm de longitud, cuyas dimensiones permitió cubrir los 2/3 del brazo del niño en el momento de la toma. Se consideró tensión arterial sistólica (TAS) la audición del primer ruido de Korotkoff y tensión arterial diastólica (TAD) la cuarta fase, que corresponde al cambio de tonalidad de los ruidos con apagamiento súbito de los tonos.

## **4.- MÉTODOS ANALÍTICOS**

### **4.1.- Muestras**

Las extracciones de sangre para las determinaciones analíticas se realizaron mediante punción venosa, en la zona antecubital, entre las 9 y las 10 de la mañana tras 12 horas de ayuno y fueron efectuadas por el personal de enfermería del centro de salud correspondiente en cada caso o del hospital.

Se utilizaron jeringas tipo Luer y agujas de 0,9 x 25 mm. (Becton Dickinson, Fabersanitas SA). Las determinaciones rutinarias se cuantificaron en el mismo día de la extracción, para el resto de determinaciones analíticas se obtuvieron muestras de suero que se congelaron en alícuotas a -80°C.

### **4.2.- Determinaciones analíticas**

#### **4.2.1.- Función hepática y ácido úrico**

Las determinaciones de Ácido Úrico, ALT, AST, Colinesterasa, Bilirrubina Total y Directa se realizaron con autoanalizador Olympus de Cormédica, con reactivos igualmente de Olympus Diagnostica GmbH, según los procedimientos estandarizados que de forma rutinaria se emplean en laboratorio.

#### **4.2.2.- Metabolismo hidrocarbonado**

. Glucosa: La glucosa se midió mediante método colorimétrico enzimático (glucosa oxidasa) en un autoanalizador Olympus de Cormédica.

. Insulina: Se cuantificó por un inmunoensayo de quimioluminiscencia de partículas paramagnéticas (Access Ultrasensitive Insulin, Beckman Coulter) en autoanalizador Access (Beckman Coulter). Este ensayo muestra un coeficiente de variación total inferior al 10% en el rango de medida y el límite inferior detectable es 0,03  $\mu$ UI/ml (0,21 pmol/l).

. Índice HOMA: Del inglés homeostasis model assessment. Se calculó mediante la siguiente fórmula: [insulina (mU/L) x glucosa (mmol/L)]/22,5.

#### **4.2.3.- Metabolismo lipídico**

. Colesterol total: se cuantificó mediante método colorimétrico enzimático (CHOD-PAD) en autoanalizador Olympus de Cormédica.

. Triglicéridos: se cuantificaron mediante método colorimétrico enzimático (GPO-PAP) en autoanalizador Olympus de Cormédica.

. Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c): Se determinó el colesterol tras bloquear las reacciones enzimáticas de las lipoproteínas diferentes de las lipoproteínas de alta densidad mediante el anticuerpo de la lipoproteína  $\beta$  antihumano, con igual método que el colesterol total.

. Apolipoproteína A-I: Las Apo A-I se midieron por nefelometría (N Antisera to Human Apolipoprotein A-I) en un autoanalizador Nephelometer Analyzer II de Dade Behring. El coeficiente de variación intraensayo fue 2,2% para una concentración de Apo-AI de 1,58 g/l. El CV interensayo fue de 5,7% para un contenido de Apo A-I de 1,45 g/l.

. Apolipoproteína B: Se determinaron igualmente mediante nefelometría (N Antisera to Human Apolipoprotein B) en un autoanalizador Nephelometer Analyzer II de Dade Behring. El coeficiente de variación intraensayo fue 1,9% para una concentración de Apo B de 1,04 g/l. El CV interensayo fue 2,4% para un contenido de Apo B de 1,08 g/l.

#### **4.2.4.- Marcadores de inflamación**

. Interleuquina 6: Para la determinación de IL-6 se utilizó un enzimoimmunoensayo (Quantikine human IL-6, RD systems, Wiesbaden-Nordenstat, Germany) en analizador de microplacas (Biokit de Biochem Immunosystems). El coeficiente de variación para concentraciones de 16,8 pg/ml, 97,7 pg/ml y 186 pg/ml fue 4,2%, 1,6% y 2%, respectivamente. El CV interensayo para concentraciones de 17,2 pg/ml, 101 pg/ml y 191 pg/ml fue 6,4%, 3,3% y 3,8%, respectivamente.

. Proteína C reactiva ultrasensible: La PCR se cuantificó por nefelometría con reactivos (N High Sensitivity CRP, Dade Behring, Marburg GmbH) y nefelómetro (Nephelometer Analyzer II) de Dade Behring, con un límite de detección de 0,175 mg/l. El coeficiente de variación intraensayo fue de 3,1%, 3,8% y 3,4% para concentraciones de 0,5, 1,1 y 2,1 mg/l. El CV interensayo fue de 2,5%, 3,8% y 2,1% para un contenido de PCR de 0,5, 1,3 y 2,1 mg/l.

. Índice neutrófilos/linfocitos: El cálculo de la relación neutrófilos/linfocitos de hizo a partir de los resultados del hemograma.

. Índice plaquetas/linfocitos: Calculado a partir del hemograma.

#### **4.2.5.- Marcadores de disfunción endotelial**

. Molécula de adhesión intercelular-1 soluble: Se utilizó un test inmunoenzimático (sICAM-1 ELISA, Inmuno-biological laboratories, Hamburg), en analizador de microplacas (Biokit de Biochem Immunosystems). El límite de detección del método fue 3,3 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo e interensayo fue 4,1% y 7,66%, respectivamente.

#### **4.2.6.- Hemograma**

Las medidas hematológicas se realizaron en el contador automatizado ADVIA-120 de Bayer Diagnóstico. Se determina: número de hematíes, hematocrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio, concentración media de hemoglobina, concentración corpuscular media de hemoglobina, número de plaquetas y su volumen medio, número de leucocitos y porcentaje de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

#### **4.2.7.- Leptina**

La leptina se cuantificó mediante enzimoanálisis (Quantikine human leptin, R&D) en un procesador de microplacas Biokit de Biochem Immunosystems. El coeficiente de variación intraensayo para concentraciones de 64,5, 146 y 621 pg/ml fue 3,3, 3 y 3,2%, respectivamente. El CV interensayo para concentraciones 65,7, 146 y 581 pg/ml fue 5,4, 4,2 y 3,5 %, respectivamente.

## **5.- CONTROL DE CALIDAD**

Todas las determinaciones analíticas se realizaron en el laboratorio del Hospital Valle de los Pedroches. Este laboratorio dispone de un Plan de Evaluación y Mejora Continua de la Calidad. Trabaja con objetivos de calidad basados en la Variabilidad Biológica, marcando objetivos tanto para la imprecisión como para la inexactitud. Para los parámetros donde no se dispone de datos de Variabilidad Biológica, se han utilizados las Normas de Calidad CLIA, vigentes en Estados Unidos para la acreditación de Laboratorios Clínicos. Se utilizan controles de calidad tanto internos como externos para valorar el cumplimiento de estos objetivos, participando en los programas de calidad de la Sociedad Española de Química Clínica (SEQC), la Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM) y la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia.

## **6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para la comparación de medias comenzaremos por ensayar la homogeneidad de las varianzas con el test F de Snedecor y el ajuste a la normalidad con la prueba de X<sup>2</sup>. En el caso de distribución normal utilizaremos la t de Student. Si la distribución no es normal utilizaremos pruebas no paramétricas, recurriendo al test de Wilcoxon para evaluar la diferencia estadística entre grupos.

La dependencia entre variables cuantitativas se estudiará con el coeficiente de correlación de Pearson. Para el estudio de la asociación entre variables con distribución diferente a la normal, se utilizó el coeficiente de concordancia de Kendall. Para establecer si el grado de asociación entre dos variables era independiente o estaba influido por la acción de otras variables dependientes se usaron técnicas de regresión múltiple.

Los valores anormales fueron excluidos por el método de Reed.

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar de la media, y en su caso como el intervalo de confianza del 95% (I.C. 95%). En todos los casos, la significación estadística se considera a partir de  $p < 0,05$ .





## **IV.- RESULTADOS**

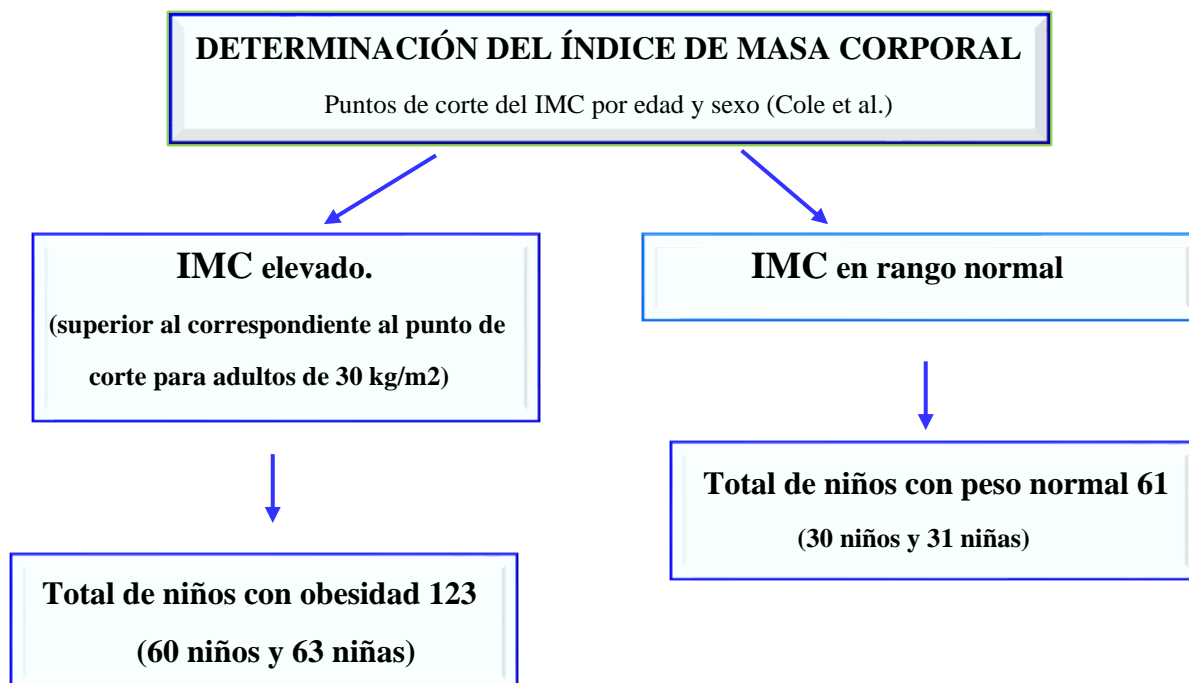


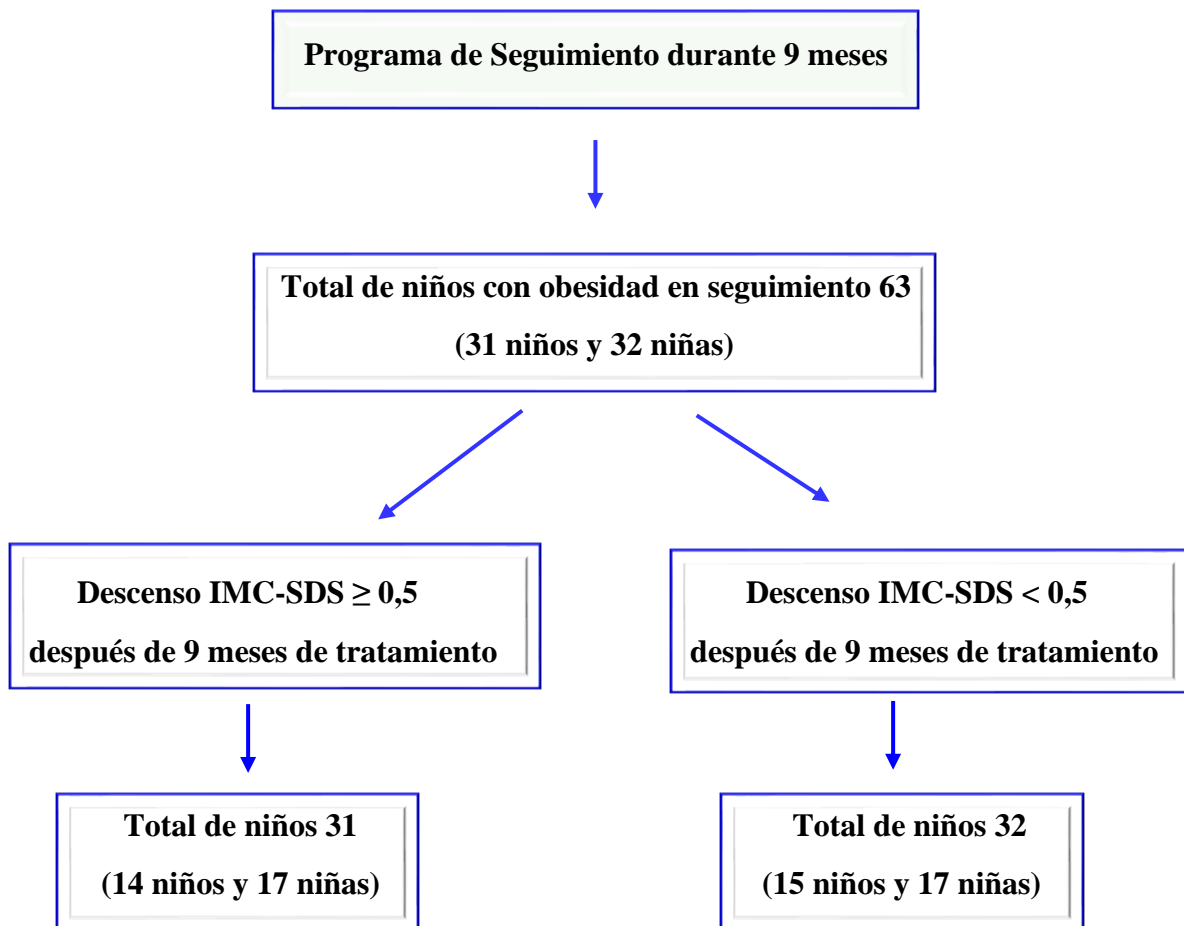
## 1.- TOTAL DE NIÑOS ESTUDIADOS

Se analizaron los resultados de un total de 184 niños de 6 a 9 años de edad. El total de niños estudiados se dividieron en dos grupos, niños con obesidad y niños con peso normal (control), en función de su IMC (Figura 1). La obesidad se definió según Cole et al. utilizando los puntos de corte del IMC específicos por edad y sexo (correspondiente al punto de corte para adultos de 30 kg/m<sup>2</sup>). Dentro del grupo de niños con obesidad, 63 niños participaron en un programa de seguimiento durante 9 meses, a su vez en este grupo se analizaron las diferencias entre los niños que disminuyeron su IMC-SDS (standard deviation score) (descenso  $\geq 0,5$ ) a los nueve meses de tratamiento y los que mantienen su peso estable (Figura 2).

**Figura 1.** Total de niños estudiados. Proceso de selección inicial.

### - Fase Inicial



**Figura 2.** Niños con obesidad participantes en el programa de seguimiento.**- Programa de Tratamiento**

## 1.1.- Comparación entre niños con obesidad y niños con peso normal

### 1.1.1.- Parámetros clínicos y antropométricos

Todos los niños incluidos en el estudio, tanto el grupo de niños con obesidad como el grupo con peso normal, se encontraban en el mismo estadio puberal. Los niños que se encontraban en pubertad no se consideraron en este estudio. Ambos grupos de niños (con obesidad y con peso normal) no presentan diferencias por motivo de edad ni sexo (Tabla 1).

**Table 1.-** Comparación entre niños con obesidad y niños con peso normal.

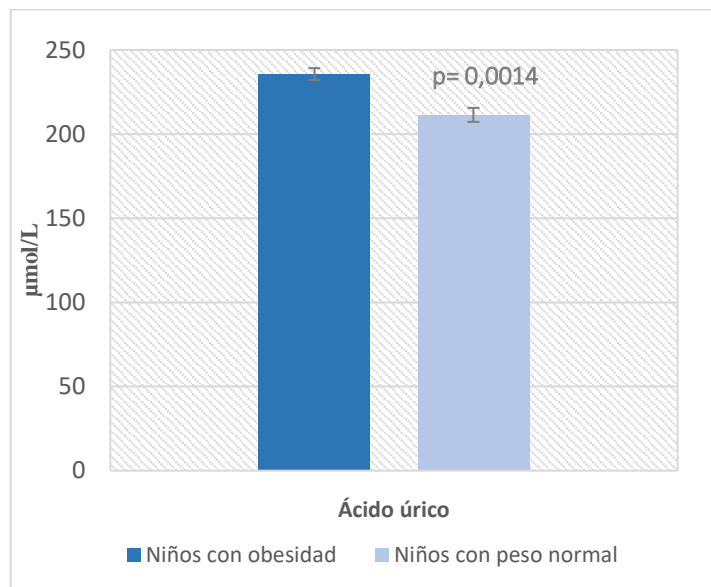
	Niños con obesidad (n = 123)	Niños con peso normal (n = 61)	p
Edad (años)	7,85 ± 0,09	7,84 ± 0,10	0,945
Niño/Niña	60/63	30/31	
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	22,96 ± 0,19	16,74 ± 0,17	< 0,0001
IMC-SDS	3,26 ± 0,17	0,05 ± 0,19	< 0,0001
Circunferencia cintura (cm)	73,54 ± 0,64	57,76 ± 1,03	< 0,0001

IMC= índice de masa corporal; IMC-SDS= IMC-standard deviation score. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar de la media.

### 1.1.2.- Valores de ácido úrico, enzimas hepáticas y bilirrubina

Los niveles medios de ácido úrico fueron significativamente más altos en los niños con obesidad (235,62 µmol/L; 95% CI [226,04-237,94]) en comparación con el grupo de control (211,39 µmol/L; 95% CI [202,47-219,72]) (Figura 3).

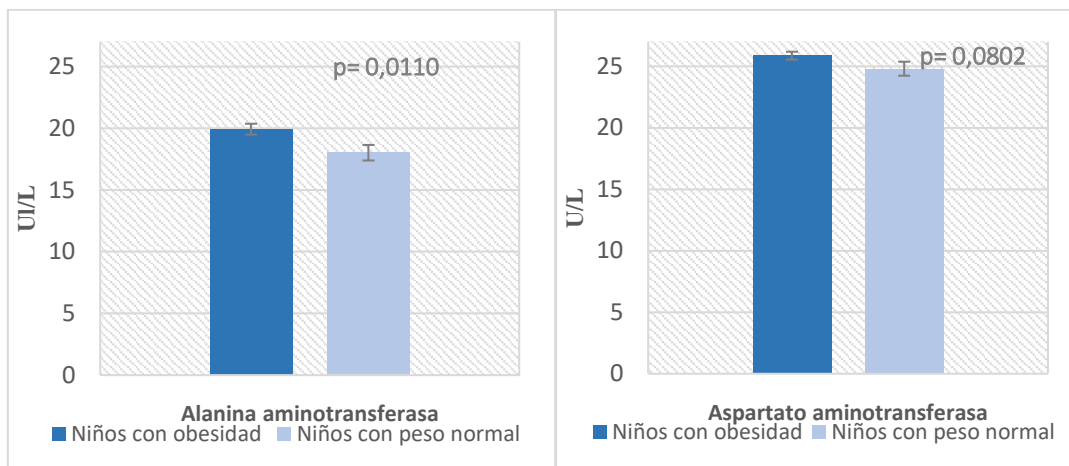
**Figura 3.-** Comparación de los valores de ácido úrico entre los niños con obesidad (n= 123) y niños con peso normal (n= 61), a nivel basal.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

Los niveles medios de alanina aminotransferasa fueron significativamente más altos en los niños con obesidad (19,93 U/L; 95% CI [18,94-20,70]) en comparación con el grupo de control (18,01 U/L; 95% CI [16,94 - 19,65]), en tanto que los valores de aspartato aminotransferasa, aunque superiores en los niños con obesidad, no mostraron diferencias significativas (Figura 4)

**Figura 4.-** Comparación de los niveles de transaminasas entre los niños con obesidad (n= 123) y niños con peso normal (n= 61), a nivel basal.



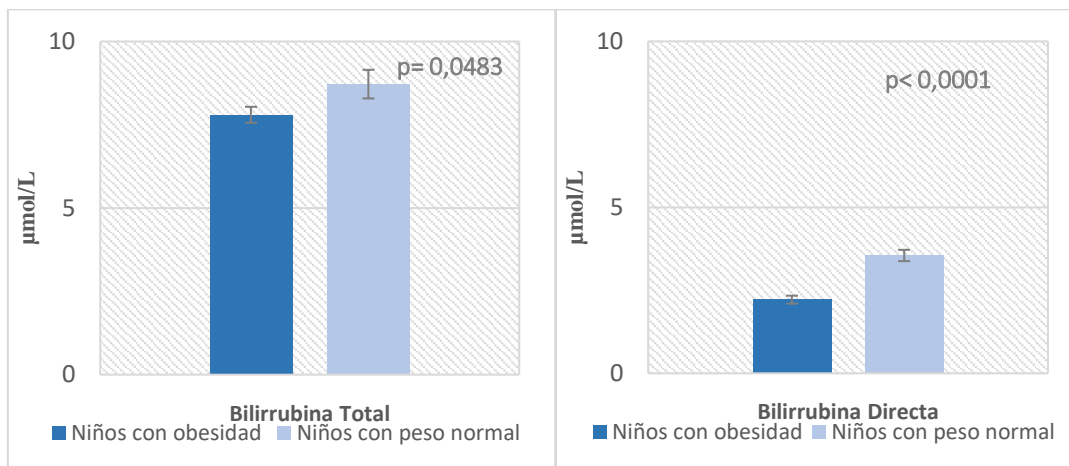
Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

Al contrario que los valores de enzimas hepáticas, los niveles medios de bilirrubina total (Figura 5) fueron significativamente inferiores en los niños con obesidad (7,80  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ; IC del 95% [7,01-7,87]) en comparación con el grupo de control (8,72  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ; IC del 95% [7,25-8,79]).

Los valores de bilirrubina directa (Figura 5) también fueron significativamente inferiores en el grupo de niños con obesidad (2,22  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ; IC del 95% [1,98-2,45]) comparados con el grupo de control (3,55  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ; IC del 95% [3,21-3,90]).

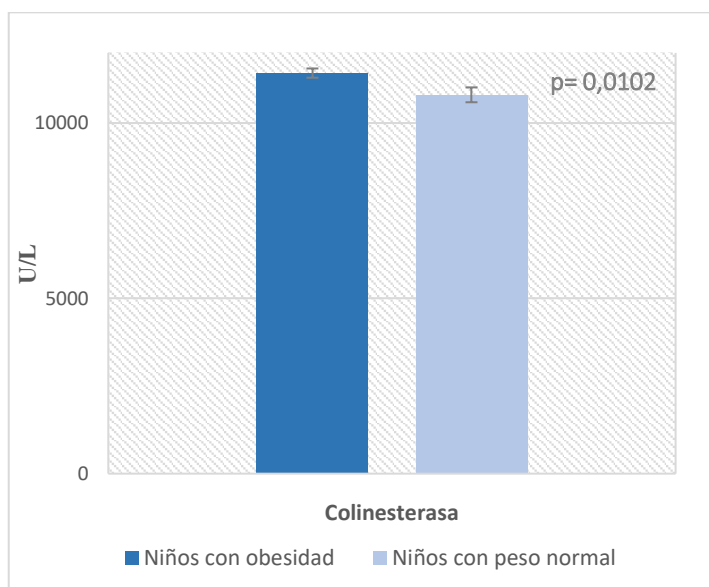
Los valores de colinesterasa (Figura 6) fueron significativamente superiores en el grupo de niños con obesidad (11424,1 U/L; IC del 95% [11187,6-11553,5]) comparados con el grupo de control (10804,4 U/L; IC del 95% [10376,1-11224,8]).

**Figura 5.-** Comparación de los niveles de bilirrubina total y directa entre los niños con obesidad (n= 123) y niños con peso normal (n= 61), a nivel basal



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

**Figura 6.-** Comparación de los niveles de colinesterasa entre los niños con obesidad (n= 123) y niños con peso normal (n= 61) a nivel basal.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.



### 1.1.3.- Síndrome metabólico, inflamación, disfunción endotelial y leptina

Comparamos los parámetros bioquímicos relacionados con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina en el grupo control y el grupo de niños con obesidad (Tabla 2).

Los valores medios de tensión arterial sistólica y diastólica (Figura 7), TG y HOMA-IR fueron significativamente más altos en los niños con obesidad, mientras que los niveles de HD-c y Apo A-I fueron significativamente más bajos (Tabla 2).

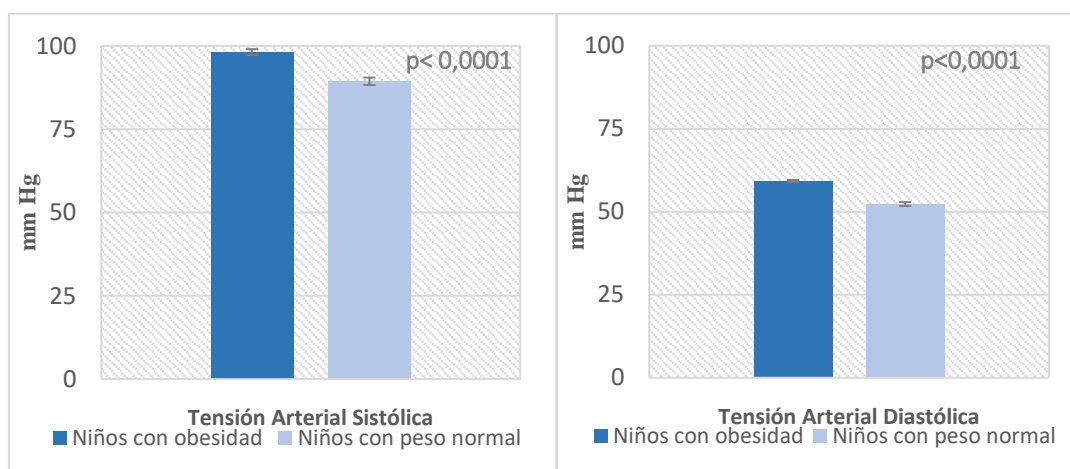
**Table 2.-** Comparación entre niños con obesidad y niños con peso normal.

	Niños con obesidad (n = 123)	Niños con peso normal (n = 61)	p
Insulina ( $\mu$ U/mL)	7,39 $\pm$ 0,29	5,56 $\pm$ 0,23	<0,0001
HOMA-IR	1,629 $\pm$ 0,07	1,189 $\pm$ 0,04	<0,0001
Colesterol Total (mmol/L)	4,52 $\pm$ 0,05	4,41 $\pm$ 0,07	0,2328
Triglicéridos (mmol/L)	0,78 $\pm$ 0,02	0,59 $\pm$ 0,01	< 0,0001
HDL-colesterol (mmol/L)	1,31 $\pm$ 0,02	1,47 $\pm$ 0,02	<0,0001
Apolipoproteína A-I (g/L)	1,546 $\pm$ 0,018	1,623 $\pm$ 0,055	0,0151
Apolipoproteína B (g/L)	0,743 $\pm$ 0,013	0,668 $\pm$ 0,012	0,0001
PCR (mg/L)	2,09 $\pm$ 0,16	0,88 $\pm$ 0,19	< 0,0001
IL-6 (pg/mL)	1,76 $\pm$ 0,14	1,43 $\pm$ 0,19	0,0722
INL	1,27 $\pm$ 0,04	1,31 $\pm$ 0,08	0,5726
IPL	110,13 $\pm$ 3,43	112,70 $\pm$ 4,76	0,5847
sICAM-1 (ng/mL)	279,84 $\pm$ 7,02	250,24 $\pm$ 5,52	0,0004
Leptin (ng/mL)	17,76 $\pm$ 0,78	4,18 $\pm$ 0,45	< 0,0001

HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; PCR= proteína C-reactiva; IL-6= interleuquina-6; sIACM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble; INL= índice neutrófilos linfocitos; IPL= índice plaquetas linfocitos. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar de la media.

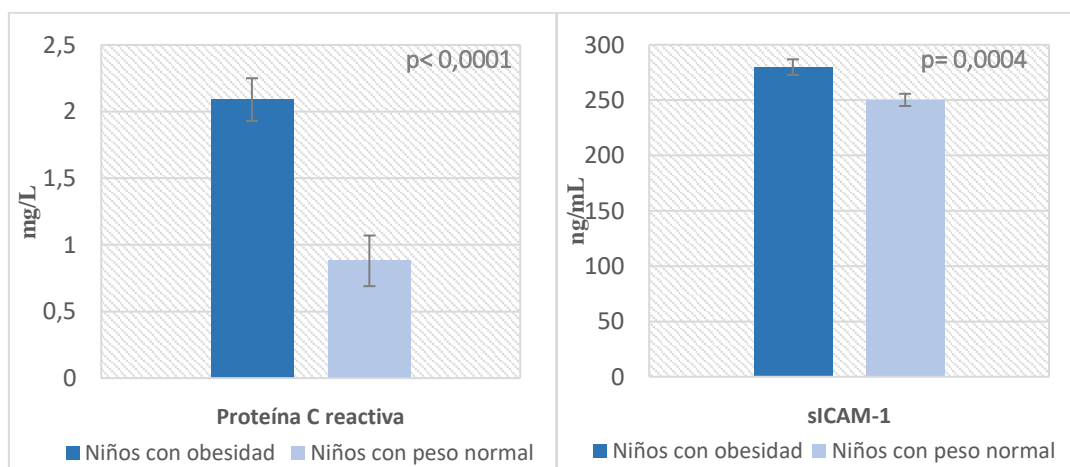
Los niveles medios de PCR, molécula de adhesión intracelular tipo 1 sICAM-1 (Figura 8) y leptina fueron significativamente mayores en el grupo de niños con obesidad. La interleuquina-6, aunque superior en el grupo de niños con obesidad, no mostró diferencias significativas (Tabla 2).

**Figura 7.-** Comparación de los niveles de tensión arterial sistólica y diastólica entre los niños con obesidad (n= 123) y niños con peso normal (n= 61) a nivel basal.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

**Figura 8.-** Comparación de los niveles de proteína C reactiva y sICAM-1 entre los niños con obesidad (n= 123) y niños con peso normal (n= 61) a nivel basal.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

## **2.- PROGRAMA DE TRATAMIENTO**

### **2.1.- Comparación entre los niños con obesidad que disminuyeron su IMC-SDS y los que mantienen su IMC-SDS estable con el tratamiento**

Del total de niños con obesidad, 63 participaron en el estudio de seguimiento. Todas las variables se midieron a nivel basal y después de nueve meses de tratamiento.

Analizamos las diferencias entre aquellos niños que habían disminuido sustancialmente su IMC-SDS ( $0.5 \text{ kg/m}^2$ ) a los nueve meses de tratamiento, frente a los niños con obesidad cuyo estado de IMC-SDS se había mantenido estable. Después de nueve meses, 31 niños con obesidad habían disminuido su IMC-SDS en una media de  $0,996 \text{ kg / m}^2$ , mientras que 32 niños con obesidad habían mantenido un IMC-SDS estable con un cambio medio de  $0.008 \text{ kg/m}^2$ .

Además, después del tratamiento durante nueve meses, cuantificamos los cambios en cada una de las variables con respecto a su valor basal y analizamos la asociación entre los cambios en enzimas hepáticas, bilirrubina y ácido úrico y los cambios en el resto de variables estudiadas (parámetros relacionados con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina).

#### **2.1.1.- Resultados a nivel basal. Parámetros clínicos, antropométricos, variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina**

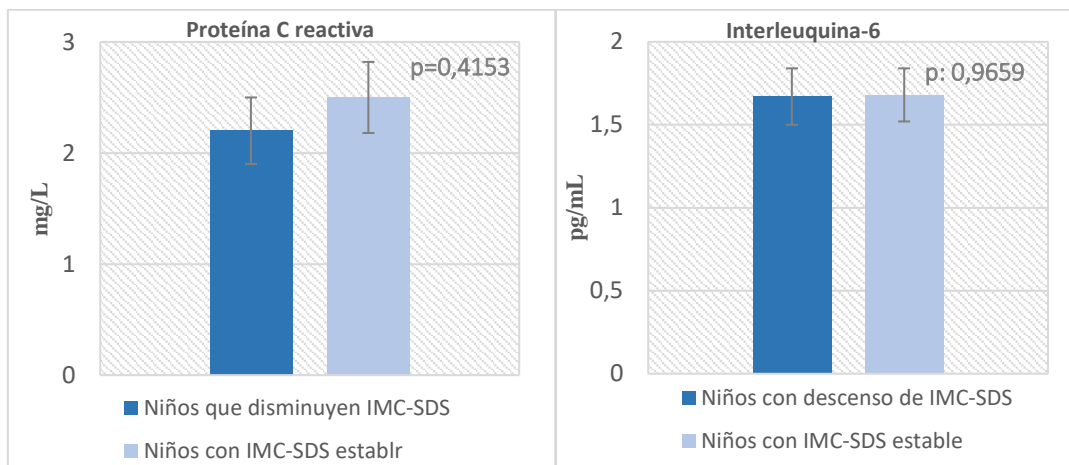
Al inicio del estudio, los dos grupos de niños con obesidad eran similares en términos de edad y sexo y no mostraban diferencias en los parámetros relacionados con el MetS, IL-6, PCR (Figura 9), sICAM-1, índice neutrófilo/linfocito, índice plaqueta/linfocito o leptina (Figura 10).

**Table 3.-** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable **al inicio del estudio**, antes de comenzar el tratamiento.

	Niños con obesidad (IMC-SDS estable) (n = 32)	Niños con obesidad (Descenso IMC-SDS) (n = 31)	p
Edad (años)	8,11 $\pm$ 0,17	8,07 $\pm$ 0,18	0,8738
Niño/Niña	15/17	14/17	
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	23,63 $\pm$ 0,36	23,38 $\pm$ 0,34	0,6167
IMC-SDS	3,33 $\pm$ 0,17	3,35 $\pm$ 0,20	0,9392
Circunferencia cintura (cm)	73,91 $\pm$ 0,77	73,16 $\pm$ 1,04	0,5630
Glucosa (mmol/L)	5,06 $\pm$ 0,07	5,05 $\pm$ 0,06	0,9213
Insulina ( $\mu$ U/ml)	6,88 $\pm$ 0,34	6,32 $\pm$ 0,38	0,2757
HOMA-IR	1,561 $\pm$ 0,09	1,406 $\pm$ 0,12	0,3039
Colesterol Total (mmol/L)	4,45 $\pm$ 0,55	4,61 $\pm$ 0,53	0,2445
Triglicéridos (mmol/L)	0,78 $\pm$ 0,18	0,77 $\pm$ 0,31	0,8756
HDL-colesterol (mmol/L)	1,28 $\pm$ 0,20	1,35 $\pm$ 0,15	0,1223
IL-6 (pg/mL)	1,68 $\pm$ 0,16	1,67 $\pm$ 0,17	0,9659
PCR (mg/L)	2,52 $\pm$ 0,32	2,16 $\pm$ 0,30	0,4153
INL	1,290 $\pm$ 0,05	1,261 $\pm$ 0,07	0,7383
IPL	106,46 $\pm$ 4,41	113,92 $\pm$ 5,26	0,2801
Leptina (ng/mL)	19,83 $\pm$ 1,14	17,76 $\pm$ 1,41	0,2563
sICAM-1 (ng/mL)	277,22 $\pm$ 10,32	282,34 $\pm$ 8,21	0,7003
TAS (mm Hg)	102,63 $\pm$ 1,52	100,81 $\pm$ 1,81	0,4439
TAD (mm Hg)	63,34 $\pm$ 0,98	62,03 $\pm$ 1,61	0,4878

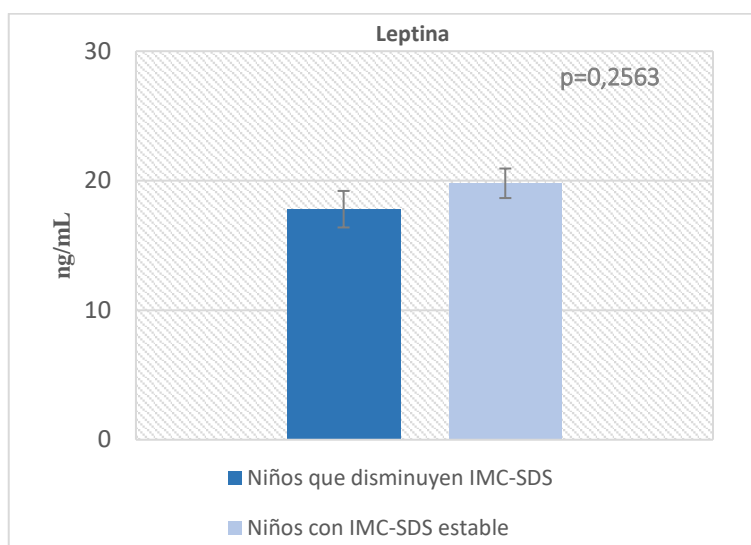
IMC= índice de masa corporal; IMC-SDS= IMC-standard deviation score; HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; IL-6= interleuquina-6; PCR= proteína C-reactiva; INL= índice neutrófilos linfocitos; IPL= índice plaquetas linfocitos; sICAM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble; TAS= tension arterial sistólica; TAD= tension arterial diastólica. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar de la media.

**Figura 9.-** Valores de proteína C reactiva e interleuquina-6 **al inicio del tratamiento.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

**Figura 10.-** Valores de leptina **al inicio del tratamiento.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.

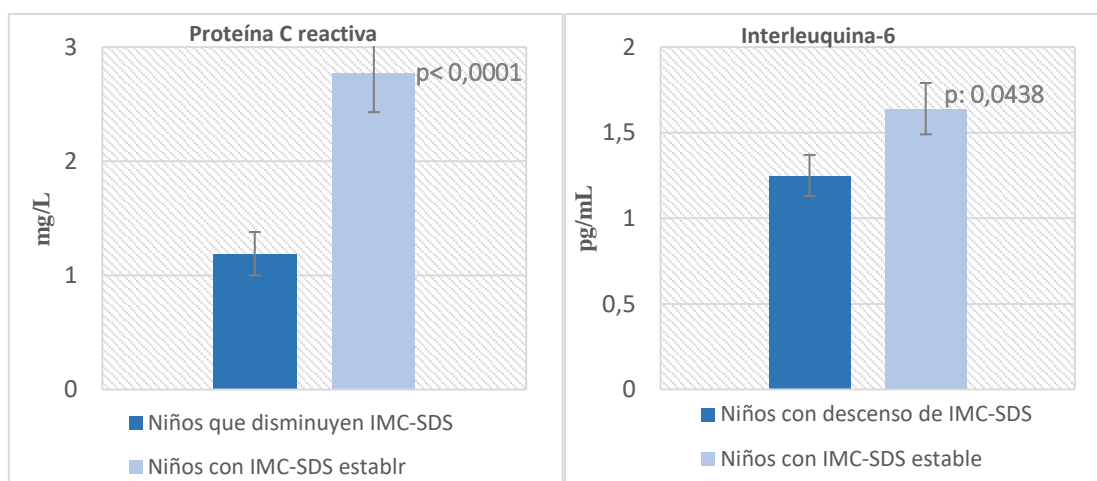


Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

### 2.1.2.- Resultados después de nueve meses de tratamiento. Parámetros clínicos, antropométricos, variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina

Después de nueve meses de tratamiento, el grupo de niños con obesidad cuyo IMC-SDS había disminuido, presenta un descenso significativo en sus valores de tensión arterial sistólica y diastólica, insulina y HOMA-IR, así como en biomarcadores de inflamación [IL-6, PCR (Figura 11), INL, IPL], disfunción endotelial, (sICAM) y leptina (Figura 12), junto con un aumento significativo de HDL-c y Apo A-I en comparación con el grupo de niños con obesidad cuyo IMC-SDS permanece estable (Tabla 4).

**Figura 11.-** Valores de proteína C-reactiva e interleucina-6 **después de nueve meses de tratamiento.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



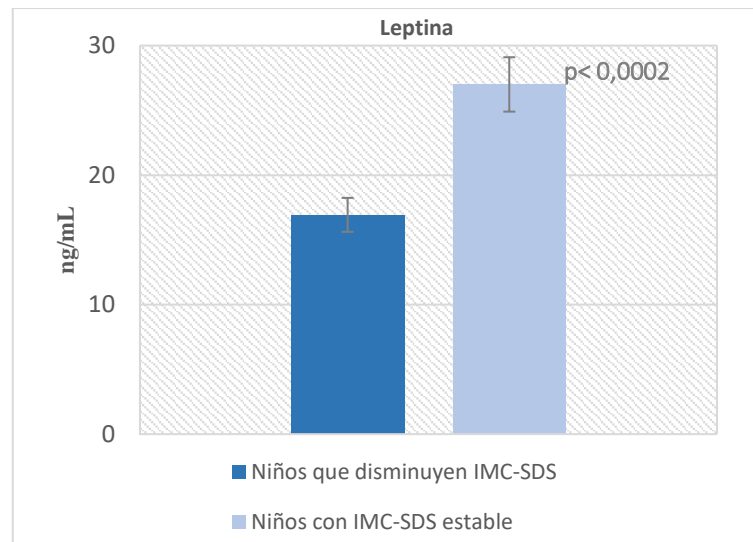
Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

**Table 4.- Valores después de nueve meses.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.

	Niños con obesidad (IMC-SDS estable) (n = 32)	Niños con obesidad (Descenso IMC-SDS) (n = 31)	p
Edad (años)	8,88 $\pm$ 0,17	8,84 $\pm$ 0,18	0,8738
Niño/Niña	15/17	14/17	
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	24,19 $\pm$ 0,40	21,98 $\pm$ 0,38	0,0002
IMC-SDS	3,29 $\pm$ 0,18	2,40 $\pm$ 0,19	0,0014
Circunferencia cintura (cm)	78,33 $\pm$ 1,29	71,46 $\pm$ 1,19	0,0002
Glucosa (mmol/L)	5,02 $\pm$ 0,06	5,07 $\pm$ 0,06	0,5680
Insulina ( $\mu$ U/ml)	7,94 $\pm$ 0,46	5,95 $\pm$ 0,32	0,0007
HOMA-IR	1,714 $\pm$ 0,10	1,347 $\pm$ 0,08	0,0061
Colesterol Total (mmol/L)	4,39 $\pm$ 0,59	4,55 $\pm$ 0,64	0,3061
Triglicéridos (mmol/L)	0,87 $\pm$ 0,27	0,80 $\pm$ 0,18	0,2322
HDL-colesterol (mmol/L)	1,29 $\pm$ 0,14	1,43 $\pm$ 0,20	0,0020
INL	1,299 $\pm$ 0,09	1,069 $\pm$ 0,04	0,0286
IPL	110,47 $\pm$ 4,79	97,69 $\pm$ 4,69	0,0524
sICAM-1 (ng/mL)	281,38 $\pm$ 8,0	259,97 $\pm$ 6,77	0,0460
TAS (mm Hg)	101,78 $\pm$ 1,21	97,48 $\pm$ 1,41	0,0242
TAD (mm Hg)	62,09 $\pm$ 0,71	57,09 $\pm$ 1,06	0,0002

IMC= índice de masa corporal; IMC-SDS= IMC-standard deviation score; HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; INL= índice neutrófilos linfocitos; IPL= índice plaquetas linfocitos; sICAM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble; TAS= tensión arterial sistólica; TAD= tensión arterial diastólica. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  S.E.M.

**Figura 12.-** Valores de leptina **después de nueve meses de tratamiento.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.



## 2.2.- Función hepática. Valores de enzimas hepáticas, colinesterasa y bilirrubina.

### 2.2.1.- Resultados basales, previo al tratamiento.

Los resultados de enzimas hepáticas, a nivel basal, han sido publicados como artículo de esta Tesis Doctoral (**Anexo 1**):

*Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity. Valle-Martos R, Valle M, Martos R, Cañete R, Jiménez-Reina L, Cañete MD. Front Pediatr. 2021 Feb 16;9:629346. doi: 10.3389/fped.2021.629346.*

Los niveles medios de ALT fueron similares en los dos grupos de niños con obesidad [niños cuyo IMC-SDS había disminuido a los nueve meses de tratamiento 19,43 U/L (95% CI 17,34-21,52; n= 31) comparado con los niños que mantienen un IMC-SDS estable 20,01 U/L (95% CI 17, 84-21,57; n= 32)], no mostrando diferencias significativas entre ellos (p= 0,6079).

El análisis de correlación univariable para los parámetros relacionados con el MetS para el grupo de niños con obesidad se resume en la Tabla 5 y la Figura 13. En la correlación lineal simple, los niveles de ALT y colinesterasa se correlacionaron con las mediciones antropométricas, RI y parámetros de lípidos relacionados con el MetS, mientras que el índice ALT/AST se correlacionó sólo con las medidas antropométricas.

En el grupo de niños con obesidad, el análisis de regresión multivariante corregido por edad y sexo mostró que el IMC (P parcial = 0,0074), la circunferencia de la cintura (P parcial = 0,0057), la insulina sérica (P parcial = 0,0014), el HOMA-IR (P parcial = 0,0014) parcial = 0,0009), TG (P parcial = 0,0287), HDL-c (P parcial = 0,0369) y Apo A-I (P parcial = 0,032) fueron factores predictivos independientes para ALT.

Para la colinesterasa sérica, corregido por edad y sexo el IMC (P parcial = 0,0005), la circunferencia de la cintura (P parcial = 0,0251), TG (P parcial = 0,0045) y Apo A-I (P parcial = 0,0327) fueron factores predictivos independientes, pero no la insulina (P parcial = 0.1071), HOMA-IR (P parcial = 0,1138) o HDL-c (P parcial = 0,0599).

El análisis de correlación univariable para enzimas hepáticas, adipocinas, biomarcadores de inflamación y endoteliales para niños con obesidad se resume en la Tabla 5 y la Figura 14.

**Tabla 5.-**



ORIGINAL RESEARCH  
published: 16 February 2021  
doi: 10.3389/fped.2021.629346

Valle-Martos et al.

Liver Enzymes in Prepubertal Children

**TABLE 3 |** Single correlation coefficients (*r*) between different variables in the children with obesity group.

	ALT		AST		ALT/AST		BChE	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
BMI	0.3705	0.0063	-0.1319	0.3466	0.4286	0.0013	0.4733	0.0003
BMI z-score	0.3112	0.0247	-0.0616	0.6578	0.2752	0.044	0.3409	0.0124
Waist circumference	0.4057	0.0035	-0.2489	0.0773	0.4057	0.0035	0.3019	0.0257
Glucose	0.3007	0.0286	-0.0597	0.668	0.3128	0.0224	0.0765	0.5822
Insulin	0.4452	0.0007	-0.1293	0.3512	0.4583	0.0005	0.2816	0.0414
HOMA-IR	0.4581	0.0005	-0.1220	0.3795	0.4696	0.0003	0.2739	0.0471
SBP	-0.2270	0.1098	-0.1848	0.1937	-0.0864	0.5463	0.0837	0.5592
DBP	-0.1469	0.3098	-0.1814	0.2012	-0.1090	0.4461	0.1051	0.4629
Total cholesterol	0.07	0.6148	-0.0639	0.6458	0.1116	0.4219	0.0659	0.6391
Triglycerides	0.3327	0.0156	0.0304	0.8318	0.2404	0.0887	0.4199	0.0017
HDL cholesterol	-0.2996	0.0287	-0.0474	0.7394	-0.1990	0.1574	-0.3024	0.0279
Apo A1	-0.3125	0.0237	-0.0057	0.9694	-0.2416	0.0882	-0.2993	0.0289
Apo B	0.1792	0.1947	0.0222	0.8733	0.1708	0.2168	0.0276	0.8429
IL-6	0.3631	0.007	0.0159	0.669	0.2853	0.0365	0.3075	0.0251
CRP	0.4159	0.0018	0.1965	0.1544	0.2795	0.0407	0.3117	0.0243
sICAM-1	0.323	0.0167	0.1332	0.3468	0.3262	0.0181	0.5333	<0.0001
Leptin	0.3633	0.0069	-0.3562	0.0082	0.5336	<0.0001	0.2522	0.0701
Adiponectin	0.0779	0.6058	-0.1961	0.1876	0.1916	0.1587	-0.4327	0.0006

BMI, body mass index; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; Apo A1, Apolipoprotein A1; Apo B, Apolipoprotein B; IL-6, interleukin-6; CRP, C-reactive protein; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1.

*Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity.* Valle-Martos R, Valle M, Martos R, Cañete R, Jiménez-Reina L, Cañete MD. *Front Pediatr.* 2021 Feb 16;9:629346. doi: 10.3389/fped.2021.629346.

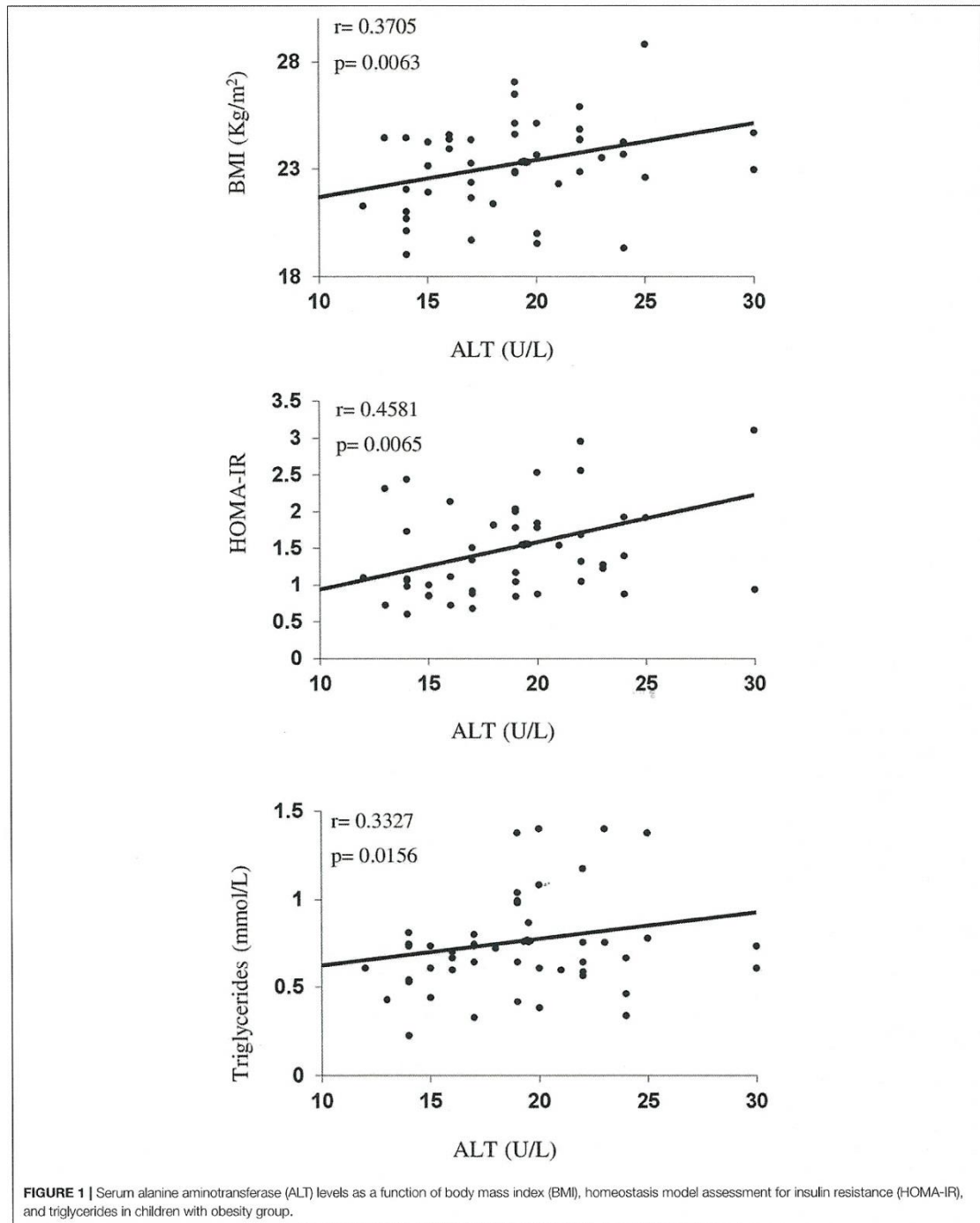
Los niveles de ALT y el índice ALT/AST se correlacionaron positivamente con IL-6, PCR, sICAM-1 y leptina, pero no con los valores de adiponectina. Los niveles séricos de colinesterasa se correlacionaron positivamente con biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial y negativamente con la concentración de adiponectina. Se realizó un análisis de regresión multivariante para el grupo de niños con obesidad. Cuando se ajustó por edad y sexo, los niveles de IL-6 (*p* parcial = 0,0090), PCR (*p* parcial = 0,0032), sICAM-1 (*p* parcial = 0,0224) y leptina (*p* parcial = 0,0223) fueron factores predictivos independientes de ALT. Para colinesterasa sérica, corregidos por edad y sexo los niveles de IL-6 (*p* parcial = 0,0481), PCR (*p* parcial = 0,0497), sICAM-1

( $p$  parcial  $< 0,0001$ ) y Apo A-I ( $p$  parcial =  $0,0223$ ) fueron factores de predicción independientes.

**Figura 13.-**

Valle-Martos et al.

Liver Enzymes in Prepubertal Children

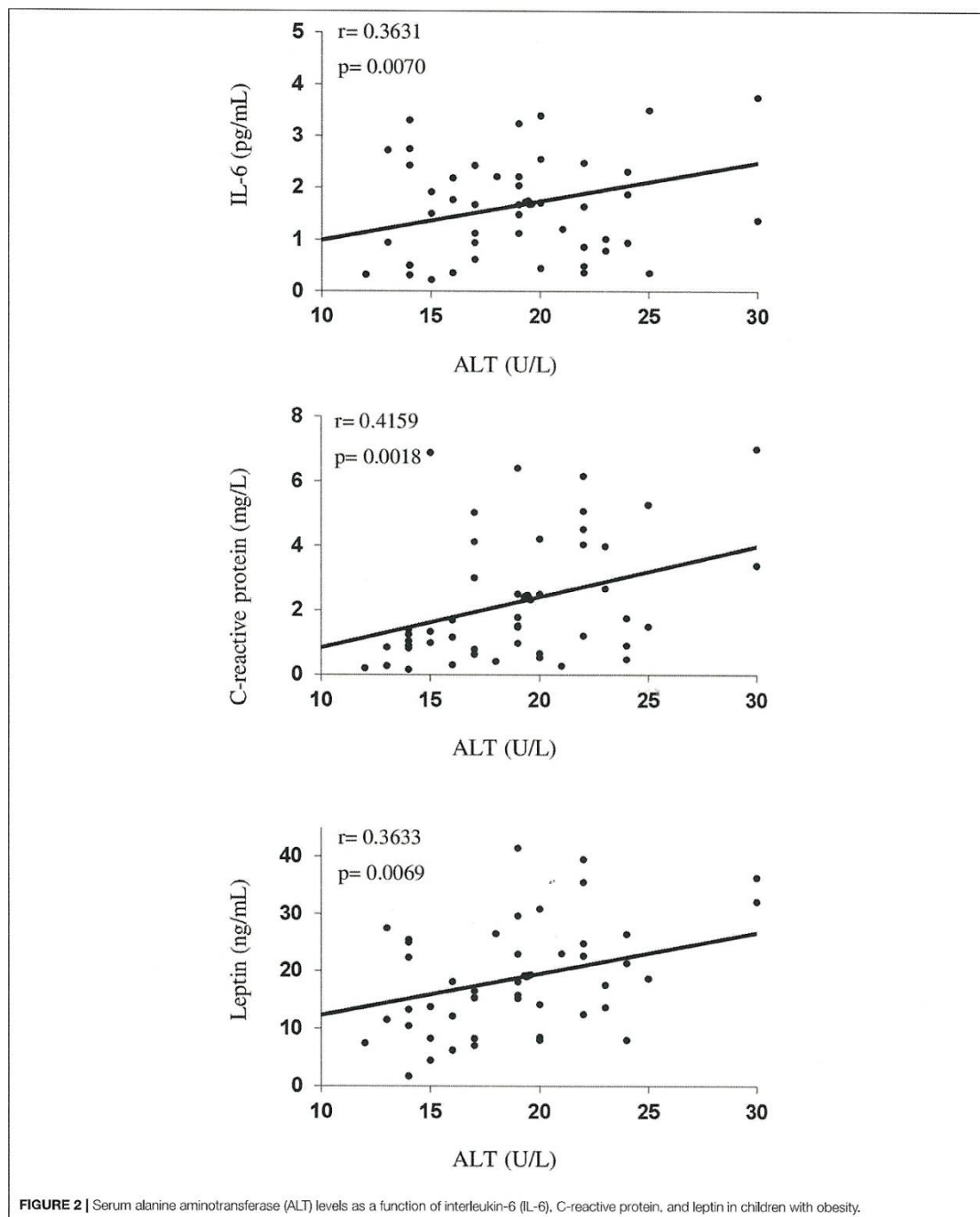


*Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity.* Valle-Martos R, Valle M, Martos R, Cañete R, Jiménez-Reina L, Cañete MD. *Front Pediatr.* 2021 Feb 16;9:629346. doi: 10.3389/fped.2021.629346.

## Figura 14.-

Valle-Martos et al.

Liver Enzymes in Prepubertal Children



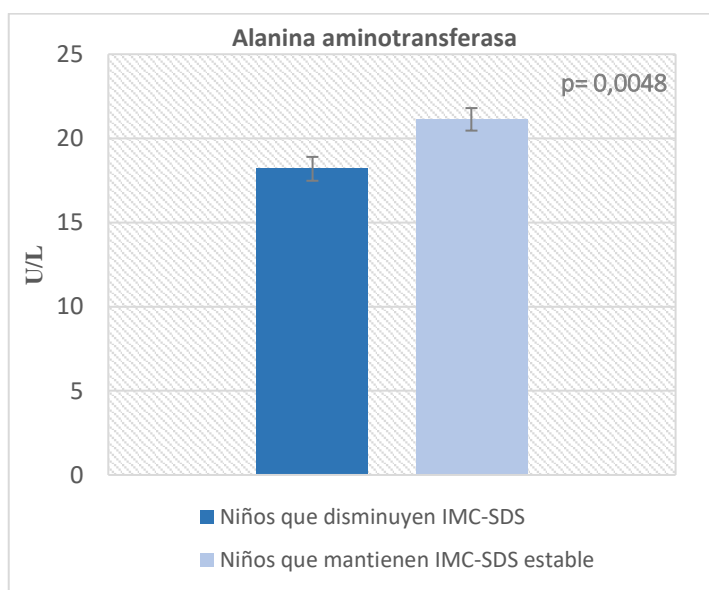
*Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity.* Valle-Martos R, Valle M, Martos R, Cañete R, Jiménez-Reina L, Cañete MD. *Front Pediatr.* 2021 Feb 16;9:629346. doi: 10.3389/fped.2021.629346.

## 2.2.2.- Resultados después de nueve meses de tratamiento

### 2.2.2.1.- Valores de enzimas hepáticas, colinesterasa y bilirrubina en el grupo de niños que disminuyeron su IMC-SDS, comparado con los niños que mantienen su IMC-SDS estable tras el tratamiento

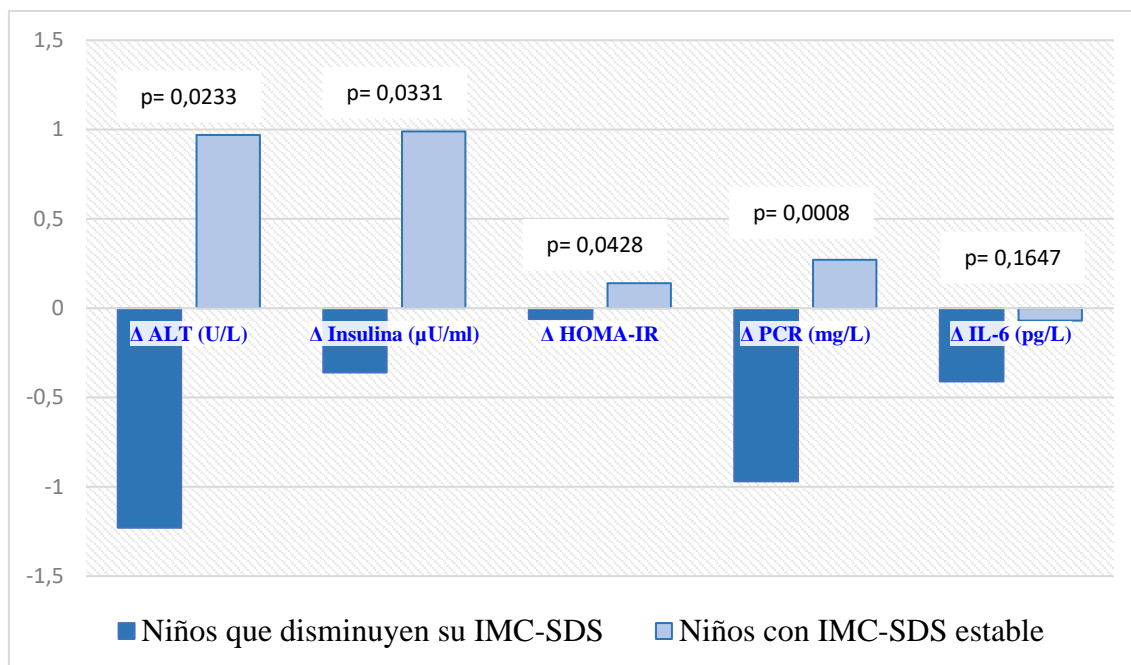
Después del tratamiento durante 9 meses, los niveles medios de ALT fueron significativamente más bajos en los niños cuyo IMC-SDS había disminuido, a 18,19 U/L (IC del 95 % [16,89, 19,49]) en comparación con 21,13 U/L (IC del 95 % [19,54, 22.71]) en los niños con IMC-SDS estable (Figura 15), en tanto que, los valores medios de AST y colinesterasa no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos (Tabla 6). La figura 16 recoge la comparación entre los cambios en los valores de ALT y variables relacionadas después de nueve meses de tratamiento.

**Figura 15.-** Valores de alanina aminotransferasa **después de nueve meses de tratamiento.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

**Figura 16.-** Cambios relativos ( $\Delta$ ) en los valores de ALT, marcadores de resistencia a la insulina e inflamación. Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Los cambios ( $\Delta$ ) se expresan como el valor después de 9 meses de tratamiento menos el valor basal. Un valor positivo indica incremento, y un valor negativo indica descenso.

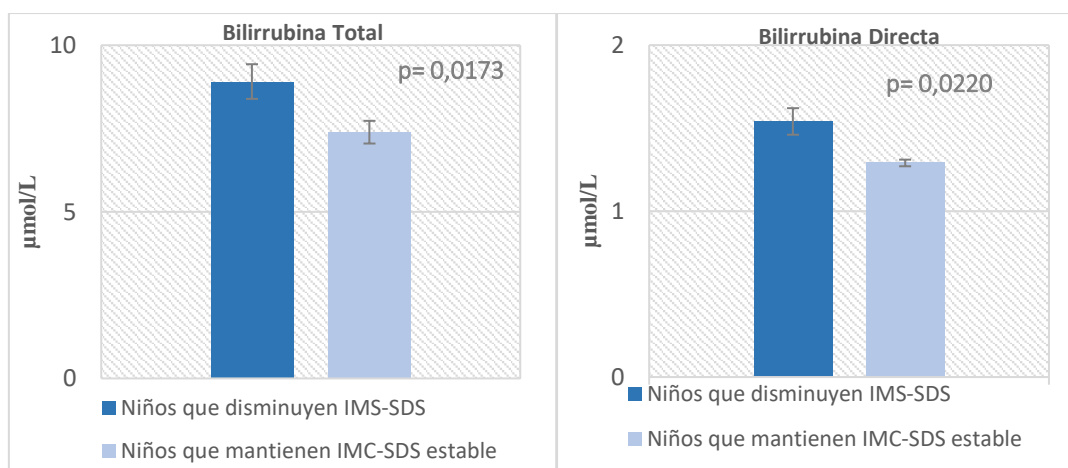
**Table 6.-** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable después de nueve meses de tratamiento.

	Niños con obesidad (IMC-SDS estable) (n= 32)	Niños con obesidad (Descenso IMC-SDS) (n= 31)	
ALT (U/L)	21,13 $\pm$ 0,78	18,19 $\pm$ 0,63	0,0048
AST (U/L)	23,94 $\pm$ 0,71	24,32 $\pm$ 0,67	0,6986
ALT/AST	0,89 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,03	0,0071
Colinesterasa (U/L)	11027,3 $\pm$ 209,1	10555,9 $\pm$ 226,9	0,1314

ALT= alanina aminotransferasa; AST= aspartato aminotransferasa. Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

Después de nueve meses de tratamiento, los valores medios de bilirrubina total  $8,89 \mu\text{mol/L}$  95% CI (7,82 – 9,98) fueron significativamente superiores en los niños con obesidad que disminuyeron su IMC-SDS, comparados con los que mantienen su IMC-SDS estable  $7,40 \mu\text{mol/L}$  95% CI (6,67 – 7,69), al igual que la bilirrubina directa  $1,54 \mu\text{mol/L}$  95% CI (1,37 – 1,71) vs  $1,29 \mu\text{mol/L}$  95% CI (1,16 – 1,42) (Figura 17).

**Figura 17.-** Valores de bilirrubina total y directa **después de nueve meses de tratamiento**. Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

La Tabla 7 muestra el análisis de varianza para todos los niños con obesidad ( $n = 63$ ) después del tratamiento durante 9 meses, estratificados por terciles de ALT. Los niños del tercer tercil tenían valores de IMC-SDS ( $p = 0,017$ ), circunferencia cintura ( $p = 0,028$ ) e insulina ( $p = 0,023$ ), HOMA-IR ( $p = 0,011$ ) y leptina ( $p = 0,009$ ) significativamente más altos. Los valores de los marcadores de inflamación (PCR e IL-6) también fueron mayores en el tercer tercil, aunque estas diferencias no fueron significativas. Los parámetros de presión arterial y lípidos no fueron significativamente diferentes entre los terciles.

**Tabla 7.-** Análisis de varianza en el grupo completo de niños con obesidad (n=63), después de nueve meses de tratamiento, estratificado por ALT dividido en terciles.

	1 <sup>er</sup> Tercil ALT	2 <sup>o</sup> Tercil ALT	3 <sup>er</sup> Tercil ALT	F	p
ALT (U/L)	15,54 ± 0,36	19,34 ± 0,18	24,28 ± 0,72	209,83	<0,0001
Edad (años)	8,69 ± 0,24	9,10 ± 0,19	8,97 ± 0,19		n/s
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	21,17 ± 1,19	22,88 ± 0,39	24,68 ± 0,47	4,91	0,025
IMC-SDS	2,46 ± 0,31	2,71 ± 0,17	3,50 ± 0,202	4,90	0,017
CC (cm)	71,95 ± 1,48	74,51 ± 1,37	78,40 ± 1,94	3,91	0,028
Glucosa (mmol/L)	5,05 ± 0,08	4,98 ± 0,09	5,11 ± 0,06	0,72	0,495
Insulina (pmol/L)	43,06 ± 3,43	47,41 ± 3,65	59,44 ± 3,72	4,17	0,023
HOMA-IR	1,275 ± 0,11	1,491 ± 0,11	1,791 ± 0,12	5,07	0,011
Leptina (ng/mL)	16,61 ± 1,74	21,37 ± 2,17	26,35 ± 2,27	5,29	0,009
AST (μkat/L)	0,385 ± 0,015	0,397 ± 0,008	0,421 ± 0,016	1,99	0,150
ChE (μkat/L)	158,58 ± 5,24	167,11 ± 2,43	171,57 ± 4,99	2,47	0,098
TAS (mm Hg)	98,71 ± 1,59	100,86 ± 1,12	100,38 ± 1,67	0,50	0,605
TAD (mm Hg)	60,43 ± 1,46	58,67 ± 0,90	59,81 ± 1,26	0,55	0,581
CT (mmol/L)	4,46 ± 0,12	4,44 ± 0,11	4,50 ± 0,17	0,06	0,943
TG (mmol/L)	0,78 ± 0,04	0,81 ± 0,04	0,92 ± 0,06	2,01	0,147
HDL-c (mmol/L)	1,37 ± 0,05	1,35 ± 0,03	1,36 ± 0,05	0,047	0,934
PCR (nmol/L)	18,96 ± 4,48	16,48 ± 2,47	25,10 ± 3,31	1,58	0,219
IL-6 (pg/mL)	1,36 ± 0,18	1,47 ± 0,08	1,52 ± 0,21	0,21	0,784
INL	1,26 ± 0,14	1,05 ± 0,05	1,19 ± 0,07	1,37	0,266
IPL	97,27 ± 5,97	109,59 ± 6,39	103,27 ± 5,69	1,10	0,338
sICAM-1 (ng/mL)	278,51 ± 11,61	266,64 ± 8,33	267,40 ± 7,81	0,53	0,594

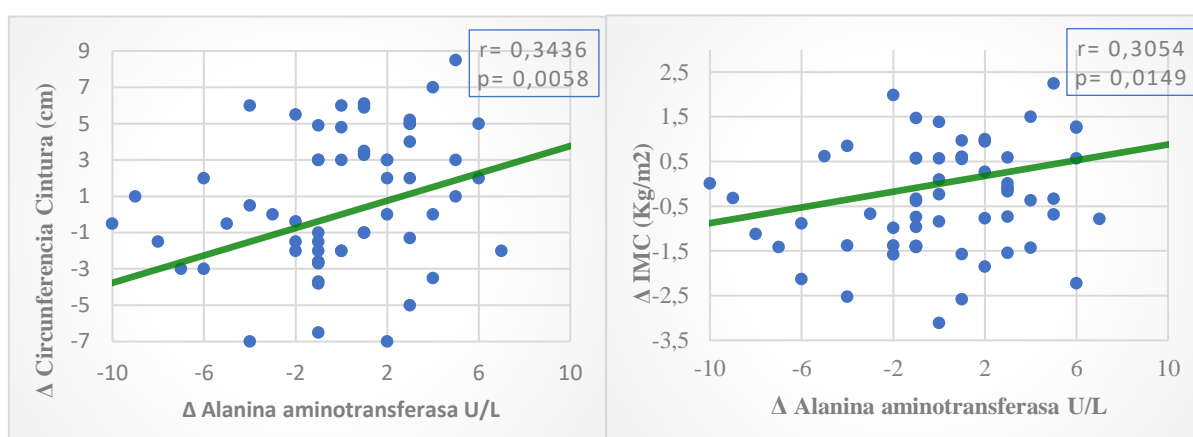
ALT= alanina aminotransferasa; IMC= índice de masa corporal; IMC-SDS= IMC-standard deviation score; CC= circunferencia cintura; HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; AST= aspartato aminotransferasa; ChE= Colinesterasa; TAS= tension arterial sistólica; TAD= tension arterial diastólica; CT= colesterol total; TG= Triglicéridos; HDL-c= colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; PCR= proteína C-reactiva; IL-6= Interleuquina-6; INL= índice neutrófilos linfocitos; IPL= índice plaquetas linfocitos; sICAM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble. Los resultados se expresan como la media ± S.E.M.



### 2.2.2.2.- Asociación entre los cambios en los niveles de enzimas hepáticas y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina

Después de nueve meses de tratamiento, analizamos los cambios en el grupo global de niños con obesidad (con y sin cambios significativos en su IMC-SDS;  $n=63$ ) con respecto a los valores basales. La correlación lineal simple mostró asociaciones positivas entre los cambios en el nivel de ALT (Tabla 8) y los cambios en el IMC, SDS-BMI, circunferencia cintura (Figura 18), leptina (Figura 19), insulina, HOMA-IR y biomarcadores de inflamación (Figura 20). Los cambios en los niveles séricos de colinesterasa se correlacionaron positivamente con las mediciones antropométricas, IR y biomarcadores de inflamación (Tabla 8).

**Figura 18.-** Correlación lineal simple ( $r$ ) entre cambios en alanina aminotransferasa y cambios en los valores de IMC y la circunferencia de la cintura en el grupo total de niños con obesidad ( $n=63$ ) después de nueve meses de tratamiento.



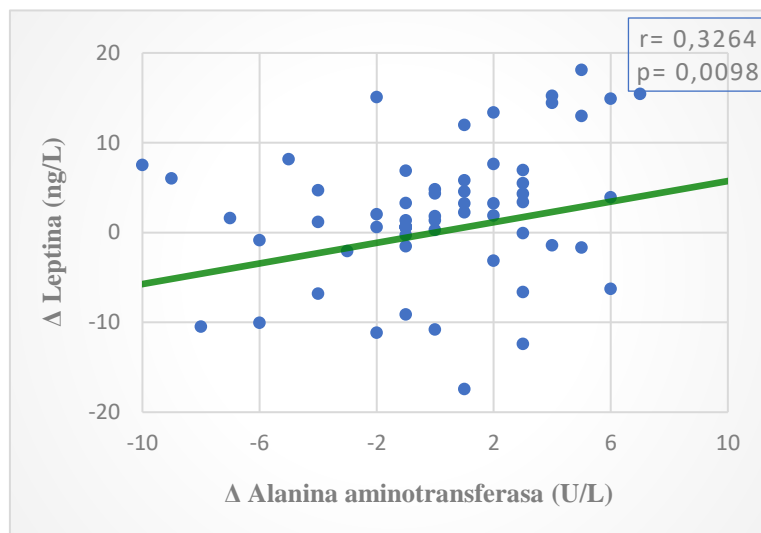
Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

**Tabla 8.-** Coeficientes de correlación simple ( $r$ ) entre los cambios en los niveles de enzimas hepáticas y diferentes variables en el grupo de niños con obesidad ( $n= 63$ ) después de 9 meses de tratamiento.

	$\Delta$ ALT		$\Delta$ AST		$\Delta$ ChE		$\Delta$ ALT/AST	
	$r$	$p$	$r$	$p$	$r$	$p$	$r$	$p$
$\Delta$ IMC	0.3054	0.0149	0.2577	0.0435	0.5404	<0.0001	0.2705	0.0331
$\Delta$ IMC-SDS	0.2691	0.0339	0.1669	0.1910	0.5150	<0.0001	0.2564	0.0456
$\Delta$ CC	0.3436	0.0058	0.2869	0.0226	0.4607	0.0001	0.2638	0.0372
$\Delta$ Glucosa	0.0270	0.8336	-0.1148	0.3703	-0.1881	0.1398	0.0618	0.6306
$\Delta$ Insulina	0.2602	0.0381	0.1243	0.3316	0.3036	0.0156	0.0779	0.5734
$\Delta$ HOMA-IR	0.2710	0.0329	0.1455	0.2550	0.2762	0.0318	0.0292	0.8200
$\Delta$ TAS	-0.2256	0.0731	-0.2278	0.0742	0.1192	0.3522	-0.1052	0.4117
$\Delta$ TAD	-0.2326	0.0628	-0.1702	0.1822	0.05439	0.6720	-0.2414	0.0572
$\Delta$ Colesterol Total	-0.0119	0.9261	0.1125	0.3801	0.1682	0.1876	-0.0783	0.5421
$\Delta$ Triglicéridos	0.0623	0.6274	-0.0719	0.5755	0.4584	0.0002	0.0813	0.5266
$\Delta$ HDL-colesterol	-0.0290	0.8212	-0.0167	0.8966	-0.0116	0.9282	0.0255	0.8428
$\Delta$ PCR	0.3424	0.0061	0.2815	0.0264	0.3181	0.0115	0.2677	0.0354
$\Delta$ IL-6	0.2697	0.0337	0.2839	0.0242	0.0249	0.8462	0.1718	0.1818
$\Delta$ INL	0.2574	0.0438	0.2348	0.0650	0.2702	0.0334	0.1540	0.2318
$\Delta$ IPL	0.3151	0.0134	0.2684	0.0351	0.2672	0.0364	0.2679	0.0353
$\Delta$ sICAM-1	0.0244	0.8497	0.1150	0.3693	0.0931	0.4678	-0.0135	0.9166
$\Delta$ Leptina	0.3264	0.0096	0.3039	0.0167	0.5291	< 0.0001	0.3677	0.0031

Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales. ALT= alanina aminotransferasa; AST= aspartato aminotransferasa; ChE= colinesterasa; IMC= índice de masa corporal; IMC-SDS= IMC-standard deviation score; CC= circunferencia cintura; HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; TAS= tensión arterial sistólica; TAD= tensión arterial diastólica; PCR= proteína C-reactiva; IL-6= Interleuquina-6; INL= índice neutrófilos linfocitos; IPL= índice plaquetas linfocitos; sICAM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble.

**Figura 19.** Correlación lineal simple ( $r$ ) entre cambios en alanina aminotransferasa y cambios en los niveles de leptina en el grupo total de niños con obesidad ( $n = 63$ ) después de nueve meses de tratamiento.

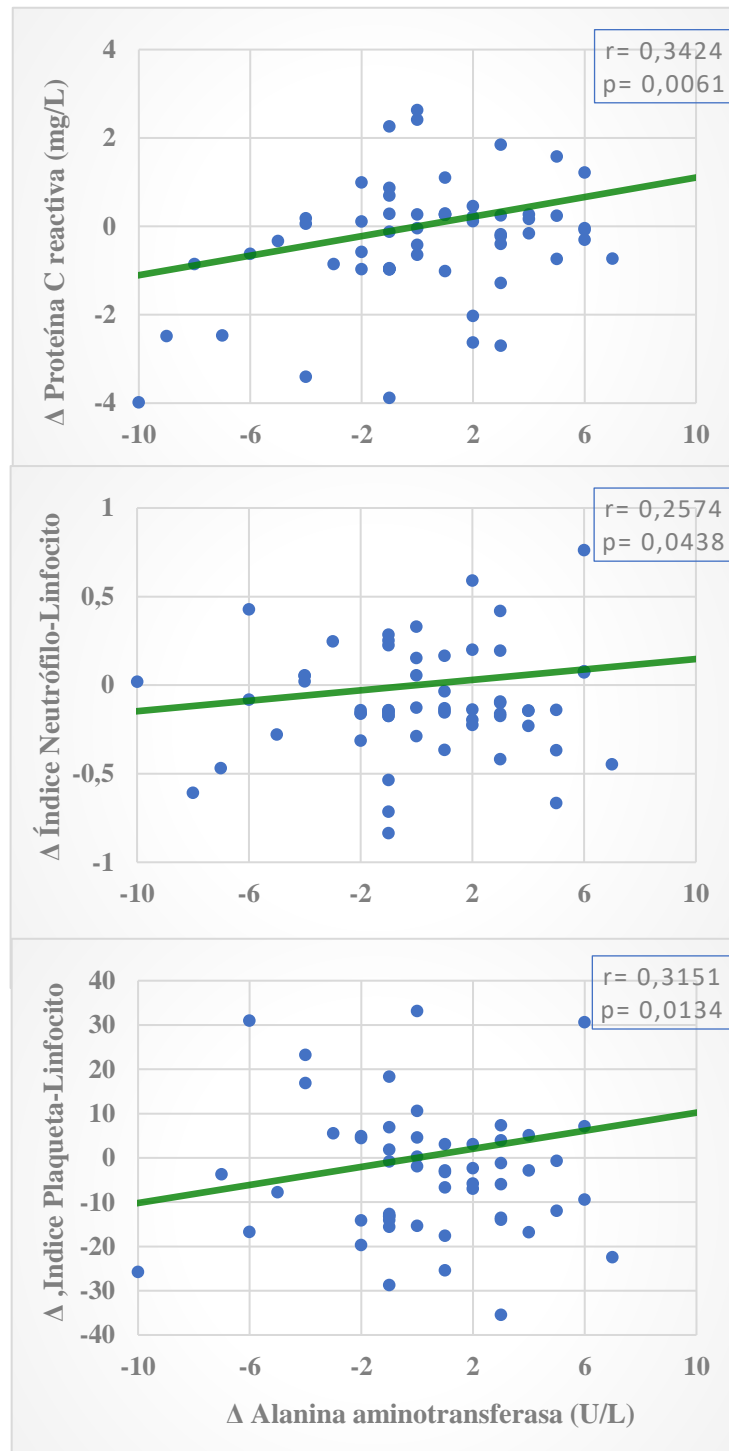


Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

Usando el análisis de regresión múltiple corregido por edad y sexo para los niños con obesidad, los cambios en el IMC-SDS ( $P$  parcial = 0,0294), circunferencia de la cintura ( $P$  parcial = 0,0076), leptina ( $P$  parcial = 0,0211), HOMA-IR ( $P$  parcial = 0,0283) y los biomarcadores de inflamación [IL-6 ( $P$  parcial = 0,0090), PCR ( $P$  parcial = 0,0065) y IPL ( $P$  parcial = 0,0067)] fueron factores de predicción independientes para los cambios en los niveles de ALT.

Para la colinesterasa sérica, corregido por edad y sexo, los niveles de PCR ( $P$  parcial = 0,0460), INL ( $P$  parcial 0,0425), IPL ( $P$  parcial = 0,0395), medidas antropométricas (IMC-SDS  $P$  parcial < 0,0001 y circunferencia cintura  $P$  parcial = 0,0076) y la leptina ( $P$  parcial < 0,0001) fueron factores predictivos independientes para la ALT.

**Figura 20.** Correlación lineal simple entre cambios en los niveles de alanina aminotransferasa y cambios biomarcadores de inflamación en el grupo total de niños con obesidad ( $n = 63$ ) después de nueve meses de tratamiento.



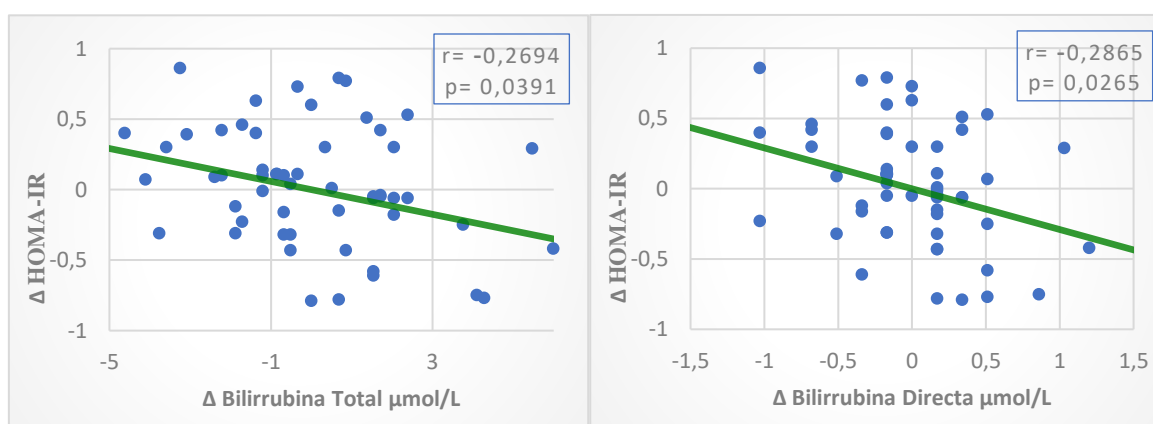
Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

### 2.2.2.3.- Asociación entre los cambios en los niveles de bilirrubina y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina, tras el tratamiento

En el grupo de niños con obesidad que participaron en el seguimiento (n= 63) analizamos los cambios que se producen con el tratamiento en los valores de bilirrubina total y directa y se correlacionaron con el resto de variables.

El análisis de correlación lineal simple, para este grupo, mostró correlaciones negativas entre los cambios en el nivel de bilirrubina total y las modificaciones en los parámetros antropométricos (IMC, SDS-IMC, circunferencia de la cintura), triglicéridos y tensión arterial sistólica y diastólica (Tabla 9), al contrario que lo descrito con los cambios en los valores enzimas hepáticas, que se asociaron positivamente con los cambios en estas variables.

**Figura 21.-** Correlación lineal simple (r) entre cambios en los valores de bilirrubina total y directa y cambios en los niveles de HOMA-IR en el grupo total de niños con obesidad (n = 63) después de nueve meses de tratamiento.

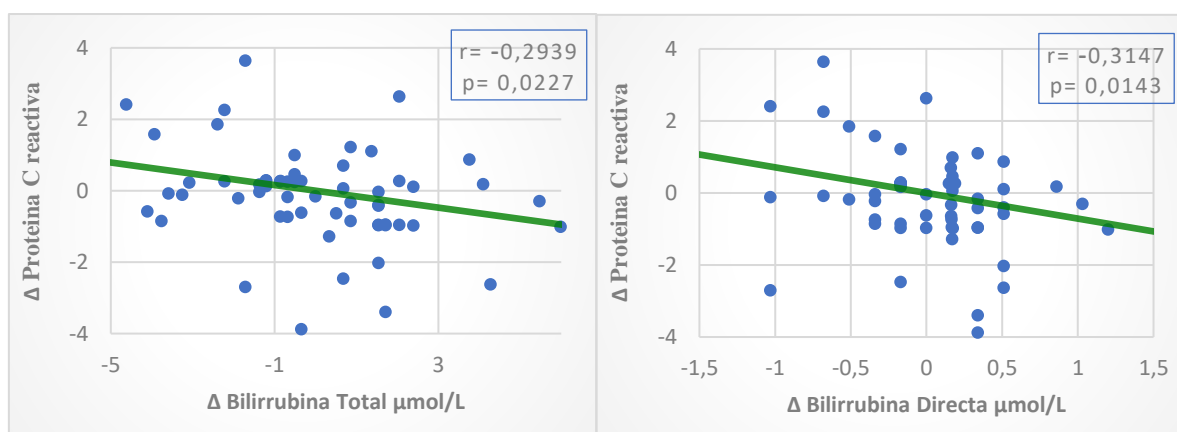


Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

Los cambios en los niveles de insulina, HOMA-IR (Figura 21), biomarcadores de inflamación [PCR (Figura 22), IL-6 (Figura 23), leptina y sICAM-1, también mostraron

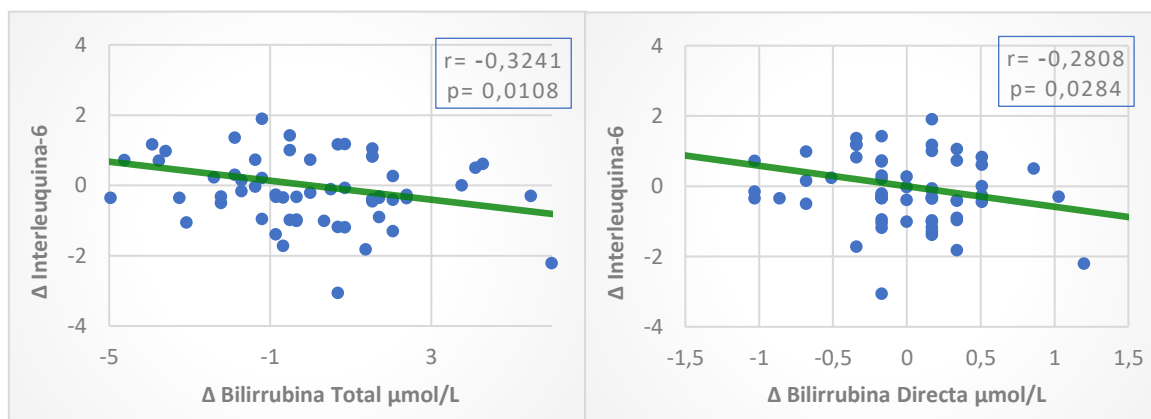
correlación inversa con los cambios en los niveles de bilirrubina total tras el tratamiento (Tabla 9).

**Figura 22.-** Correlación lineal simple ( $r$ ) entre cambios en los valores de bilirrubina total y directa y cambios en los niveles de proteína C reactiva en el grupo total de niños con obesidad ( $n = 63$ ) después de nueve meses de tratamiento.



Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

**Figura 23.-** Correlación lineal simple ( $r$ ) entre cambios en los valores de bilirrubina total y directa y cambios en los niveles interleuquina-6 en el grupo total de niños con obesidad ( $n = 63$ ) después de nueve meses de tratamiento.



Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

**Tabla 9.-** Coeficientes de correlación simple ( $r$ ) entre los cambios en los valores de bilirrubina total y la bilirrubina directa y los cambios en las diferentes variables, en el grupo de niños con obesidad ( $n= 63$ ) después de 9 meses de tratamiento.

	$\Delta$ Bilirrubina Total		$\Delta$ Bilirrubina Directa	
	$r$	$p$	$r$	$p$
$\Delta$ IMC	-0,2578	0,0448	-0,2760	0.0285
$\Delta$ IMC-SDS	-0,3579	0.0046	-0,3733	0.0026
$\Delta$ Circunferencia cintura	0.3436	0.0058	-0,2892	0.0226
$\Delta$ Insulina	-0,2803	0,0316	-0,3033	0.0175
$\Delta$ HOMA-IR	-0,2694	0.0391	-0,2865	0.0265
$\Delta$ TAS	-0.2965	0.0183	0.1858	0.1449
$\Delta$ TAD	-0.3523	0.0046	0.1151	0.3692
$\Delta$ Colesterol Total	0,1780	0.1627	0,0147	0.9088
$\Delta$ Triglicéridos	-0,3526	0.0046	-0,4298	0,0004
$\Delta$ HDL-colesterol	0,0074	0,9543	0,0666	0.6069
$\Delta$ Apo A-I	0.1815	0.1546	0.3022	0.0161
$\Delta$ Apo B	0.0637	0.6198	0.1792	0.1599
$\Delta$ IL-6	-0,3241	0,0108	-0.2808	0.0284
$\Delta$ PCR	-0,2939	0.0227	-0,3147	0.0143
$\Delta$ sICAM-1	-0,3423	0.0065	0.1150	0.3693
$\Delta$ Leptina	-0.2965	0.0278	-0.2697	0.0340

Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales. IMC= índice de masa corporal; IMC-SDS= IMC-standard deviation score; CC= circunferencia cintura; HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; TAS= tension arterial sistólica; TAD= tension arterial diastólica; Apo A-I= Apolipoproteína A-I; Apo B= Apolipoproteína B; PCR= proteína C-reactiva; IL-6= Interleuquina-6; sICAM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble.

Al igual que la bilirrubina total, los cambios en los valores de bilirrubina directa se correlacionaron de forma significativa e inversa con los cambios en los parámetros antropométricos, insulina, HOMA-IR (Figura 21), marcadores de inflamación (Figura 22, 23) y leptina (Tabla 9).

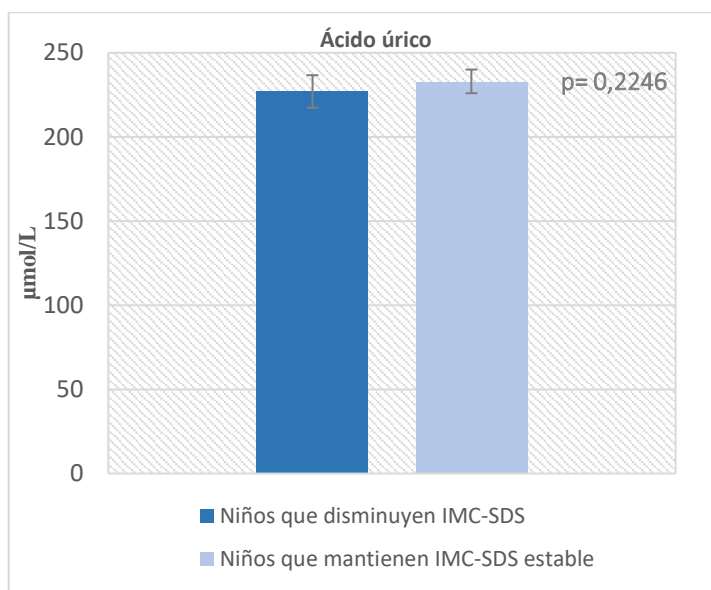


## 2.3.- Valores de ácido úrico

### 2.3.1.- Resultados basales, previo al tratamiento

Al inicio del estudio, antes de comenzar el tratamiento, los niveles medios de ácido úrico fueron similares en los dos grupos de niños con obesidad [niños cuya IMC-SDS había disminuido a los nueve meses de tratamiento (n= 31) comparado con los niños que mantienen un IMC-SDS estable (n= 32)], no mostrando diferencias significativas entre ellos (Figura 24)

**Figura 24.-** Valores de ácido úrico **antes de iniciar el tratamiento.** Comparación de niños con obesidad con una disminución sustancial en IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

### 2.3.1.1.- Correlación entre los valores de ácido úrico y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina, a nivel basal

La asociación entre los valores de ácido úrico a nivel basal y el resto de variables analizadas se han publicado en este artículo, como inicio de esta Tesis Doctoral (**Anexo 2**):

*Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children. Valle M, Martos R, Cañete MD, Valle R, van Donkelaar EL, Bermudo F, Cañete R. Pediatr Diabetes. 2015;16(6):441-7. doi: 10.1111/pedi.12199.*

El análisis de correlación univariable para los parámetros relacionados con el MetS para el grupo de niños con obesidad y para el grupo total (niños con obesidad y con peso normal juntos) se resume en la Tabla 10. En la correlación lineal simple, tanto en el grupo de niños con obesidad como en el grupo completo, los niveles de AU se correlacionaron positivamente con el IMC, insulina, HOMA-IR y TG, y negativamente con apolipoproteína AI y HDL-C.

En la correlación lineal simple, para el grupo de niños con obesidad, la concentración de AU se correlacionó positivamente con sICAM-1, PCR, IL-6 (Figura 25) y ALT ( $r= 0,2857$ ,  $p=0,0244$ ). En los niños con obesidad se realizó un análisis de regresión multivariante. Ajustando por edad, sexo y creatinina, se observó que el AU es un factor predictivo independiente para sICAM-1 ( $p$  parcial = 0,0014), PCR ( $p$  parcial = 0,020) e IL-6 ( $p$  parcial = 0,023).

Tabla 10.-

*Pediatric Diabetes* 2015; 16: 441–447  
doi: 10.1111/pedi.12199

## Uric acid and inflammation in children

Table. Simple correlation coefficients (r) between uric acid and different variables of the obese group and the total group (obese and non-obese together).

	Uric acid	
	Obese	Obese and non-obese (together)
BMI	0.3943*	0.4275***
Insulin	0.3601**	0.4025***
HOMA-IR	0.3513**	0.3956***
C-reactive protein	0.3375**	0.3896***
IL-6	0.3614**	0.3145**
sICAM-1	0.5152***	0.4653***
Cholesterol	-0.0503	0.0340
Triglycerides	0.3631**	0.4454***
Apolipoprotein A-I	-0.3018	-0.2923**
Apolipoprotein B	0.0355	0.0710
HDL-C	-0.3850**	-0.2956**
SBP	-0.2187	-0.0750
DBP	-0.2069	-0.0808

BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; IL-6, interleukin-6; SBP, systolic blood pressure; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1.

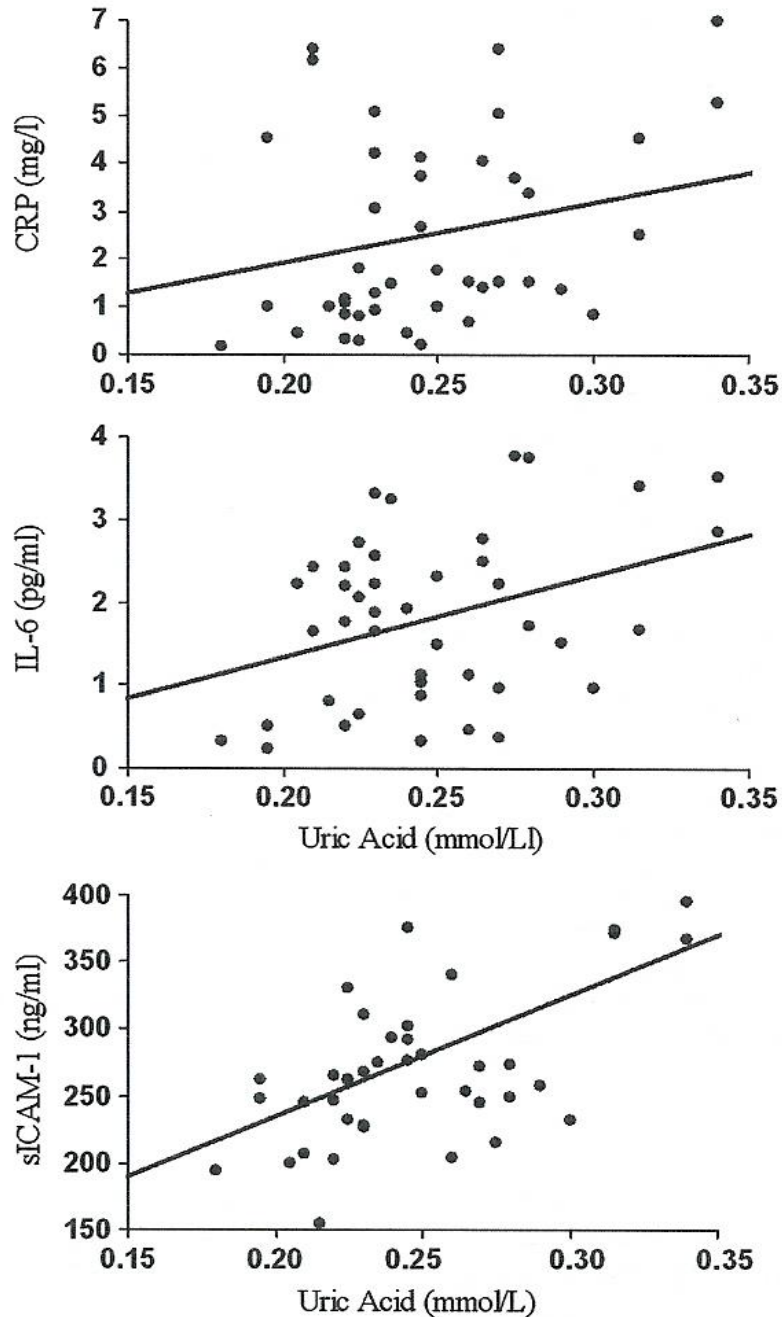
\*p < 0.01; \*\*p < 0.05; \*\*\*p < 0.001.

*Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children. Valle M, Martos R, Cañete MD, Valle R, van Donkelaar EL, Bermudo F, Cañete R. Pediatr Diabetes. 2015;16(6):441-7. doi: 10.1111/pedi.12199.*

Figura 25.-

*Pediatric Diabetes* 2015; 16: 441–447  
doi: 10.1111/peidi.12199

Uric acid and inflammation in children



*Fig. 1.* Serum uric acid (SUA) concentrations as a function of C-reactive protein (CRP) ( $r = 0.3375$ ;  $p = 0.027$ ), interleukin (IL)-6 ( $r = 0.3614$ ;  $p = 0.017$ ), and soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) ( $r = 0.5152$ ;  $p < 0.001$ ) in obese children.

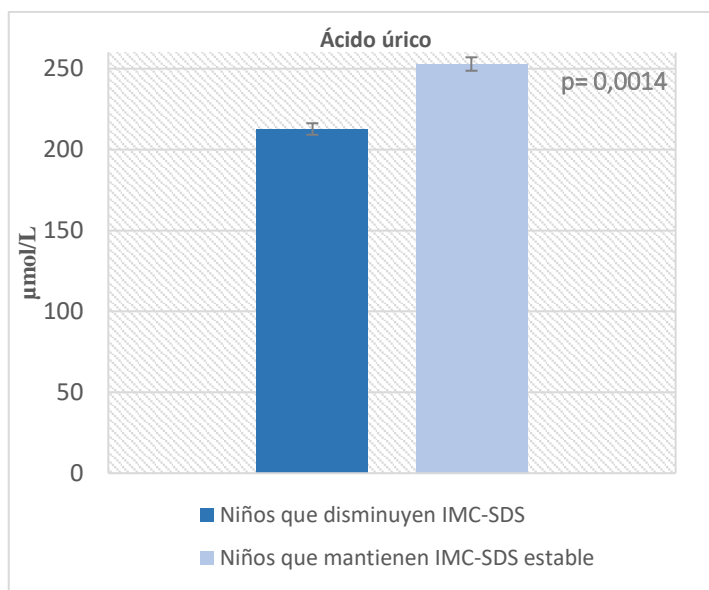
*Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children.* Valle M, Martos R, Cañete MD, Valle R, van Donkelaar EL, Bermudo F, Cañete R. *Pediatr Diabetes*. 2015;16(6):441-7. doi: 10.1111/peidi.12199.

### 2.3.2.- Resultados después de nueve meses de tratamiento

#### 2.3.2.1- Valores de ácido úrico en el grupo de niños que disminuyeron su IMC-SDS, comparado con los niños que mantienen su IMC-SDS estable tras el tratamiento

Después de nueve meses de tratamiento, los niveles medios de ácido úrico fueron significativamente más bajos en los niños cuya IMC-SDS había disminuido (n= 31), 212,69  $\mu\text{mol/L}$  (95% CI [192,91-232,46]) en comparación con 252,85  $\mu\text{mol/L}$  (95% CI [237,31-268,38]) en los niños con un IMC-SDS estable (n= 32), (Figura 26).

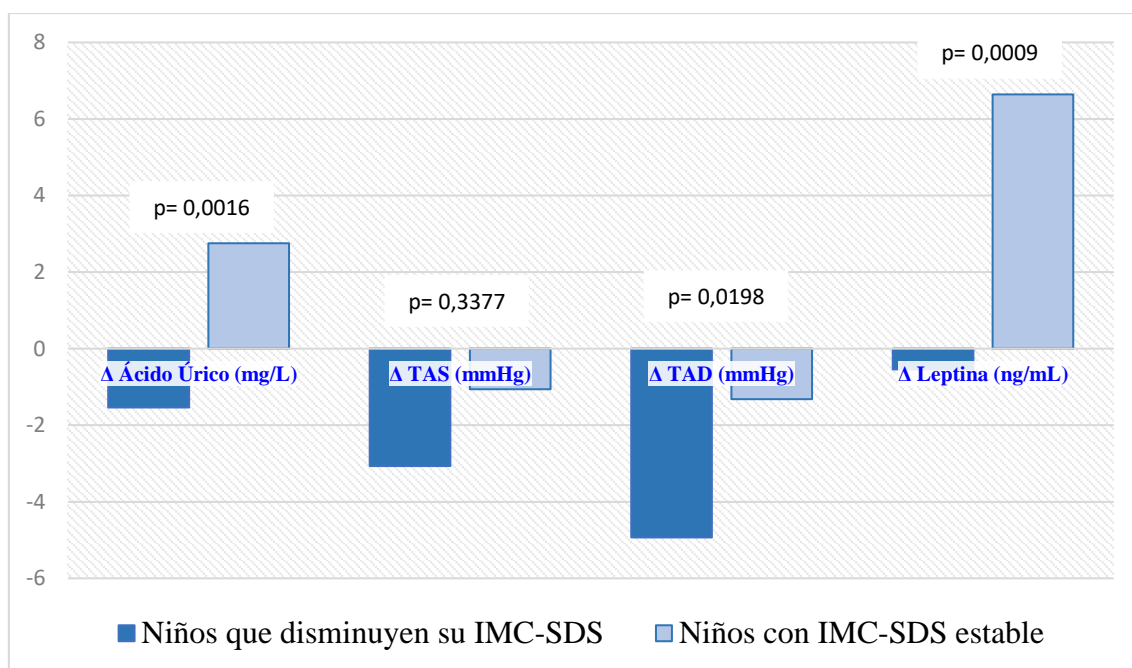
**Figura 26.-** Valores de ácido úrico **después de nueve meses de tratamiento.** Comparación de niños con obesidad que disminuyen su IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Se representa la media  $\pm$  el error estándar de la media.

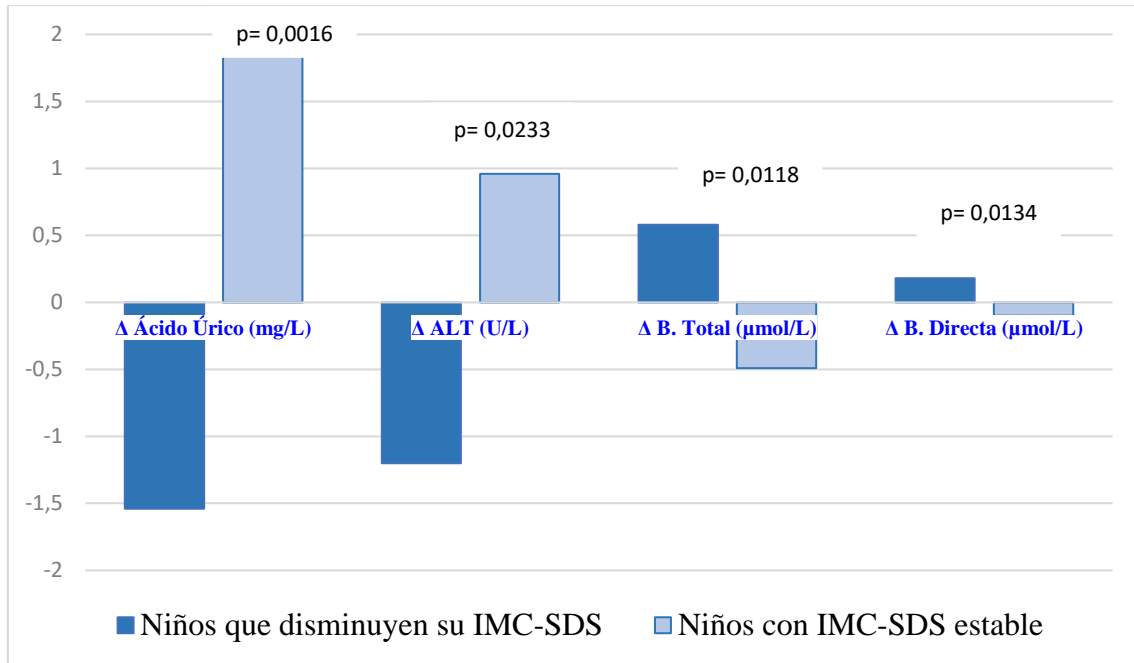
Las figuras 27 y 28 recogen la comparación entre los cambios en los valores de ácido úrico y variables relacionadas después de nueve meses de tratamiento.

**Figura 27.-** Cambios relativos ( $\Delta$ ) en los valores de ácido úrico, tensión arterial y leptina después de nueve meses de tratamiento. Comparación de niños con obesidad que disminuyen su IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



Los cambios ( $\Delta$ ) se expresan como el valor después de 9 meses de tratamiento menos el valor basal. Un valor positivo indica incremento, y un valor negativo indica descenso.

**Figura 28.-** Cambios relativos ( $\Delta$ ) en los valores de alanina aminotransferasa, ácido úrico y bilirrubina después de nueve meses de tratamiento. Comparación de niños con obesidad que disminuyen su IMC-SDS (disminución de IMC-SDS de  $\geq 0,5$ ) y niños con obesidad que mantienen su IMC-SDS estable.



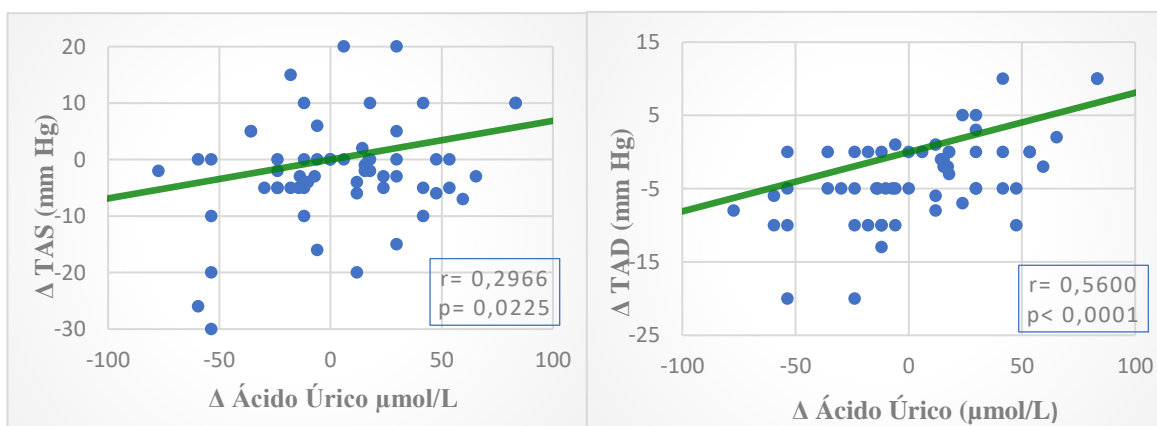
Los cambios ( $\Delta$ ) se expresan como el valor después de 9 meses de tratamiento menos el valor basal. Un valor positivo indica incremento, y un valor negativo indica descenso.

### 2.3.2.2.- Asociación entre los cambios en los niveles de ácido úrico y variables relacionadas con el MetS, inflamación, disfunción endotelial y leptina tras el tratamiento

Después de nueve meses de tratamiento, analizamos los cambios en el grupo completo de niños con obesidad (con y sin cambios en su IMC-SDS) con respecto al valor basal.

La correlación lineal simple para este grupo mostró correlaciones positivas entre los cambios en el nivel de AU y los cambios en IMC-SDS, CC, TAS, TAD (Figura 29) y sICAM-1 (Figura 30), PCR (Figura 31), INL y IPL (Figura 32), leptina (Tabla 11) y ALT ( $r=0,2734$ ;  $p=0,0359$ ).

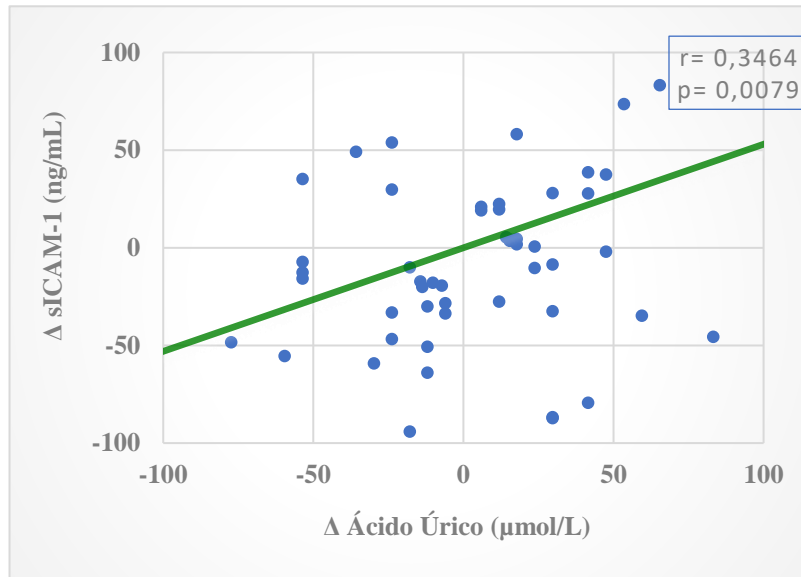
**Figura 29.-** Correlación lineal simple entre cambios en los niveles de ácido úrico y cambios en los valores de tensión arterial sistólica y diastólica en el grupo total de niños con obesidad ( $n = 63$ ) después de nueve meses de tratamiento.



Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

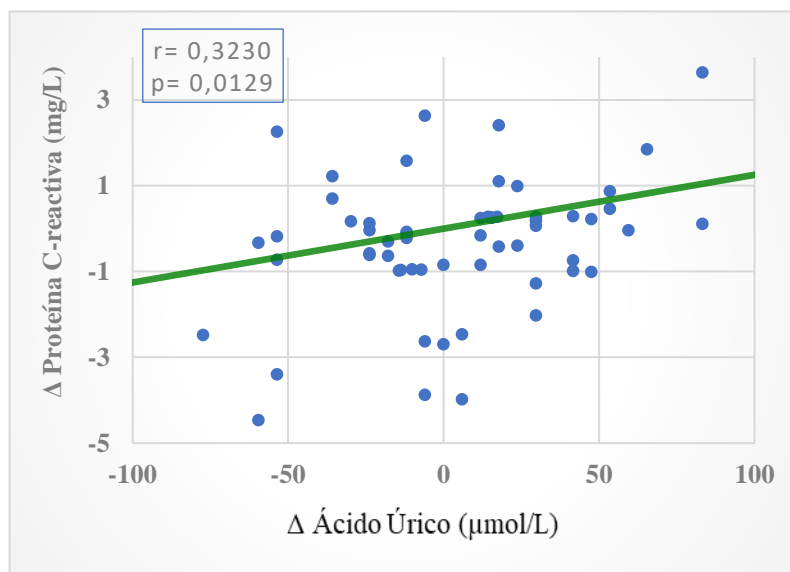


**Figura 30.-** Correlación lineal simple entre cambios en los niveles de ácido úrico y cambios en los valores de sICAM-1 en el grupo total de niños con obesidad (n = 63) después de nueve meses de tratamiento.



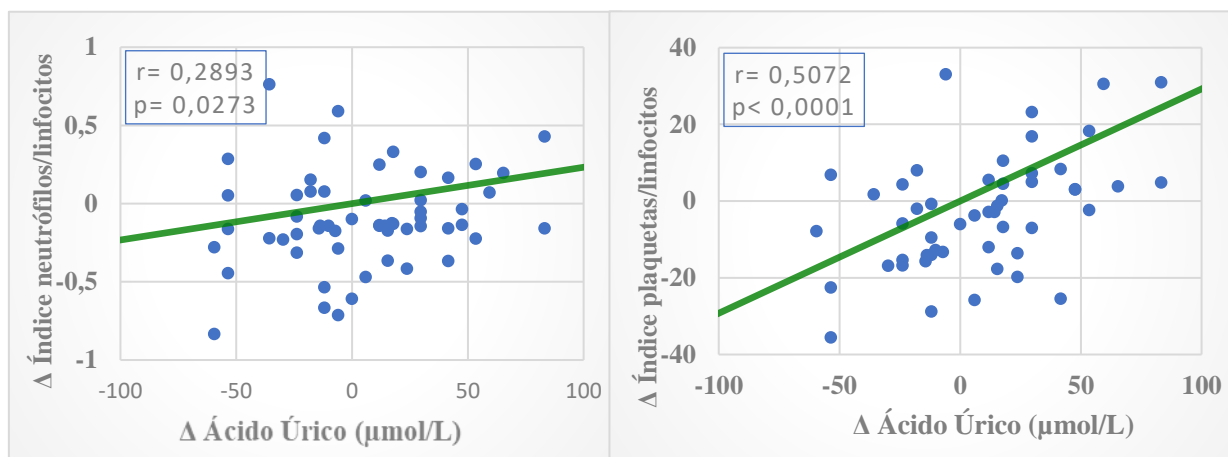
Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

**Figura 31.-** Correlación lineal simple entre cambios en los niveles de ácido úrico y cambios los niveles de proteína C reactiva en el grupo total de niños con obesidad (n = 63) después de nueve meses de tratamiento.



Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

**Figura 32.-** Correlación lineal simple entre cambios en los niveles de ácido úrico y cambios en el índice neutrófilos/linfocitos y plaquetas/linfocitos en el grupo total de niños con obesidad (n = 63) después de nueve meses de tratamiento.



Los cambios ( $\Delta$ ) en diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores iniciales.

Cuando ajustamos por edad, sexo y niveles de creatinina, notamos que los cambios en los niveles de AU fueron un factor predictivo independiente para PCR (parcial  $p = 0,0094$ ), IPL (parcial  $p = 0,0001$ ), TAS (parcial  $p = 0,0475$ ), TAD ( $p$  parcial =  $0,0003$ ), y sICAM-1 ( $p$  parcial =  $0,0205$ ).

**Table 11.-** Coeficientes de correlación simple ( $r$ ) entre cambios en el ácido úrico y diferentes variables en el grupo total de niños con obesidad ( $n = 63$ ) después de nueve meses de tratamiento.

	$\Delta$ Ácido Úrico	
	$r$	$p$
$\Delta$ IMC	0.3504	0.0072
$\Delta$ IMC-SDS	0.3427	0.0079
$\Delta$ Circunferencia cintura	0.3557	0.0061
$\Delta$ Glucosa	0.1038	0.4339
$\Delta$ Insulina	0.1167	0.3868
$\Delta$ HOMA-IR	0.0228	0.8634
$\Delta$ Tensión arterial sistólica	0.2966	0.0225
$\Delta$ Tensión arterial diastólica	0.5600	<0.0001
$\Delta$ Colesterol total	0.2403	0.0668
$\Delta$ Triglicérides	-0.1040	0.4432
$\Delta$ HDL-colesterol	-0.2410	0.0665
$\Delta$ Apolipoproteína A-I	0.0942	0.4877
$\Delta$ Apolipoproteína B	0.2733	0.0362
$\Delta$ Interleuquina-6	0.1009	0.4548
$\Delta$ Proteína C-reactiva	0.3230	0.0129
$\Delta$ sICAM-1	0.3464	0.0079
$\Delta$ Índice neutrófilos/linfocitos	0.2893	0.0273
$\Delta$ Índice plaquetas/linfocitos	0.5072	<0.0001
$\Delta$ Leptina	0.2997	0.0238

Los cambios ( $\Delta$ ) en las diferentes variables se expresan como valores después de nueve meses de tratamiento menos los valores basales. IMC= índice de masa corporal; HOMA-IR= del inglés homeostasis model assessment for insulin resistance; sICAM-1= molécula de adhesión intercelular-1 soluble.



## **V.- DISCUSIÓN**



La obesidad es una condición crónica que se asocia frecuentemente con diversos trastornos metabólicos agrupados bajo el título de síndrome metabólico (*Zimmet P, 2007*). En los niños con obesidad, el MetS puede comenzar a una edad muy temprana. Una proporción no despreciable de niños prepúberes se clasificó como afectados por este síndrome en el estudio IDEFICS (*Ahrens W, 2014*).

El MetS se asocia con un mayor riesgo de diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular y mortalidad por todas las causas (*Grundy SM, 2007*) en adultos. Los niños con MetS tienen un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular en la edad adulta (*Morrison JA, 2007*). Nosotros y otros autores hemos detectado inflamación sistémica de bajo grado, alteraciones indicativas de disfunción endotelial y niveles alterados de adipocinas, con un aumento de leptina y disminución de adiponectina, junto a los trastornos que definen al MetS (*Ezgü FS, 2005*) (*Martos R, 2009*) (**Valle M, 2005**), en niños con obesidad.

Además de los componentes tradicionales, la enfermedad del EHGNA y la hiperuricemia se han sugerido como componentes adicionales del síndrome metabólico.

Los datos disponibles indican que los trastornos metabólicos asociados a la obesidad, que incluyen EHGNA, resistencia a la insulina, inflamación, aumento en los niveles de ácido úrico, así como niveles alterados de adipocinas, pueden aparecer a edades muy tempranas y podrían beneficiarse de un diagnóstico y tratamiento precoz.

Ahí está la clave y radica la importancia del problema planteado, así como de la necesidad de búsqueda de métodos diagnósticos y de seguimiento, para lo que es ya, una enfermedad muy prevalente en nuestra población.

En esta tesis doctoral se analizan estos nuevos aspectos relacionados con la obesidad en niños prepúberes y se evalúan los cambios que se producen en estas variables con el descenso de IMC-SDS tras nueve meses de tratamiento de la obesidad.

## 1. OBESIDAD INFANTIL Y EHGNA

La enfermedad del hígado graso no alcohólico es considerada por algunos autores como el componente hepático del MetS (*Arab JP, 2018*). Junto con el aumento de las tasas de prevalencia de la obesidad y el MetS, la prevalencia de la EHGNA ha aumentado drásticamente con una prevalencia cercana al 25% en la población general (*Younossi Z, 2018*) (*Cotter T.G, 2020*).

Un mayor grado de obesidad ocasiona una mayor acumulación de grasa en el hígado que conduce a una lesión hepática (*Fonvig CE, 2015*) y se asocia con un aumento de las citocinas inflamatorias circulantes (*Kelly AS, 2013*). Además el grado de obesidad se correlaciona con la resistencia a la insulina (*Nightingale CM, 2013*), y la resistencia a la insulina está relacionada con la respuesta inflamatoria (*Hagman E, 2019*).

La prevalencia de EHGNA en niños con sobrepeso u obesidad varía del 29,8% al 34,7% (*Crespo M, 2016*) y puede causar un amplio espectro de lesiones (*Williams CD, 2011*). El riesgo de esteatosis y esteatohepatitis no alcohólica aumenta en niños con obesidad y MetS (*Williams CD, 2011*). La EHGNA aumenta significativamente el riesgo de enfermedad cardiovascular (*Motamed N, 2017*). En adultos, la EHGNA aumenta el riesgo de cirrosis y carcinoma hepático, y contribuye al desarrollo de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular (*Byrne cd, 2015*). En niños y adolescentes, la EHGNA se asocia igualmente, con enfermedad extrahepática significativa (*Goyal NP, 2016*) (*Nobili V, 2019*) (*Pacifico L, 2019*).

La EHGNA se ha convertido ahora, en la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica, tanto en niños como en adultos (*Nobili V, 2015*). Las intervenciones con ejercicios y los cambios en el estilo de vida reducen la masa grasa (*Stoner et al 2016*) y la grasa hepática, así como la prevalencia de EHGNA en niños y adolescentes, y se han recomendado en el tratamiento de la obesidad pediátrica (*Stoner L, 2016*) (*Mead E, 2017*) y la esteatosis hepática (*Vos MB, 2017*). Los datos disponibles en niños prepúberes con obesidad son muy limitados, más aún su valoración después del tratamiento.

La alta prevalencia de EHGNA y sus posibles consecuencias graves para la salud hacen que su detección temprana sea importante ya que la esteatosis simple es reversible mediante modificaciones en el estilo de vida, especialmente la pérdida de peso (*Hannah WN Jr, 2016*).



En este trabajo, estudiamos exclusivamente a niños prepúberes. Comparados con niños de peso normal, los niños con obesidad muestran niveles elevados de enzimas hepáticas, leptina, marcadores de resistencia a la insulina, inflamación, y disfunción endotelial, así como variables relacionadas con MetS. Estas alteraciones mejoraron con el tratamiento de la obesidad, y los cambios en los niveles de enzimas hepáticas se asociaron con cambios en marcadores de resistencia a la insulina, biomarcadores de inflamación y leptina.

### 1.1.- Enzimas hepáticas, resistencia a la insulina y parámetros relacionados con el MetS

Algunos comités de expertos recomiendan el uso de niveles séricos de ALT para detectar EHGNA en niños mayores de 10 años (*Vos MB, 2017*). En este trabajo analizamos las variables bioquímicas relacionadas con la obesidad y la EHGNA antes de la pubertad. Su análisis, en este grupo de edad, nos permitió eliminar la interferencia que, sobre el estado de resistencia a la insulina, producen los cambios hormonales que tienen lugar en la pubertad.

La ALT está estrechamente relacionada con la acumulación de grasa en el hígado y se considera un indicador sensible de daño hepático. Se ha correlacionado con la obesidad y varios componentes del MetS, incluida la dislipidemia (*Hartman C, 2021*). Su elevación también se asocia con la incidencia de MetS, diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular (*Vos MB, 2017*). Los niños con aumento de ALT, como sustituto diagnóstico de EHGNA, muestran una mayor prevalencia de prediabetes y diabetes mellitus tipo 2 en comparación con aquellos con valores normales de ALT (*Koutny F, 2020*).

La biopsia hepática se considera el estándar oro para el diagnóstico de EHGNA, que permite diferenciar entre esteatosis simple y hepatitis grasa no alcohólica (*Vos MB, 2017*). Por su carácter invasivo y el coste que genera no resulta adecuada para la detección en niños, además de examinar solo una pequeña parte del hígado. Una alternativa no invasiva y cualitativa puede ser la ecografía (*Vos MB, 2017*).

La ALT es un análisis de sangre mínimamente invasivo, económico, fácilmente disponible y aceptable. La EHGNA es la causa más frecuente de elevación de enzimas hepáticas en países desarrollados.

Diferentes estudios describen una alta prevalencia de EHGNA en niños y adolescentes de 10 a 19 años, incluso utilizando un límite superior de normalidad de ALT inferior a los estándares habituales (*Kang Y, 2018*). De manera similar a los resultados descritos en adultos y adolescentes, en nuestro estudio, la ALT aumentó en los niños prepúberes con obesidad en comparación con los niños con peso normal, al igual que los valores de triglicéridos y marcadores de resistencia a la insulina y descenso de HDL-c. En una amplia cohorte de niños y adolescentes, con una media de edad de 11 años, el grado de obesidad, HDL-c bajo, aumento de triglicéridos y HOMA se asociaron de forma

independiente con el aumento de ALT (*Putri RR, 2021*).

La resistencia a la insulina y la obesidad son los principales factores que inducen la primera acumulación de lípidos en el hígado (*Fang Y-L, 2018*). La resistencia a la insulina contribuye al daño oxidativo, provocando daño hepatocelular y la progresión de esteatosis hepática a esteatohepatitis no alcohólica, fibrosis y cirrosis (*D'Adamo E, 2019*).

A nivel basal, antes del inicio del tratamiento, encontramos que la ALT se correlacionó de forma positiva con mediciones antropométricas, RI y parámetros lipídicos relacionados con el MetS y proporcionó evidencia de que los trastornos metabólicos relacionados con la obesidad y la EHGNA comienzan a una edad muy temprana en los niños con obesidad. Esta asociación persistió cuando se analizaron conjuntamente niños con obesidad y niños con normopeso, sugiriendo que el aumento de los niveles de ALT conlleva un aumento progresivo en los valores de los parámetros relacionados con el MetS.

La ALT es una variable continua, e incluso una fluctuación en el rango normal también indica un riesgo potencial de trastornos metabólicos o enfermedades cardiovasculares (*Siddiqui MS, 2013*). Por lo tanto, podría ser de interés revisar los límites normales de ALT, así como considerar la inclusión de evaluaciones de enzimas hepáticas, incluso para niños menores de 10 años.

Cuando clasificamos el grupo de niños con obesidad según los terciles de ALT, el tercil superior mostró los valores más altos de insulina, HOMA-IR, TG. Otros grupos informaron de que la esteatosis hepática se asoció con un aumento de los niveles de TG y una disminución del HDL-c en los adolescentes y se consideró un factor importante en la patogenia temprana de la RI y la diabetes tipo 2 en los jóvenes (*Cali AM, 2007*).

La prevalencia de la resistencia a la insulina se correlaciona con la categoría de IMC y la reducción de peso es una medida importante en la lucha contra la RI en los niños (*Peplies J, 2016*). En el presente trabajo, los niños con obesidad que bajan su IMC-SDS muestran un descenso en los niveles de ALT y marcadores de resistencia a la insulina, junto a una mejora en los parámetros lipídicos relacionados con el MetS.

Los cambios (niveles basales restados de los resultados a los nueve meses de tratamiento) en los niveles de ALT y ChE se asociaron con alteraciones en la misma dirección en los valores de IMC, insulina y HOMA-IR. Además, cuando se corrigió por edad y sexo, los cambios en los niveles de ALT mantienen su asociación con los cambios

en HOMA-IR. Nuestros resultados indican que estos trastornos comienzan antes de la pubertad en los niños con obesidad y se benefician del descenso en el IMC.

En los jóvenes con obesidad, se demostró que el grado de grasa hepática es un fuerte modulador transversal y longitudinal del metabolismo de la insulina y la glucosa (*Vos MB, 2017*). En un grupo de niños con obesidad, mayores que los estudiados en nuestro trabajo, los niveles de enzimas hepáticas se asociaron significativamente con una reducción de la sensibilidad a la insulina (*Hampe CS, 2017*).

Las cifras de presión arterial también fueron más bajas en los niños que disminuyeron su IMC-SDS, aunque este factor no se correlacionó con los valores de las enzimas hepáticas. En este sentido, según los datos del Framingham Heart Study, los adultos con EHGNA tenían una mayor prevalencia de hipertensión que los adultos sin EHGNA (*Speliotes EK, 2010*), aunque la asociación entre EHGNA y la presión arterial se atenuó al ajustar por IMC, CC y contenido de tejido adiposo. También se describieron datos similares para adolescentes, en los que la EHGNA no se asoció con la presión arterial una vez que se consideró el factor de confusión de la adiposidad (*Patel S, 2015*). Los niños con obesidad y EHGNA tienen un mayor riesgo de hipertensión en comparación con aquellos sin EHGNA (*Schwimmer JB, 2014*), y se ha sugerido que la ALT es un indicador potencial de hipertensión (*Hong X, 2016*).

Se ha informado de un aumento en los niveles plasmáticos de ChE en individuos con obesidad abdominal y MetS (*Duchnowicz P, 2018*). Los niveles séricos de ChE están asociados con componentes de MetS. También descrito en adolescentes (*Han Y, 2019*). En nuestros resultados, antes del tratamiento, los valores de ChE también se correlacionaron con parámetros relacionados con MetS, aunque cuando se corrigieron por edad y sexo, la insulina y el HOMA-IR no fueron factores de predicción independientes. Con el tratamiento, los cambios (resultados a los nueve meses menos resultados al inicio del tratamiento) en los niveles de colinesterasa se asociaron con alteraciones en la misma dirección en los valores de IMC, insulina y HOMA-IR, corregido por edad y sexo esta asociación se pierde. Tampoco se encontraron diferencias entre los niños que disminuyeron su IMC-SDS y los que mantienen su peso estable para esta variable.

La aspartato aminotransferasa y la gamma glutamil transferasa (GGT) aún no se han probado de forma independiente como herramientas de detección de EHGNA en niños. En el contexto de ALT elevado, los niveles más altos de AST y GGT se asocian con una histología más pobre (*Vos MB, 2017*). Sin embargo, AST o GGT elevados en el

contexto de ALT normal pueden ser representativos de otras condiciones diferentes a la de EHGNA. En nuestros resultados, a nivel basal, los valores de AST no mostraron diferencias significativas entre niños con obesidad y niños con peso normal. Igualmente, tampoco existen diferencias entre los niños que disminuyeron su IMC-SDS y los que no disminuyen su peso con el tratamiento. El índice ALT / AST no parece proporcionar más información que la derivada de ALT y ChE por separado.

Podemos concluir que, niveles elevados de enzimas hepáticas y parámetros relacionados con el MetS alterados están presentes desde edades muy tempranas en niños con obesidad, mejoran con el tratamiento y existe asociación entre niveles de enzimas hepáticas, medidas antropométricas, insulina y HOMA-IR. Esto sugiere que los trastornos metabólicos relacionados con la EHGNA se iniciarían en niños con obesidad antes de la pubertad y pueden beneficiarse de un tratamiento temprano de la obesidad.

## 1.2.- Enzimas hepáticas, leptina y biomarcadores de inflamación.

La obesidad se asocia con inflamación crónica de bajo grado en muchos tejidos, incluyen hígado y tejido adiposo (*Saltiel AR, 2017*) (*Zhou H, 2020*). Bajo grado de inflamación sistémica se ha descrito en niños con obesidad de corta edad (*Ezgi FS, 2005*) (*Martos R, 2009*) (*Valle M, 2005*). Dado que las primeras etapas de EHGNA generalmente no presentan síntomas (*Younossi ZM, 2018*), la inflamación asociada con la obesidad puede ser de gran importancia para la identificación y diagnóstico tempranos de EHGNA.

El tejido adiposo juega un papel importante en la patogenia de EHGNA; interactúa con el hígado y libera una serie de adipocinas involucradas en procesos como la inflamación (*Boutari C, 2018*), la sensibilidad a la insulina y la EHGNA. Los niveles elevados de leptina se han asociado con la EHGNA y su concentración sérica se correlaciona con la gravedad de la misma (*Rotundo L, 2018*). La resistencia a la insulina desencadena la síntesis de varios mediadores proinflamatorios y hepatocinas prodiabetogénicas que pueden promover el desarrollo de diabetes tipo 2. La prevalencia de prediabetes y MetS aumenta significativamente en consonancia con el contenido de grasa hepática (*Cali AM, 2009*).

La leptina aumenta la RI y la producción de ácidos grasos en los hepatocitos y promueve las vías inflamatorias y fibrogénicas en el hígado (*Meek TH, 2016*), mecanismos que pueden contribuir al desarrollo de EHGNA. Los niveles más altos de leptina están asociados con EHGNA y la concentración sérica de leptina se correlaciona con su gravedad (*Rotundo L, 2018*).

Al inicio del tratamiento, en este grupo de edad (6-9 años), encontramos una asociación significativa entre ALT y ChE con marcadores de inflamación, disfunción endotelial y resistencia a la insulina, lo que a su vez resultó en una correlación positiva entre las enzimas hepáticas y la concentración de leptina. Los niveles séricos de PCR son predictivos de EHGNA y se han relacionado con la presencia y la gravedad de la fibrosis hepática (*Yoneda M, 2007*).

Describimos una asociación significativa entre los cambios inducidos por el tratamiento en los niveles de enzimas hepáticas (particularmente ALT) y los marcadores de inflamación, RI y leptina en niños con obesidad de 6 a 9 años. Cuando este grupo de

niños se dividió según los terciles ALT, el tercil superior mostró los niveles más altos de biomarcadores de inflamación y leptina.

La edad óptima para la detección de EHGNA y la necesidad de repetir las pruebas siguen sin determinarse debido a la falta de estudios pediátricos sobre la incidencia y la historia natural de la EHGNA en pacientes jóvenes. Las pautas de la Sociedad Norteamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas (NASPGHAN) recomiendan el uso de niveles séricos de ALT para detectar EHGNA en niños, a partir de los 9 años (*Vos MB, 2017*).

Los datos proporcionados en este estudio describen la aparición temprana de trastornos metabólicos relacionados con la obesidad y la EHGNA, lo que puede sugerir que la detección debe iniciarse a edades menores de 10 años, particularmente en niños con obesidad. Puede ser de interés revisar los límites normales de ALT y evaluar las enzimas hepáticas a edades prepúberes, así como valorar la utilidad de otros posibles marcadores bioquímicos en pacientes pediátricos.

En conjunto, esta evidencia sugiere que, desde una edad temprana, el tejido adiposo puede estar involucrado en la aparición de los trastornos metabólicos que acompañan a la obesidad y sus complicaciones, como MetS y EHGNA. Nuestros resultados apoyan esta idea e indican que los trastornos que acompañan a la obesidad y la EHGNA pueden beneficiarse del tratamiento estándar de la obesidad infantil, incluso antes de la pubertad.

El diagnóstico y el tratamiento tempranos durante las etapas de la enfermedad en las que la esteatosis hepática aún puede ser reversible son esenciales para prevenir una mayor progresión. Los cambios en el estilo de vida producen mejoras significativas en el IMC, los niveles de ALT y la esteatosis hepática en niños y adolescentes con EHGNA (*Utz-Melere M, 2018*). Además, los marcadores de hígado graso no alcohólico no invasivos, como la ALT, tienden a mejorar con las mejoras combinadas del estilo de vida y el ejercicio (*Nobili V, 2006*) (*Grønbaek H, 2012*). No obstante, la realización de ensayos de tratamiento para la EHGNA en niños sigue siendo un desafío debido a la falta de biomarcadores no invasivos y al conocimiento insuficiente de la historia natural de la enfermedad.

Reducir la ALT puede ser un sustituto aceptable en la EHGNA para evaluar la respuesta al tratamiento, especialmente en las primeras etapas (*Vos MB, 2017*). Existe

alguna evidencia que respalda su uso en ensayos clínicos pediátricos (*Lavine JE, 2011*). Nuestros resultados mostraron que una disminución en los niveles de ALT después del tratamiento estándar de la obesidad infantil durante 9 meses se asoció con cambios favorables en los marcadores de IR (HOMA-IR) y la inflamación (IL-6, PCR, INL y IPL).

El diseño de este estudio actual no nos permitió establecer si existían diferencias relacionadas con el sexo en nuestra población. Aunque esto fue una limitación, incluso después del análisis de regresión multivariante corregido por edad y sexo, las principales variables que estudiamos para este grupo de edad mantuvieron las mismas correlaciones, posiblemente por tratarse de niños prepúberes. Se decidió estudiar exclusivamente niños prepúberes con el fin de eliminar la influencia de los cambios hormonales que ocurren con la pubertad. Por otra parte, los estudios realizados a esta edad son importantes para comprender las relaciones fisiopatológicas entre las variables, dado que en estos estudios generalmente no hay confusión potencial con otras enfermedades o medicamentos.

Otra limitación de este trabajo fue que no realizamos ningún estudio de imagen. No obstante, nuestro objetivo fue evaluar si existían alteraciones en los parámetros bioquímicos relacionados con la obesidad y la EHGNA en niños con obesidad antes de la pubertad y determinar las correlaciones entre ellas, basales, y en respuesta al tratamiento.

A pesar de los avances recientes en la comprensión de la EHGNA pediátrica, la evolución y las consecuencias de esta afección aún no están claras. La información de la investigación futura ayudaría a crear programas clínicos para el diagnóstico temprano y la intervención antes de que comience una enfermedad vascular significativa (*Karjoo S, 2018*). Además de la determinación de las enzimas hepáticas, otros parámetros relacionados con el MetS, la inflamación y las adipocinas también podrían aportar información a su evaluación y seguimiento en niños con obesidad en edades tempranas (6-9 años).



## 2. BILIRRUBINA, OBESIDAD INFANTIL Y PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL MetS

La bilirrubina sérica en concentraciones normales es un potente agente antioxidante endógeno con propiedades antiinflamatorias (*Vitek L, 2012*) (*Vitek L, 2019*). Las concentraciones séricas altas de bilirrubina se asocian con una mayor capacidad antioxidante total y protección contra enfermedades inducidas por estrés oxidativo (*Vitek L, 2019*).

El sobrepeso compromete el sistema de defensa antioxidante. Niveles bajos de antioxidantes pueden ser una señal temprana de condiciones propensas a enfermedades (*Jenko-Pražnikar Z, 2013*). Los niveles bajos de bilirrubina sérica están inversamente asociados con la obesidad abdominal, MetS, inflamación sistémica, diabetes (*Ohnaka K, 2010*) (*Fukui M, 2008*), enfermedades cardiovasculares (*Fukui M, 2011*), disfunción endotelial (*Dekker D, 2011*) y oxidación de lipoproteínas de baja densidad (*Boon AC, 2012*) (*Yoshino S, 2013*), en adultos, niños y adolescentes. En nuestros resultados, al contrario que los valores de enzimas hepáticas, los niveles medios de bilirrubina total fueron significativamente inferiores en los niños con obesidad en comparación con el grupo de control.

La bilirrubina total se ha correlacionado inversamente con la PCR en sujetos con sobrepeso (*Yoshino S, 2011*) (*Andersson C, 2009*) (*Melissas J, 2006*) y la pérdida de peso se asocia con un rápido aumento de los niveles de bilirrubina total y de la capacidad antioxidante (*Andersson C, 2009*) (*Melissas J, 2006*). En esta línea, en nuestro estudio, después de nueve meses de tratamiento, los valores medios de bilirrubina total aumentaron en los niños con obesidad que disminuyeron su IMC-SDS, mostrando diferencias significativas con los niños que mantienen su IMC-SDS estable, al igual que la bilirrubina directa.

Se ha descrito relación inversa entre los niveles de bilirrubina sérica y citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6) y PCR (*Petelin A, 2020*), lo que sugiere una actividad antiinflamatoria de la bilirrubina (*Vogel ME, 2016*). Tras nueve meses de tratamiento, encontramos una correlación inversa entre los cambios en los niveles de bilirrubina total y los cambios en los niveles de insulina, HOMA-IR, biomarcadores de inflamación (PCR, IL-6), leptina y sICAM-1.

En una cohorte de pacientes con diabetes mellitus tipo2, la concentración de bilirrubina sérica se correlacionó inversamente con el índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, triglicéridos, ácido úrico y grasa visceral (*Takei R, 2019*). También, en modelo animal, se ha visto que la bilirrubina mejora la sensibilidad a la insulina y la inflamación crónica en el tejido adiposo y en hígado (*Dong H, 2014*). Nuestros resultados muestran correlación inversa entre los cambios en el nivel de bilirrubina total y las modificaciones en los parámetros antropométricos (IMC, IMC-SDS, circunferencia de la cintura), triglicéridos, tensión arterial sistólica y diastólica, al contrario que lo descrito con los cambios en los valores enzimas hepáticas, que se asociaron positivamente con los cambios en la mayoría de estas variables.

Así pues, desde edades tempranas los niveles de bilirrubina se relacionan de forma inversa con la obesidad, incrementan con el descenso del IMC y sus cambios se asocian de forma inversa con parámetros antropométricos, marcadores de resistencia a la insulina disfunción endotelial e inflamación y variables relacionadas con el MetS.

Sigue siendo un desafío identificar a las personas asintomáticas que tienen un mayor riesgo de desarrollar MetS. Se ha especulado con la bilirrubina como un posible biomarcador previo a la enfermedad para el desarrollo del MetS (*Jenko-Pražnikar Z, 2013*).

La bilirrubina puede considerarse como un criterio de valoración para las enfermedades cardiovasculares y metabólicas, especialmente si se mide longitudinalmente a lo largo del tiempo en un solo paciente para reflejar cambios positivos o negativos debidos a modificaciones del estilo de vida o enfoques terapéuticos.

### 3. ÁCIDO ÚRICO Y OBESIDAD INFANTIL

#### 3.1. Ácido úrico y parámetros relacionados con el MetS

Los pacientes con MetS tienen niveles elevados de ácido úrico (AU) y la obesidad es el principal factor determinante de la variación del nivel de AU (*Onat A, 2006*).

El ácido úrico puede ser un factor determinante en este síndrome (*Onat A, 2006*) y aunque sus niveles no forman parte de ninguna definición de MetS, diversos estudios han descrito una fuerte asociación entre AU y MetS (*Cicero AFG, 2018*) (*Borghini C, 2017*) (*Jeong J, 2019*) (*Ali N, 2020*) (*Sun D, 2014*). La prevalencia de este síndrome aumenta con el aumento de los niveles de AU (*Onat A, 2006*) (*Yoo TW, 2005*) (*Ishizaka N, 2005*) (*Choi HK, 2007*). Un aumento de una desviación estándar en los niveles de ácido úrico se asocia en ambos sexos con una probabilidad 35% mayor de MetS, lo que sugiere que el ácido úrico es un factor determinante para este síndrome (*Onat A, 2006*).

En los resultados descritos en este estudio, los niveles de AU son significativamente superiores en los niños con obesidad respecto de los niños con peso normal, existiendo una correlación directa entre AU y el IMC. Esta correlación se mantiene cuando se analizan de forma conjunta los niños con obesidad y los niños con peso normal.

En niños con obesidad, se han descrito altos niveles de AU en comparación con niños con peso normal (*Gil-Campos M, 2009*) (*Thomazini F, 2021*). La asociación entre AU y MetS puede estar mediada por la resistencia a la insulina (*Onat A, 2006*) (*Yoo TW, 20059*) (*Tang L, 2010*). El AU interactúa con la resistencia a la insulina aumentando la rigidez arterial. Este efecto conjunto, del aumento de UA y HOMA promueve de forma sinérgica el daño vascular (*Cassano V, 2020*). El AU se asocia significativamente con la evaluación de la RI del modelo de homeostasis en niños obesos (*Pacifico L, 2009*). Nuestros resultados coinciden con estas afirmaciones, encontramos niveles superiores de AU y HOMA-IR en los niños con obesidad en comparación con los niños con normopeso. Además, los niveles de AU se correlacionan significativamente con los niveles de insulina basales y el índice HOMA-IR. También los valores de tensión arterial sistólica y diastólica fueron mayores en los niños con obesidad. Recientemente se ha encontrado que el AU es un factor de riesgo para el desarrollo de RI y ejerce un papel mediador en el

proceso de RI inducida por la obesidad, indicando que el AU podría no solo afectar directamente a la RI, sino también ser el enlace intermedio que conduce a la RI (*Niu Y, 2021*).

Se ha descrito una asociación entre la resistencia a la insulina y los componentes del MetS con la pérdida de peso resultante de una intervención en el estilo de vida en niños con obesidad en diferentes etapas del desarrollo puberal (9-13 años) (*Uysal Y, 2014*). La reducción de la puntuación de desviación estándar (SDS) del IMC se correlaciona significativamente con los cambios en el AU en adolescentes obesos (*Oberbach A, 2014*).

Después de nueve meses de tratamiento, los niños con obesidad que disminuyeron su IMC-SDS presentaron un descenso significativo en sus niveles de AU en comparación con los que habían mantenido un IMC-SDS estable pero elevado. El resto de variables relacionadas con MetS mejoran igualmente con la disminución de IMC-SDS, y los niveles de AU se correlacionaron tanto con los parámetros antropométricos (IMC-SDS y CC) como con los niveles de TG, HDL-c y niveles de tensión arterial después de nueve meses de tratamiento.

También, los valores de insulina y HOMA-IR descendieron significativamente en los niños que disminuyeron su IMC-SDS, y se correlacionaron con los niveles de AU. Esta asociación significativa entre los niveles de AU y los valores de HOMA-IR en niños con obesidad ya se ha descrito, y pueden tener un papel central en la relación entre UA y MetS (*Onat A, 2006*) (*Pacifico L, 2009*).

La relación entre el nivel de AU y las ECV ha sido controvertida durante mucho tiempo (*Feig DI, 2008*). En adultos sanos, los niveles de AU se asocian con diferentes factores de riesgo cardiovascular asociados al MetS, como obesidad, hipertensión (*Yang T, 2012*) (*Grayson PC, 2011*), colesterol, hipertrigliceridemia y alteración de la tolerancia a la glucosa (*Choi HK, 2007*) (*Ishizaka N, 2005*) (*Feig DI, 2008*). Así mismo, los niveles de AU se asocian inversamente con concentración de HDL-c (*Oberbach A, 2014, Qin L, 2014*).

En la infancia y adolescencia, también el aumento de AU se ha asociado a factores de riesgo cardiovascular como dislipemia, hipertensión, obesidad y MetS (*Moulin-Mares SRA, 2021*) y se ha sugerido que los niveles de AU y HOMA-IR pueden usarse como predictores bioquímicos de obesidad metabólicamente no saludable (*Cho AY, 2021*). En

nuestros resultados, los valores de AU se asociaron significativamente con resistencia a la insulina, parámetros antropométricos, lipídicos y tensión arterial.

Los resultados de esta tesis doctoral sugieren que los niveles elevados de AU están fuertemente asociados con la obesidad y el MetS, incluso a edades muy tempranas, mejorando con el descenso en el IMC-SDS.

### 3.2. Ácido úrico y biomarcadores de inflamación, disfunción endotelial y presión arterial

Los niveles elevados de AU constituyen un factor de riesgo que favorece el desarrollo de la hipertensión al inducir inflamación y estrés oxidativo, provocando disfunción endotelial (*Menè M, 2008*) (*Khosla UM, 2005*) (*Kimura Y, 2020*) (*Feig DI, 2008*) (*Ruggiero C, 2006*). La inflamación y la activación endotelial contribuyen al desarrollo y progresión de la aterosclerosis. La inflamación subclínica de bajo grado es una condición con frecuencia presente en la obesidad, incluso en niños (*Olza J, 2014*) (*Valle M, 2005*), que puede desempeñar un papel importante en la patogénesis de la hipertensión tanto en adultos (*Turak O, 2013*) como en niños (*Litwin M, 2010*).

La hiperuricemia se asocia con disfunción endotelial, y la disminución del ácido úrico, con inhibidores de la xantina oxidasa, se relaciona con una mejoría en la función endotelial (*Kanbay M, 2011*) (*Melendez-Ramirez G, 2012*) (*Yelken B, 2012*). Los niveles elevados de sICAM-1 son indicativos de disfunción endotelial y se han relacionado con la aparición de procesos inflamatorios (*Szimiko PE, 2003*) y la progresión de la aterosclerosis. En este trabajo describimos niveles elevados de sICAM-1 en niños con obesidad en comparación con niños con un peso normal, al inicio del tratamiento. Después de nueve meses de tratamiento, estos valores habían disminuido en el grupo con obesidad que descendieron su IMC-SDS. Además, los valores de AU se correlacionaron positivamente con los de sICAM-1 en el grupo de niños con obesidad.

Se ha descrito una asociación independiente entre los valores de AU y la función endotelial en pacientes adultos (*Maruhashi T, 2018*) y en jóvenes. Un AU alto puede predecir los niveles de sICAM-1 (*Skrzypczyk P, 2019*), dañar directamente las células endoteliales y puede desencadenar hipertensión (*Zoccali C, 2006*). En los jóvenes, el AU se ha correlacionado positivamente con los niveles de sICAM-1 (*Skrzypczyk P, 2019*). El ácido úrico puede mediar estos efectos al inducir estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial (*Kanbay M, 2013*).

Se ha informado asociación positiva y significativa entre el AU y varios marcadores de inflamación como la PCR y la IL-6 (*Ruggiero C, 2006*). Además, el INL y el IPL también se han propuesto como marcadores de inflamación fácilmente medibles que pueden estar asociados con la hipertensión (*Sunbul M, 2014*) (*Skrzypczyk P, 2018*) y las enfermedades cardiovasculares (*Sunbul M, 2014*) (*Uthamalingam S, 2011*).

Este estudio no solo muestra un aumento de los biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial en niños prepúberes obesos, sino que estos biomarcadores se asocian de manera muy significativa a los niveles de AU. Esta asociación persiste cuando se analizan conjuntamente niños prepúberes con y sin obesidad. Esto sugiere que el aumento de los niveles de UA conlleva un incremento progresivo en los valores de los marcadores de inflamación, disfunción endotelial y RI, tanto en niños sanos como niños con obesidad.

Después de nueve meses de tratamiento, los niños con obesidad que disminuyeron su IMC-SDS mostraron un descenso en estos biomarcadores de inflamación (PCR, IL-6, INL y IPL), asociados significativamente con los niveles de ácido úrico.

La presentación de hipertensión arterial está aumentando en niños y adolescentes como consecuencia de la mayor prevalencia de obesidad. Los sujetos con un IMC alto tienen un mayor riesgo de desarrollar hipertensión y la incidencia de ésta aumenta a medida que los niveles de AU se elevan (*Hulsegge G, 2016*). Diferentes estudios han confirmado una asociación entre hiperuricemia e hipertensión en niños y adolescentes (*Lin KH, 2021*) (*Jones DP, 2008*) (*Viazzi F, 2013*) e incluso se ha sugerido al AU como un posible biomarcador para el diagnóstico de hipertensión esencial en niños (*Yanik M, 2013*). El aumento de los niveles de AU tiene un efecto de mediación en la asociación del IMC y la tensión arterial, tanto en niños como en adultos (*Yun M, 2021*). Coincidiendo con estos datos, encontramos que después de nueve meses de tratamiento, los niños con obesidad que habían disminuido su IMC-SDS tenían cifras de presión arterial más bajas y que esto se correlacionó significativamente con los niveles de AU.

### 3.3. Asociación entre cambios en los niveles de ácido úrico y cambios en el resto variables analizadas, después de nueve meses de tratamiento

Estudiamos la asociación entre los cambios (diferencia entre los valores después del tratamiento menos los valores iniciales) en los niveles de ácido úrico y las modificaciones producidas, tras nueve meses, en cada una de las variables estudiadas.

La obesidad se ha descrito como el principal factor determinante de la variación de AU, y lo que es más importante, el aumento de los niveles de AU se asoció con una mayor probabilidad de MetS (*Onat A, 2006*). Encontramos que los cambios en los valores de IMC-SDS y perímetro de cintura después de nueve meses se asociaron significativamente con cambios en los niveles de AU.

Se ha encontrado una asociación entre niveles de AU, IMC y masa grasa en un grupo de niños, de mayor edad (9-17 años) que el grupo analizado en nuestro estudio, que fueron sometidos a una intervención más corta, considerando que la AU juega un papel importante en la pérdida de peso (*Niu Y, 2020*).

Por el contrario, el AU no demostró tener una relación significativa con los cambios en el IMC-SDS cuando se ajustó por sexo y etapa puberal en un estudio de intervención realizado con niños obesos en diferentes etapas del desarrollo puberal (*Uysal Y, 2014*). La resistencia a la insulina y los componentes del MetS se asociaron con la pérdida de peso.

En los adultos, las concentraciones séricas de PCR moderadamente elevadas pueden predecir cambios cardiometabólicos y la presencia de lesiones endoteliales (*Bisoendial RJ, 2010*). El riesgo de MetS aumenta a medida que aumenta el INL, y los valores de INL pueden ser útiles para predecir el desarrollo de MetS (*Liu CC, 2019*). Aquí describimos una correlación significativa entre los cambios en los niveles de AU y los cambios en los marcadores de inflamación (PCR, INL y IPL) y disfunción endotelial (sICAM-1). Es de destacar que algunos estudios similares han descrito que la disminución de los niveles de AU afecta favorablemente la inflamación (*Kimura Y, 2020*) y la disfunción endotelial (*Goicoechea M, 2010*) (*Muir SW, 2008*).

El INL en niños también se ha asociado con hipertensión (*Skrzypczyk P, 2018*) y obesidad (*Mărginean CO, 2019*), y se ha sugerido que una reducción en los niveles de



AU mejora la hipertensión en adultos y adolescentes (*Feig DI, 2008*). Nosotros encontramos una asociación positiva entre el descenso en los niveles de AU y los cambios favorables en las cifras de tensión arterial después de nueve meses de tratamiento.

Por su fácil aplicación, los niveles de UA durante la pérdida de peso, junto con las variables relacionadas con la inflamación, la resistencia a la insulina, las medidas antropométricas, y las ya mencionadas enzimas hepáticas, pueden ser un indicador sensible y útil en la evaluación de niños con obesidad a edades prepúberes.

Ya se ha recogido que este diseño no nos permitió estudiar las diferencias relacionadas con el sexo. Sin embargo, cuando ajustamos por edad y sexo, notamos que los cambios en los niveles de AU eran un factor predictivo independiente para PCR, IPL, TAS, TAD y sICAM-1.

La hiperuricemia está estrechamente asociada con la obesidad y el MetS, y puede estar involucrada en el desarrollo del grupo de factores de riesgo cardiovascular que acompañan a este síndrome. Aunque se necesitan más estudios para determinar la verdadera importancia de los niveles de UA, su cuantificación debe considerarse en la evaluación temprana de la obesidad y el MetS.

#### 4.- RELACIÓN ENTRE ÁCIDO ÚRICO Y ENZIMAS HEPÁTICAS EN EL MetS Y EHGNA.

La hiperuricemia ha sido implicada en el desarrollo de MetS, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (*Feig DI, 2008*) (*Ali N, 2019*) (*Ali N, 2020*). Además, se ha encontrado que la hiperuricemia está asociada con la EHGNA (*Afzali A, 2010*) (*Xu C, 2010*) (*Shih MH, 2012*) (*Zheng X, 2017*).

Los niveles séricos de ácido úrico y la alanina aminotransferasa aumentan en pacientes con MetS. El aumento combinado de AU y ALT se asoció más significativamente con el MetS que un aumento en AU o ALT solos (*Wang J, 2020*). Aunque la medición de los niveles séricos de ácido úrico y alanina aminotransferasa no son criterios de diagnóstico para el MetS, diversos estudios han demostrado asociaciones entre AU y ALT y este síndrome (*Zhang H, 2012*) (*Park JH, 2014*) (*Chen QC, 2016*) (*Cicero AFG, 2018*). En nuestros resultados tanto los valores de ácido úrico como de ALT fueron superiores en los niños con obesidad y ambos disminuyeron con el descenso del IMC.

Existe asociación positiva significativa entre AU y la prevalencia de EHGNA (*Bao T, 2020*). La concentración elevada de AU, incluso dentro del rango normal, también muestra una asociación con el aumento de ALT en adultos (*Chen QC, 2016*). El AU se asocia positivamente con la ALT, independientemente de factores de confusión como la edad, el sexo, el IMC, la TAS, la TAD y los marcadores del perfil lipídico (*Molla NH, 2021*).

La ALT y el AU están estrechamente asociadas con el MetS a través del depósito de lípidos, la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo (*Ballestri S, 2016*). Dado que AU y las enzimas hepáticas, particularmente la ALT, se han asociado con trastornos cardiovasculares, EHGNA y MetS, es probable que estos parámetros también muestren relaciones entre sí desde su inicio. En este sentido, nosotros encontramos correlación positiva significativa entre los valores de ácido úrico y ALT, tanto a nivel basal como después de nueve meses de tratamiento y en ambas se encontró asociación significativa con los parámetros que describen el MetS. Recientemente se ha visto que la prevalencia EHGNA en niños y adolescentes está estrechamente relacionada con un IMC elevado, resistencia a la insulina e hiperuricemia (*Peng L, 2021*).

La ALT se ha identificado como un predictor de MetS, diabetes, obesidad y dislipidemia en personas de diversas razas y edades (*Fermin CR, 2017*) (*Lee SH, 2018*). Además, es un indicador específico de hígado graso (*Lee SW, 2017*), y la incidencia de DM2 y MetS aumenta exponencialmente con el desarrollo de hígado graso (*Ballestri S, 2016*). El mecanismo implicado puede estar asociado con el depósito de lípidos hepáticos, la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo (*Jung KY, 2014*). El grupo de niños con obesidad estudiado, además de mostrar niveles superiores de ALT, éstos se correlacionaron significativamente, no solo con parámetros relacionados con el MetS, sino que también se asociaron significativamente con marcadores de inflamación y disfunción endotelial.

Se ha informado que la hiperuricemia, más que un simple marcador, podría contribuir al desarrollo de estrés oxidativo, resistencia a la insulina, MetS e inflamación (*Feig DI, 2008*) (*Edwards NL, 2009*), condiciones asociadas con EHGNA (*Afzali A, 2010*). El ácido úrico puede inhibir directamente la señalización de la insulina e inducir la resistencia a la insulina, que se considera el mecanismo subyacente de la esteatosis hepática (*Fan N, 2016*), así como estimular directamente la síntesis de grasa hepática (*Lanaspa MA, 2012*).

Tanto los valores de ácido úrico como de ALT están elevados en el grupo de niños con obesidad y se asociaron positivamente con los niveles de insulina e índice HOMA y esta asociación persiste cuando se corrige por edad y sexo. El AU se asocia positivamente con EHGNA tanto en hombres como en mujeres, a la vez que se observan asociaciones conjuntas significativas de AU y ALT con la prevalencia de EHGNA (*Yang H, 2018*). Un nivel elevado de ácido úrico, incluso dentro del rango de referencia, se asocia de forma independiente con una ALT elevada (*Chen S, 2016*).

Después de nueve meses de tratamiento los valores de ácido úrico y ALT descienden en el grupo de niños que disminuyeron su IMC y los cambios producidos en ambos (resultados a los nueve meses menos resultados basales) se asocian con cambios en el mismo sentido en los parámetros relacionados con el MetS, marcadores de inflamación y disfunción endotelial. Además, desde temprana edad (6-9 años), existe asociación entre ácido úrico y ALT en niños con obesidad. En adolescentes con obesidad se ha descrito asociación significativa entre hiperuricemia y ALT elevada (*Chen SCC, 2012*).

La combinación de ácido úrico, alanina aminotransferasa y bilirrubina podrían tener valores clínicos potenciales para la prevención, detección temprana y seguimiento de trastornos metabólicos asociados a la obesidad como EHGNA y síndrome metabólico.

Tanto la ALT como el AU están ya elevadas desde temprana edad en los niños con obesidad, se relacionan entre sí y se asocian con las complicaciones metabólicas que agravan la obesidad, pudiendo estar implicados en su patogenia.

**VI.- CONCLUSIONES**



1.- Comparados con niños de peso normal, los niños con obesidad tienen niveles significativamente elevados de enzimas hepáticas, existiendo correlación significativa entre éstas, particularmente la ALT, y los valores de leptina, marcadores de resistencia a la insulina, inflamación, y disfunción endotelial, así como con variables relacionadas con el MetS. Estos datos indican que los trastornos metabólicos relacionados con la EHGNA se iniciarían en los niños con obesidad antes de la pubertad y se relacionan con el MetS y sus complicaciones.

2.- Los valores de enzimas hepáticas disminuyen con el tratamiento, mostrando valores inferiores en los niños que descienden su IMC-SDS. En el resto de variables también se producen cambios favorables en respuesta al tratamiento. Estos resultados sugieren que los trastornos que acompañan a la obesidad y la EHGNA se pueden revertir cuando el tratamiento estándar de la obesidad se inicia en fases precoces.

3.- Los cambios en los valores de enzimas hepáticas, particularmente la alanina aminotransferase, (resultado a los nueve meses menos el valor al inicio del tratamiento), se asocian con modificaciones en el mismo sentido de parámetros antropométricos, leptina, insulina, HOMA-IR y biomarcadores de inflamación. Las manifestaciones hepáticas asociadas al MetS en el adulto, pueden estar fisiopatológicamente relacionadas con el resto de complicaciones metabólicas de la obesidad y en este proceso pueden intervenir la resistencia a la insulina y productos del tejido adiposo como la leptina.

4.- Al contrario que los valores de enzimas hepáticas, los niveles medios de bilirrubina son significativamente inferiores en los niños con obesidad, se incrementan con el tratamiento y los cambios en su concentración se asocian de forma inversa con las modificaciones que produce el tratamiento en las medidas antropométricas, triglicéridos, tensión arterial, insulina, HOMA-IR, biomarcadores de inflamación, leptina y sICAM-1. La bilirrubina se puede considerar un criterio de valoración para las enfermedades cardiovasculares y metabólicas, especialmente si se mide longitudinalmente a lo largo del tiempo en un mismo paciente.

**5.-** La concentración de ácido úrico es significativamente superior en los niños con obesidad comparados con niños de peso normal. Tanto en el grupo de niños con obesidad como en el conjunto total de niños, los niveles de AU se correlacionan positivamente con el IMC, insulina, HOMA-IR, TG, sICAM-1, PCR, IL-6 y niveles de tensión arterial y negativamente con apolipoproteína A-I y HDL-c. Estos resultados indican que los niveles elevados de AU están fuertemente asociados con la obesidad y el MetS, pudiendo estar implicados en su patogenia.

**6.-** Al igual que ocurre con los niveles de enzimas hepáticas, los niveles de ácido úrico disminuyen con el tratamiento estándar de la obesidad infantil, siendo los niños que disminuyen su IMD-SDS los que muestran valores inferiores de AU.

**7.-** Los cambios que se producen con el tratamiento en la concentración de ácido úrico (concentración a los nueve meses menos valor al inicio del tratamiento), se correlacionan significativamente con cambios en el mismo sentido en los valores de IMC-SDS, CC, TAS, TAD, sICAM-1, PCR, INL, IPL y leptina. Desde esta edad, niveles elevados de ácido úrico están estrechamente asociada con la obesidad y el MetS, pueden estar involucrada en el desarrollo del grupo de factores de riesgo cardiovascular que acompañan a este síndrome a la vez que se benefician de un tratamiento precoz.

**8.-** Tanto la ALT como el AU están ya elevadas desde temprana edad en los niños con obesidad, se relacionan entre sí y se asocian con las complicaciones metabólicas que agravan la obesidad, pudiendo estar implicados en su patogenia. La combinación de ácido úrico, alanina aminotransferasa y bilirrubina podrían tener valor clínico potencial para la prevención, detección temprana y seguimiento de trastornos metabólicos asociados a la obesidad como la EHGNA y el síndrome metabólico.



**VII.- BIBLIOGRAFÍA**



**BIBLIOGRAFÍA ALFABETO:**

**A:**

- Addison T. Observations on fatty degeneration of the liver. *Guys Hosp. Rep.* 1836; 1, 485.

- Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, Lee A, Marczark L, Mokdad AH, Moradi-Lakeh M, Naghavi M, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med.* 2017; 377(1):13-27. doi: 10.1056/NEJMoa1614362.

- Afzali A, Weiss NS, Boyko EJ, Ioannou GN. Association between serum uric acid level and chronic liver disease in the United States. *Hepatology.* 2010; 52:578–89. doi: 10.1002/hep.23717.

- Ahrens W, Moreno LA, Mårild S, Molnár D, Siani A, De Henauw S, Böhm J, Günther K, Hadjigeorgiou C, Iacoviello L, Lissner L, Veidebaum T, Pohlmann H. Metabolic syndrome in young children: definitions and results of the IDEFICS study. *Int J Obes.* 2014; 38:S4–14. doi: 10.1038/ijo.2014.130.

- Alberti K.G.M.M, Eckel R.H, Grundy S.M, Zimmet P.Z, Cleeman J.I, Donato K.A, Fruchart J.C, James W.P.T, Loria C.M, Smith S.C. Harmonizing the metabolic syndrome: A jointinterim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International atherosclerosis society; And international association for the study of obesity. *Circulation.* 2009; 120(16):1640-5. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644.

- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15:539-53. doi: 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S.

- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366:1059-62. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67402-8.

- Ali N, Ali N, Rahman S, Islam S, Haque T, Molla NH, Sumon AH, Kathak RR, Asaduzzaman M, Islam F, Mohanto NC, Hasnat MA, Nurunnabi SM, Ahmed S. Relationship between serum uric acid and hypertension: a cross-sectional study in Bangladeshi adults. *Sci. Rep.* 2019; 9:9061. doi: 10.1038/s41598-019-45680-4.

- Ali N, Miah R, Hasan M, Barman Z, Mou AD, Hafsa JM, Trisha AD, Hasan A, Islam F. Association between serum uric acid and metabolic syndrome: a cross-sectional study in Bangladeshi adults. *Sci Rep.* 2020.12; 10(1):7841. doi: 10.1038/s41598-020-64884-7.
- Alisi A, Bedogni G, Baviera G, Giorgio V, Porro E, Paris C, Giammaria P, Reali L, Anania F, Nobili V. Randomised clinical trial: The beneficial effects of VSL#3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39:1276-85. doi: 10.1111/apt.12758.
- Alisi A, Nobili V. Non-alcoholic fatty liver disease in children now: lifestyle changes and pharmacologic treatments. *Nutrition* 2012; 28:722-26. doi: 10.1016/j.nut.2011.11.017.
- Alper AB, Jr, Chen W, Yau L, Srinivasan SR, Berenson GS, Hamm LL. Childhood Uric Acid Predicts Adult Blood Pressure. The Bogalusa Heart Study. *Hypertension* 2005; 45:34–8. doi: 10.1161/01.HYP.0000150783.79172.bb.
- Anania C, Perla FM, Olivero F, Pacifico L, Chiesa C. Mediterranean diet and nonalcoholic fatty liver disease. *Mundial J Gastroenterol.* 2018; 24:2083-94. doi: 10.3748/wjg.v24.i19.2083.
- Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015; 10:e0140908. doi: 10.1371 / journal.pone.0140908.
- Andersson C, Weeke P, Fosbøl EL, Brendorp B, Køber L, Coutinho W, Sharma AM, Van Gaal L, Finer N, James WP, Caterson ID, Rode RA, Torp-Pedersen C; SCOUT Executive Steering Committee; SCOUT investigators. Acute effect of weight loss on levels of total bilirubin in obese, cardiovascular high-risk patients: an analysis from the lead-in period of the Sibutramine Cardiovascular Outcome trial. *Metabolism.* 2009; 58:1109–15. doi: 10.1016/j.metabol.2009.04.003.
- Angelico F, Del Ben M, Conti R, Francioso S, Feole K, Fiorello S, Cavallo MG, Zalunardo B, Lirussi F, Alessandri C, Violi F. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90:1578–82. doi: 10.1210/jc.2004-1024.
- Angulo P. Long-term mortality in nonalcoholic fatty liver disease: is liver histology of any prognostic significance? *Hepatology* 2010; 51: 373-5. doi: 10.1002/hep.23521.
- Anstee QM, Neuschwander-Tetri BA, Wong VW, et al. Cenicriviroc for the treatment of liver fibrosis in adults with nonalcoholic steatohepatitis: AURORA Phase 3 study design. *Contemp Clin Trials.* 2020; 89:105922. doi: 10.1016/j.cct.2019.105922.

- Arab JP, Arrese M, Trauner M. Recent insights into the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Annu Rev Pathol.* 2018; 13:321– 50. doi: 10.1146/annurev-pathol-020117-043617.
  
- Arshad T, Golabi P, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Non-alcoholic Fatty Liver Disease in North America. *Curr Pharm Des.* 2020; 26(10):993-7. doi: 10.2174 / 1381612826666200303114934.
  
- Ashraf UN, Sheikh TA. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radic Res.* 2015; 49:405-18. doi: 10.3109/10715762.2015.1078461.
  
- Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF), Società Italiana di Diabetologia (SID). Non-alcoholic fatty liver disease in adults 2021: A clinical practice guideline of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF), the Italian Society of Diabetology (SID) and the Italian Society of Obesity (SIO) and Società Italiana dell'Obesità (SIO). *Eat Weight Disord.* 2021. doi: 10.1007/s40519-021-01287-1.
  
- Avogaro P, Crepaldi G. Essential hyperlipidemia, obesity and diabetes. *Diabetologia* 1965; 1:137.

**B:**

- Ballestri S, Nascimbeni F, Romagnoli D, Lonardo A. The independent predictors of non-alcoholic steatohepatitis and its individual histological features: Insulin resistance, serum uric acid, metabolic syndrome, alanine aminotransferase and serum total cholesterol are a clue to pathogenesis and candidate targets for treatment. *Hepatol Res.* 2016; 46:1074–87. doi: 10.1111/hepr.12656.
  
- Ballestri S, Zona S, Targher G, Romagnoli D, Baldelli E, Nascimbeni F, Roverato A, Guaraldi G, Lonardo A. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016; 31:936–44. doi: 10.1111/jgh.13264.
  
- Bambha K, Belt P, Abraham M, Wilson LA, Pabst M, Ferrell L, Unalp-Arida A, Bass N; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network Research Group. Ethnicity and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2012; 55(3):769-80. Doi: 10.1002/hep.24726.
  
- Bao T, Ying Z, Gong L, Du J, Ji G, Li Z, Gao W, Jiang X, Yang H, Huang Y, Tang H. Association between serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease in nonobese

postmenopausal women: A cross-sectional study. *Sci. Rep.* 2020; 10:10072. doi: 10.1038/s41598-020-66931-9.

- Barlow SE; Expert Committee. Expert committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: summary report. *Pediatrics.* 2007 Dec;120 Suppl 4:164-92. doi: 10.1542/peds.2007-2329C.

- Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S4-8.

- Bisoendial RJ, Boekholdt SM, Vergeer M, Stroes ES, Kastelein JJ. C-reactive protein is a mediator of cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2010; 31(17):2087-91. doi: 10.1093/eurheartj/ehq238.

- Boon AC, Hawkins CL, Bisht K, Coombes JS, Bakrania B, Wagner K, Bulmer AC. Reduced circulating oxidized LDL is associated with hypocholesterolemia and enhanced thiol status in Gilbert syndrome. *Free Radic Biol Med.* 2012; 52(10):2120–7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.002.

- Borghi C, Cicero AFG. Serum Uric Acid and Cardiometabolic Disease: Another Brick in the Wall?. *Hypertension.* 2017; 69(6):1011-3. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09081.

- Boutari C, Perakakis N, Mantzoros CS. Association of Adipokines with Development and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2018; 33:33-43. doi: 10.3803/EnM.2018.33.1.33.

- Bray GA. Fat distribution and body weight. *Obes Res.* 1993 May;1(3):203-5. doi: 10.1002/j.1550-8528.1993.tb00613.x.

- Bril F, Cusi K. Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes: A Call to Action. *Diabetes Care.* 2017; 40(3):419-30. doi: 10.2337/dc16-1787.

- Bussler S, Penke M, Flemming G, Elhassan YS, Kratzsch J, Sergeev E, et al. Novel insights in the metabolic syndrome in childhood and adolescence. *Horm Res Paediatr.* 2017; 88:181-93. doi: 10.1159/000479510.

- Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* 2015; 62:S47–64. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.

**C:**

- Caprio S, Perry R, Kursawe R. Adolescent obesity and insulin resistance: roles of ectopic fat accumulation and adipose inflammation. *Gastroenterology*. 2017; 152:1638-46. doi: 10.1053/j.gastro.2016.12.051.
  
- Cali AM, Zern TL, Taksali SE, de Oliveira AM, Dufour S, Otvos JD, Caprio S. Intrahepatic fat accumulation and alterations in lipoprotein composition in obese adolescents: a perfect proatherogenic state. *Diabetes Care*. 2007; 30(12):3093-8. doi: 10.1159/000479510.
  
- Cali AM, De Oliveira AM, Kim H, Chen S, Reyes-Mugica M, Escalera S, Dziura J, Taksali SE, Kursawe R, Shaw M, Savoye M, Pierpont B, Constable RT, Caprio S. Glucose dysregulation and hepatic steatosis in obese adolescents: is there a link? *Hepatology*. 2009; 49(6):1896–903. doi: 10.1002/hep.22858.
  
- Cândido FG, Valente FX, Grześkowiak ŁM, Moreira APB, Rocha DMUP, Alfenas RCG. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. *Int J Food Sci Nutr*. 2018 Mar; 69(2):125-43. doi: 10.1080/09637486.2017.1343286.
  
- Cao H. Adipocytokines in obesity and metabolic disease. *J Endocrinol*. 2014 Jan 8; 220(2):T47-59. doi: 10.1530/JOE-13-0339. PMID: 24403378.
  
- Cardoso AS, Gonzaga NC, Medeiros CC, Carvalho DF. Association of uric acid levels with components of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease in overweight or obese children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2013; 89(4):412-8. doi: 10.1016/j.jped.2012.12.008.
  
- Cassano V, Crescibene D, Hribal ML, Pelaia C, Armentaro G, Magurno M, Toscani A, Miceli S, Andreozzi F, Maio R, Perticone M, Sesti G, Perticone F, Sciacqua A. Uric Acid and Vascular Damage in Essential Hypertension: Role of Insulin Resistance. *Nutrients*. 2020. 12:2509. doi: 10.3390/nu12092509.
  
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt ME, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. 2012; 55 :2005-23. doi: 10.1053/j.gastro.2012.04.001.
  
- Chen QC, Xiao J, Zhang PP, Chen LL, Chen XX, Wang SM. Longitudinal Changes in Liver Aminotransferases Predict Metabolic Syndrome in Chinese Patients with Nonviral Hepatitis. *Biomed Environ Sci*. 2016; 29(4):254-66. doi: 10.3967/bes2016.033.

- Chen SCC, Huang YF, Wang JD. Hyperferritinemia and hyperuricemia may be associated with liver function abnormality in obese adolescents. *PLoS One*. 2012; 7:e48645. doi: 10.1371/journal.pone.0048645.
- Chen S, Guo X, Yu S, Sun G, Yang H, Li Z, Sun Y. Association between Serum Uric Acid and Elevated Alanine Aminotransferase in the General Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 Aug 24; 13(9):841. doi: 10.3390/ijerph13090841.
- Cho AY, Roh JG, Shim YS, Lee HS, Hwang JS. Biochemical predictors of metabolically unhealthy obesity in children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2021; 22;35(1):97-103. doi: 10.1515/jpem-2021-0542.
- Cho MH, Kim YM, Yoon JH, Kim DH, Lim JS. Serum uric acid in Korean children and adolescents: reference percentiles and association with metabolic syndrome. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2020 Jun; 25(2):104-11. doi: 10.6065/apem.1938156.078.
- Choi HK, Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. *Am J Med* 2007; 120:442–47. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.06.040.
- Choi S.S, Diehl A.M. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr. Opin. Lipidol*. 2008; 19:295–300. doi: 10.1097/MOL.0b013e3282ff5e55.
- Christensen SB, Black MH, Smith N, Martinez MM, Jacobsen SJ, Porter AH, Koebnick C. Prevalence of polycystic ovary syndrome in adolescents. *Fertil Steril*. 2013; 100(2):470-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.001.
- Cicerchi C, Li N, Kratzer J, Garcia G, Roncal-Jimenez CA, Tanabe K, Hunter B, Rivard CJ, Sautin YY, Gaucher EA, Johnson RJ, Lanaspa MA. Uric acid-dependent inhibition of AMP kinase induces hepatic glucose production in diabetes and starvation: evolutionary implications of the uricase loss in hominids. *FASEB J*. 2014; 28(8): 3339-50. doi: 10.1096/fj.13-243634.
- Cicero AFG, Fogacci F, Giovannini M, Grandi E, Rosticci M, D'Addato S, Borghi C. Serum uric acid predicts incident metabolic syndrome in the elderly in an analysis of the Brisighella Heart Study. *Sci Rep*. 2018; 8(1):11529. doi: 10.1038/s41598-018-29955-w.
- Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci*. 2013 Apr 20; 9(2):191-200. doi: 10.5114/aoms.2013.33181.
- Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*. 2011 Jun 24; 332(6037):1519-23. doi: 10.1126/science.1204265.



- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ* 2000; 320:1240–3. doi: 10.1136/bmj.320.7244.1240.
- Cole TJ, Flegal KM, Nicholls D, Jackson AA. Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. *BMJ*. 2007; 335(7612):194. doi: 10.1136/bmj.39238.399444.55.
- Connor CL. Fatty infiltration of the liver and the development of cirrhosis in diabetes and chronic alcoholism. *Am J Pathol*. 1938; 14(3):347-64.
- Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz WH. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2003; 157(8):821-7. doi: 10.1001/archpedi.157.8.821.
- Cotter T.G, Rinella, M, 2020. Nonalcoholic fatty liver disease 2020: the State of the disease. *Gastroenterology*. 2020; 158(7):1851-64. doi: 10.1053/j.gastro.2020.01.052.
- Coutinho T de A, Turner ST, Peyser PA, Bielak LF, Sheedy PF 2nd, Kullo IJ. Associations of serum uric acid with markers of inflammation, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis. *Am J Hypertens*. 2007; 20(1):83-9. doi: 10.1016/j.amjhyper.2006.06.015.
- Crespo M, Lappe S, Feldstein AE, Alkhouri N. Similarities and differences between pediatric and adult nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016; 65:1161–71. doi: 10.1016/j.metabol.2016. 01.008.

**D:**

- D’Adamo E, Castorani V, Nobili V. The liver in children with metabolic syndrome. *Front Endocrinol*. 2019; 10:514. doi: 10.3389/fendo.2019.00514.
- D’Adamo E, Santoro N, Caprio S. Metabolic síndrome in pediatrics: old concepts revised, new concepts discussed. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2013; 43:114-23. doi: 10.1016/j.cppeds.2013.02.004.
- Dalmas E, Rouault C, Abdennour M, Rovere C, Rizkalla S, Bar-Hen A, Nahon JL, Bouillot JL, Guerre-Millo M, Clément K, Poitou C. Variations in circulating inflammatory factors are related to changes in calorie and carbohydrate intakes early in the course of surgery-induced weight reduction. *Am J Clin Nutr*. 2011; 94(2):450-8. doi: 10.3945/ajcn.111.013771.

- Dalmau Serra J, Alonso Franch M, Gómez López L, Martínez Costa C, Sierra Salinas C. Obesidad Infantil. Recomendaciones del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. Parte II. Diagnóstico. Comorbilidades. Tratamiento. *An Pediat (Barc)* 2007; 66(3):294-304. doi: 10.1157/13099693.
  
- DeBoer MD, Gurka MJ, Woo JG, Morrison JA. Severity of the metabolic syndrome as a predictor of type 2 diabetes between childhood and adulthood: the Princeton Lipid Research Cohort Study. *Diabetologia*. 2015; 58(12):2745-52. doi: 10.1007/s00125-015-3759-5.
  
- DeBoer MD, Gurka MJ, Woo JG, Morrison JA. Severity of Metabolic Syndrome as a Predictor of Cardiovascular Disease Between Childhood and Adulthood: The Princeton Lipid Research Cohort Study. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 66(6):755-7. doi: 10.1016/j.jacc.2015.05.061.
  
- Dekker D, Dorresteyn MJ, Pijnenburg M, Heemskerk S, Rasing-Hoogveld A, Burger DM, Wagener FA, Smits P. The bilirubin-increasing drug atazanavir improves endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(2):458-63. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.211789.
  
- Della Corte C, Alisi A, Iorio R, Alterio A, Nobili V. Expert opinion on current therapies for nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2011; 12(12):1901-11. doi: 10.1517/14656566.2011.587123.
  
- Delli Bovi AP, Marciano F, Mandato C, Siano MA, Savoia M, Vajro P. Oxidative Stress in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. An Updated Mini Review. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 8:595371. doi: 10.3389/fmed.2021.595371.
  
- DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991; 14(3):173-94. doi: 10.2337/diacare.14.3.173.
  
- Dezsófi A, Baumann U, Dhawan A, Durmaz O, Fischler B, Hadzic N, Hierro L, Lacaille F, McLin VA, Nobili V, Socha P, Vajro P, Knisely AS; ESPGHAN Hepatology Committee. Liver biopsy in children: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015; 60(3):408-20. doi: 10.1097/MPG.0000000000000632.
  
- Dogan A, Yarlioglues M, Kaya MG, Karadag Z, Dogan S, Ardic I, Dogdu O, Kilinc Y, Zencir C, Akpek M, Ozdogru I, Oguzhan A, Kalay N. Effect of long-term and high-dose allopurinol therapy on endothelial function in normotensive diabetic patients. *Blood Press*. 2011; 20(3):182-7. doi: 10.3109/08037051.2010.538977.

- Dong H, Huang H, Yun X, Kim DS, Yue Y, Wu H, Sutter A, Chavin KD, Otterbein LE, Adams DB, Kim YB, Wang H. Bilirubin increases insulin sensitivity in leptin-receptor deficient and diet-induced obese mice through suppression of ER stress and chronic inflammation. *Endocrinology*. 2014; 155(3):818-28. doi: 10.1210/en.2013-1667.

- Duchnowicz P, Ziobro A, Rapacka E, Koter-Michalak M, Bukowska B. Changes in cholinesterase activity in blood of adolescent with metabolic syndrome after supplementation with extract from *Aronia melanocarpa*. *Biomed Res Int*. 2018; 2018:5670145. doi: 10.1155/2018/5670145

**E:**

- Edwards NL. The role of hyperuricemia in vascular disorders. *Curr. Opin. Rheumatol*. 2009; 21:132–7. doi: 10.1097/BOR.0b013e3283257b96.

- Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006; 44(4):865-73. doi: 10.1002/hep.21327.

- Enzi G, Busetto L, Inelmen EM, Coin A, Sergi G. Historical perspective: visceral obesity and related comorbidity in Joannes Baptista Morgagni's 'De sedibus et causis morborum per anatomen indagata'. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27(4):534-5. doi: 10.1038/sj.ijo.0802268.

- Eriksson JG, Kajantie E, Lampl M, Osmond C. Trajectories of body mass index amongst children who develop type 2 diabetes as adults. *J Intern Med*. 2015; 278(2):219-26. doi: 10.1111/joim.12354.

- Eslam M, Sanyal AJ, George J; International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020; 158(7):1999-2014.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2019.11.312.

- Estudio ALADINO 2015: Estudio de Vigilancia del Crecimiento, Alimentación, Actividad Física, Desarrollo Infantil y Obesidad en España 2015. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Madrid, 2016.

- Estudio ALADINO 2019: Estudio sobre Alimentación, Actividad Física, Desarrollo Infantil y Obesidad en España 2019. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Consumo. Madrid, 2020.

- Ezgü FS, Hasanoglu A, Tümer L, ÖZbay F, Aybay C, Gündüz M. Endothelial activation and inflammation in prepubertal obese Turkish children. *Metabolism*. 2005; 54:1384–9.

doi: 10.1016/j.metabol.2005.05.003.

**F:**

- Facchini F, Chen YD, Hollenbeck CB, Reaven GM. Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration. *JAMA*. 1991; 266(21):3008-11.

- Fan N, Zhang L, Xia Z, Peng L, Wang Y, Peng Y. Sex-Specific Association between Serum Uric Acid and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Type 2 Diabetic Patients. *J Diabetes Res*. 2016; 2016:3805372. doi: 10.1155/2016/3805372.

- Fang Y-L, Chen H, Wang C-L, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From “two hit theory” to “multiple hit model”. *World J Gastroenterol*. 2018; 24:2974–83. Doi: 10.3748/wjg.v24.i27.2974.

- Farrell GC, Wong VW, Chitturi S. NAFLD in Asia--as common and important as in the West. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013; 10(5):307-18. doi: 10.1038/nrgastro.2013.34.

- Feig DI. Uric acid and hypertension in adolescents. *Semin Nephrol*. 2005; 25(1):32-8. doi: 10.1016/j.semnephrol.2004.09.006.

- Feig DI, Johnson RJ. Hyperuricemia in childhood primary hypertension. *Hypertension*. 2003 Sep; 42(3):247-52. doi: 10.1161/01.HYP.0000085858.66548.59.

- Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2008; 359(17):1811-21. doi: 10.1056/NEJMra0800885.

- Feig DI, Nakagawa T, Karumanchi SA, Oliver WJ, Kang DH, Finch J, Johnson RJ. Hypothesis: Uric acid, nephron number, and the pathogenesis of essential hypertension. *Kidney Int*. 2004; 66(1):281-7. doi: 10.1111/j.1523-1755.2004.00729.x.

- Feig DI, Soletsky B, Johnson RJ. Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension: a randomized trial. *JAMA*. 2008; 300(8):924-32. doi: 10.1001/jama.300.8.924.

- Feldstein AE, Charatcharoenwitthaya P, Treeprasertsuk S, Benson JT, Enders FB, Angulo P. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut*. 2009; 58(11):1538-44. doi: 10.1136/gut.2008.171280.

- Fermin CR, Lee AM, Filipp SL, Gurka MJ, DeBoer MD. Serum alanine aminotransferase trends and their relationship with obesity and metabolic syndrome in

United States adolescents, 1999–2014. *Metab Syndr Relat Disord.* 2017; 15(6):276–82. doi: 10.1089/met.2017.0023.

- Fernández C, Lorenzo H, Vrotsou K, Aresti U, Rica I, Sánchez E. Estudio de Crecimiento de Bilbao. Curvas y Tablas de Crecimiento (Estudio transversal). Fundación Faustino Orbeago, Bilbao, ISBN 978-84-615-7707-1, 2011, 1-35.

- Foghsgaard S, Andreasen C, Vedtofte L, Andersen ES, Bahne E, Strandberg C, Buhl T, Holst JJ, Svare JA, Clausen TD, Mathiesen ER, Damm P, Gluud LL, Knop FK, Vilsbøll T. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Prevalent in Women With Prior Gestational Diabetes Mellitus and Independently Associated With Insulin Resistance and Waist Circumference. *Diabetes Care.* 2017; 40(1):109-16. doi: 10.2337/dc16-1017.

- Fonvig CE, Chabanova E, Andersson EA, Ohrt JD, Pedersen O, Hansen T, Thomsen HS, Holm JC. 1H-MRS Measured Ectopic Fat in Liver and Muscle in Danish Lean and Obese Children and Adolescents. *PLoS One.* 2015; 10(8):e0135018. doi: 10.1371/journal.pone.0135018. eCollection 2015.

- Franks PW, Hanson RL, Knowler WC, Sievers ML, Bennett PH, Looker HC. Childhood obesity, other cardiovascular risk factors, and premature death. *N Engl J Med.* 2010; 362(6):485-93. doi: 10.1056/NEJMoa0904130.

- Fukui M, Tanaka M, Shiraishi E, Harusato I, Hosoda H, Asano M, Hasegawa G, Nakamura N. Relationship between serum bilirubin and albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Kidney Int.* 2008; 74(9):1197-201. doi: 10.1038/ki.2008.398.

- Fukui M, Tanaka M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nishimura M, Iwamoto N, Ono T, Imai S, Nakamura N. Low serum bilirubin concentration in haemodialysis patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2011; 28(1):96-9. doi: 10.1111/j.1464-5491.2010.03173.x.

## G:

- Ghadge AA, Khaire AA, Kuvalekar AA. Adiponectin: A potential therapeutic target for metabolic syndrome. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018; 39:151-8. doi: 10.1016/j.cytogfr.2018.01.004.

- Ghevariya V, Sandar N, Patel K, et al. Knowing What's Out There: Awareness of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Frontiers in Medicine.* 2014; 1:4. doi: 10.3389/fmed.2014.00004.

- 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; 24: 607–13. doi: 10.3305/nh.2009.24.5.4491.

- Glen J, Floros L, Day C, Pryke R; Guideline Development Group. BMJ. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): summary of NICE guidance. 2016; 354:i4428. doi: 10.1136/bmj.i4428.
- Goicoechea M, de Vinuesa SG, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincón A, Arroyo D, Luño J. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5(8):1388-93. doi: 10.2215/CJN.01580210.
- Golabi P, Paik JM, Arshad T, Younossi Y, Mishra A, Younossi ZM. Mortality of NAFLD According to the Body Composition and Presence of Metabolic Abnormalities. *Hepatology Commun*. 2020; 4(8):1136-48. doi: 10.1002/hep4.1534.
- Goli P, Riahi R, Daniali SS, Pourmirzaei M, Kelishadi R. Association of serum uric acid concentration with components of pediatric metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. *J Res Med Sci* 2020; 25:43. doi: 10.4103/jrms.JRMS\_733\_19.
- Gong S, Song J, Wang L, Zhang S, Wang Y. Hyperuricemia and risk of nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016; 28(2):132-8. doi: 10.1097/MEG.0000000000000507.
- Goyal NP, Schwimmer JB. The Progression and Natural History of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis*. 2016; 20(2):325-38. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.003.
- Grayson PC, Kim SY, LaValley M, Choi HK. Hyperuricemia and incident hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011; 63:102–10. doi: 10.1002/acr.20344.
- Greber-Platzer S, Thajer A, Bohn S, Brunert A, Boerner F, Siegfried W, Artlich A, Moeckel A, Waldecker-Krebs H, Pauer S, Holl RW; APV-Study Group. Increased liver echogenicity and liver enzymes are associated with extreme obesity, adolescent age and male gender: analysis from the German/Austrian/Swiss obesity registry APV. *BMC Pediatr*. 2019; 19(1):332. doi: 10.1186/s12887-019-1711-4.
- Grimaldi-Bensouda L, Alperovitch A, Aubrun E, Danchin N, Rossignol M, Abenhaim L, Richette P; PGRx MI Group. Impact of allopurinol on risk of myocardial infarction. *Ann Rheum Dis*. 2015; 74(5):836-42. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202972.
- Grønbaek H, Lange A, Birkebæk NH, Holland-Fischer P, Solvig J, Hørlyck A, Kristensen K, Rittig S, Vilstrup H. Effect of a 10-week weight loss camp on fatty liver disease and insulin sensitivity in obese Danish children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 54 (2): 223-8. doi: 10.1097/MPG.0b013e31822ceddf.

- Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:399–404. doi: 10.1210/jc.2006-0513

- Guinhouya BC, Samouda H, Zitouni D, Vilhelm C, Hubert H. Evidence of the influence of physical activity on the metabolic syndrome and/or on insulin resistance in pediatric populations: a systematic review. *Int J Pediatr Obes.* 2011; 6(5-6):361-88. doi: 10.3109/17477166.2011.605896.

- Gupta N, Goel K, Shah P, Misra A. Childhood obesity in developing countries: epidemiology, determinants, and prevention. *Endocr Rev.* 2012; 33(1):48-70. doi: 10.1210/er.2010-0028.

## **H:**

- Hayden MR, Tyagi SC. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle. *Nutr Metab (Lond).* 2004; 1(1):10. doi: 10.1186/1743-7075-1-10.

- Hagman E, Besor O, Hershkop K, Santoro N, Pierpont B, Mata M, Caprio S, Weiss R. Relation of the degree of obesity in childhood to adipose tissue insulin resistance. *Acta Diabetol.* 2019; 56(2):219-26. doi: 10.1007/s00592-018-01285-3.

- Hampe CS, Shaffer ML, Roth CL. Associations between Liver Enzyme Levels and Parameters of the Metabolic Syndrome in Obese Children. *Horm Res Paediatr.* 2017; 88(3-4):265-73. doi: 10.1159/000479868.

- Han JC, Lawlor DA, Kimm SY. Childhood obesity. *Lancet.* 2010; 375(9727):1737-48. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60171-7.

- Han Y, Ma Y, Liu Y, Zhao Z, Zhen S, Yang X, Xu Z, Wen D. Plasma cholinesterase is associated with Chinese adolescent overweight or obesity and metabolic syndrome prediction. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2019; 12:685–702. doi: 10.2147/DMSO.S201594.

- Hannah WN Jr, Harrison SA. Effect of Weight Loss, Diet, Exercise, and Bariatric Surgery on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 2016; 20(2):339-50. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.008.

- Hartman C, Rennert HS, Rennert G, Elenberg Y, Zuckerman E. Prevalence of elevated liver enzymes and comorbidities in children and adolescents with overweight and obesity. *Acta Paediatr.* 2021; 110(3):985-92. doi: 10.1111/apa.15469



- Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, Sobradillo B, Zurimendi A. Curvas y tablas de crecimiento (0-18 años). Instituto de Investigación sobre Crecimiento y Desarrollo. Fundación Faustino Orbegozo, Bilbao, ISBN: 84-7391-177-6, 1988, 1-32.

- Higgins P, Walters MR, Murray HM, McArthur K, McConnachie A, Lees KR, Dawson J. Allopurinol reduces brachial and central blood pressure, and carotid intima-media thickness progression after ischaemic stroke and transient ischaemic attack: a randomised controlled trial. *Heart*. 2014; 100(14):1085-92. doi: 10.1136/heartjnl-2014-305683.

- Hong X, Wongtongkam N, Ward PR, Xiao S, Wang S, Peng Q, Zuo Q, Zeng D, Wang J, Wang C, Chen J, Zhang N. An association of serum ALT with elevated blood pressure in senior adults: a case-control study. *Clin Exp Hypertens*. 2016; 38(8):691-5. doi: 10.1080/10641963.2016.1200608

- Hotamisligil GS. Foundations of immunometabolism and implications for metabolic health and disease. *Immunity* 2017; 47:406–20. doi: 10.1016/j.immuni.2017.08.009.

- Hulsegge G, Herber-Gast GC, Spijkerman AM, Susan H, Picavet J, van der Schouw YT, Bakker SJ, Gansevoort RT, Dollé ME, Smit HA, Monique Verschuren WM. Obesity and Age-Related Changes in Markers of Oxidative Stress and Inflammation Across Four Generations. *Obesity (Silver Spring)*. 2016; 24(6):1389-96. doi: 10.1002/oby.21515.

## **I:**

- Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Nagai R, Yamakado M. Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25(5):1038-44. doi:10.1161/01.ATV.0000161274.87407.26

## **J:**

- Jain V, Jana M, Upadhyay B, Ahmad N, Jain O, Upadhyay AD, Ramakrishnan L, Vikram NK. Prevalence, clinical & biochemical correlates of non-alcoholic fatty liver disease in overweight adolescents. *Indian J Med Res*. 2018; 148(3):291-301. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_1966\_16.

- Janičko M, Veselíny E, Orenčák R, Husťak R, Fedačko J, Dražilová S, Madarasová-Gecková A, Mareková M, Pella D, Kristián P, Rác M, Jarčuška P; HepaMeta Study Group. Redefining the alanine aminotransferase upper limit of normal improves the



prediction of metabolic syndrome risk. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2015; 27(4):405–11. doi: 10.1097/MEG.0000000000000297.

- Jenko-Pražnikar Z, Petelin A, Jurdana M, Žiberna L. Serum bilirubin levels are lower in overweight asymptomatic middle-aged adults: an early indicator of metabolic syndrome? *Metabolism.* 2013; 62(7):976–85. doi: 10.1016/j.metabol.2013.01.011.

- Jeong J, Suh YJ. Association between Serum Uric Acid and Metabolic Syndrome in Koreans. *J Korean Med Sci.* 2019; 16;34(48):e307. doi: 10.3346/jkms.2019.34.e307.

- Jiménez-Cortegana C, García-Galey A, Tami M, Del Pino P, Carmona I, López S, Alba G, Sánchez-Margalet V. Role of Leptin in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Biomedicines.* 2021; 9(7):762. doi: 10.3390/biomedicines9070762.

- Jones DP, Richey PA, Alpert BS, Li R. Serum uric acid and ambulatory blood pressure in children with primary hypertension. *Pediatr Res.* 2008; 64(5):556-61. doi: 10.1203/PDR.0b013e318183fd7c.

- Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Sautin YY, Manitius J, Sanchez-Lozada LG, Feig DI, Shafiu M, Segal M, Glasscock RJ, Shimada M, Roncal C, Nakagawa T. Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocr Rev.* 2009; 30(1):96-116. doi: 10.1210/er.2008-0033.

- Juonala M, Magnussen CG, Berenson GS, Venn A, Burns TL, Sabin MA, Srinivasan SR, Daniels SR, Davis PH, Chen W, Sun C, Cheung M, Viikari JS, Dwyer T, Raitakari OT. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. *N Engl J Med.* 2011; 365(20):1876-85. doi: 10.1056/NEJMoa1010112.

- Jung KY, Cho SY, Kim HJ, Kim SB, Song IH. Nonalcoholic steatohepatitis associated with metabolic syndrome: Relationship to insulin resistance and liver histology. *J Clin Gastroenterol.* 2014; 48:883–8. doi: 10.1097/MCG.0000000000000065.

**K:**

- Kao MP, Ang DS, Gandy SJ, Nadir MA, Houston JG, Lang CC, Struthers AD. Allopurinol benefits left ventricular mass and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22(7):1382-9. doi: 10.1681/ASN.2010111185.

- Kanbay M, Huddam B, Azak A, Solak Y, Kadioglu GK, Kirbas I, Duranay M, Covic A, Johnson RJ. A randomized study of allopurinol on endothelial function and estimated glomerular filtration rate in asymptomatic hyperuricemic subjects with normal renal function. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011; 6(8):1887-94. doi: 10.2215/CJN.11451210.

- Kanbay M, Jensen T, Solak Y, Le M, Roncal-Jimenez C, Rivard C, Lanaspa MA, Nakagawa T, Johnson RJ. Uric acid in metabolic syndrome: From an innocent bystander to a central player. *Eur J Intern Med.* 2016; 29:3-8. doi: 10.1016/j.ejim.2015.11.026.
- Kanbay M, Segal M, Afsar B, Kang DH, Rodriguez-Iturbe B, Johnson RJ. The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease. *Heart.* 2013; 99(11):759-66. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302535.
- Kang Y, Park S, Kim S, Koh H. Normal serum alanine aminotransferase and non-alcoholic fatty liver disease among Korean adolescents: a cross-sectional study using data from KNHANES 2010-2015. *BMC Pediatr.* 2018; 18:215. doi: 10.1186/s12887-018-1202-z.
- Karjoo S. Is there an association of vascular disease and atherosclerosis in children and adolescents with obesity and non-alcoholic fatty liver disease?. *Front Pediatr.* 2018; 6:345. doi: 10.3389/fped.2018.00345.
- Kelly AS, Barlow SE, Rao G, Inge TH, Hayman LL, Steinberger J, Urbina EM, Ewing LJ, Daniels SR. Severe obesity in children and adolescents: identification, associated health risks, and treatment approaches: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2013; 128:1689–712. doi: 10.1161/CIR.0b013e3182a5cfb3.
- Kent JW Jr, Comuzzie AG, Mahaney MC, Almasy L, Rainwater DL, VandeBerg JL, MacCluer JW, Blangero J. Intercellular adhesion molecule-1 concentration is genetically correlated with insulin resistance, obesity, and HDL concentration in Mexican Americans. *Diabetes* 2004; 53:2691–5. doi: 10.2337/diabetes.53.10.2691.
- Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, Nakagawa T, Roncal C, Mu W, Krotova K, Block ER, Prabhakar S, Johnson RJ. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int.* 2005; 67(5):1739-42. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00273.x.
- Kimura Y, Yanagida T, Onda A, Tsukui D, Hosoyamada M, Kono H. Soluble Uric Acid Promotes Atherosclerosis via AMPK (AMP-Activated Protein Kinase)-Mediated Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020; 40(3):570-82. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313224.
- Klisic, A., Kavacic, N., & Ninic, A. Predictive values of serum uric acid and Alanine-aminotransferase for fatty liver index in Montenegrin population. *J Medical Biochem* 2019; 38(4):407–17. doi: 10.2478/jomb-2019-0001.
- Körner A, Kratzsch J, Gausche R, Schaab M, Erbs S, Kiess W. New predictors of the metabolic syndrome in children--role of adipocytokines. *Pediatr Res.* 2007; 61(6):640-5. doi: 10.1203/01.pdr.0000262638.48304.ef.

- Koutny F, Weghuber D, Bollow E, Greber-Platzer S, Hartmann K, Körner A, Reinehr T, Roehl M, Simic-Schleicher G, Wabitsch M, Widhalm K, Wiegand S, Holl RW. Prevalence of prediabetes and type 2 diabetes in children with obesity and increased transaminases in European German-speaking countries. Analysis of the APV initiative. *Pediatr Obes.* 2020; 15:e12601. doi: 10.1111/ijpo.12601.

- Krebs NF, Himes JH, Jacobson D, Nicklas TA, Guilday P, Styne D. Assessment of child and adolescent overweight and obesity. *Pediatrics.* 2007; 120 Suppl 4:S193-228. doi: 10.1542/peds.2007-2329D.

- Krishnan E, Pandya BJ, Chung L, Hariri A, Dabbous O. Hyperuricemia in young adults and risk of insulin resistance, prediabetes, and diabetes: a 15-year follow-up study. *Am J Epidemiol.* 2012; 176(2):108-16. doi: 10.1093/aje/kws002.

- Kylin E. Studien ueber das hypertonie-hyperglykamie-hyperurikamiesyndrom. *Zentralblatt fuer Innere Medizin* 1923; 44 :105-27.

L:

- Lanaspa M.A, Sanchez-Lozada L.G, Choi Y.J, Cicerchi C, Kanbay M, Roncal-Jimenez C.A, Ishimoto T, Li N, Marek G, Duranay M, et al. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidativestress: Potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. *J. Biol. Chem.* 2012; 287:40732–44. doi: 10.1074/jbc.M112.399899.

- Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Abrams SH, Scheimann AO, Sanyal AJ, Chalasani N, Tonascia J, Ünalp A, Clark JM, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA.* 2011; 305(16):1659-68. doi: 10.1001/jama.2011.520.

- Lee AM, Gurka MJ, DeBoer MD. Trends in Metabolic Syndrome Severity and Lifestyle Factors Among Adolescents. *Pediatrics.* 2016; 137(3):e20153177. doi: 10.1542/peds.2015-3177.

- Lee SH, Cho DY, Joo NS, Kim KM, Kim KN. The relationship of alanine aminotransferase to metabolic syndrome in a Korean population. *Turk J Gastroenterol.* 2018; 29(1):52-60. doi: 10.5152/tjg.2018.17333.

- Lee SW, Lee TY, Yang SS, Peng YC, Yeh HZ, Chang CS. The association of non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in a Chinese population.

Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2017; 16(2):176-80. doi: 10.1016/s1499-3872(16)60132-7.

- Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002; 23:201–29. doi: 10.1210/edrv.23.2.0461.

- Li L, Zhang Y, Zeng C. Update on the epidemiology, genetics, and therapeutic options of hyperuricemia. *Am J Transl Res.* 2020; 12(7):3167-81.

- Li M, Hu X, Fan Y, Li K, Zhang X, Hou W, Tang Z. Hyperuricemia and the Risk of Coronary Heart Disease Morbidity and Mortality a Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *Ciencia Rep.* 2016; 6:19520. doi: 10.1038/srep19520.

- Li Y, Xu C, Yu C, Xu L, Miao M. Association of serum uric acid level with non-alcoholic fatty liver disease: A cross-sectional study. *J. Hepatol.* 2009; 50:1029–34. doi: 10.1016/j.jhep.2008.11.021.

- Lin KH, Yen FS, Chen HS, Hwu CM, Yang CC. Serum uric acid and blood pressure among adolescents: data from the Nutrition and Health Survey in Taiwan (NAHSIT) 2010-2011. *Blood Press.* 2021; 30(2):118-25. doi: 10.1080/08037051.2020.1848417.

- Litwin M, Michałkiewicz J, Niemirska A, Gackowska L, Kubiszewska I, Wierzbicka A, Wawer ZT, Janas R. Inflammatory activation in children with primary hypertension. *Pediatr Nephrol.* 2010; 25(9):1711-8. doi: 10.1007/s00467-010-1548-4.

- Liu CC, Ko HJ, Liu WS, Hung CL, Hu KC, Yu LY, Shih SC. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictive marker of metabolic syndrome. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(43):e17537. doi: 10.1097/MD.00000000000017537.

- Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980; 55(7):434-8.

## **M:**

- Madeira I, Bordallo MA, Rodrigues NC, Carvalho C, Gazolla F, Collett-Solberg P, Medeiros C, Bordallo AP, Borges M, Monteiro C, Ribeiro R. Leptin as a predictor of metabolic syndrome in prepubertal children. *Arch Endocrinol Metab.* 2017; 61(1):7-13. doi: 10.1590/2359-3997000000199.

- Magge SN, Goodman E, Armstrong SC; COMMITTEE ON NUTRITION; SECTION ON ENDOCRINOLOGY; SECTION ON OBESITY. The Metabolic Syndrome in

Children and Adolescents: Shifting the Focus to Cardiometabolic Risk Factor Clustering. *Pediatrics*. 2017; 140(2):e20171603. doi: 10.1542/peds.2017-1603.

- Magnussen CG, Koskinen J, Chen W, Thomson R, Schmidt MD, Srinivasan SR, Kivimäki M, Mattsson N, Kähönen M, Laitinen T, Taittonen L, Rönnemaa T, Viikari JS, Berenson GS, Juonala M, Raitakari OT. Pediatric metabolic syndrome predicts adulthood metabolic syndrome, subclinical atherosclerosis, and type 2 diabetes mellitus but is no better than body mass index alone: the Bogalusa Heart Study and the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation*. 2010; 122(16):1604-11. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.940809.

- Mann JP, Raponi M, Nobili V. Clinical implications of understanding the association between oxidative stress and pediatric NAFLD. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 11:371-82. doi: 10.1080/17474124.2017.1291340.

- Mann JP, Valenti L, Scorletti E, Byrne CD, Nobili V. Nonalcoholic fatty liver disease in children. *Semin Liver Dis*. 2018; 38:1-13. doi: 10.1055/s-0038-1627456.

- Marchesini G., Brizi M., Morselli-Labate A.M., Bianchi G., Bugianesi E., McCullough A.J., Forlani G., Melchionda N. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am. J. Med*. 1999; 107:450–5. doi: 10.1016/S0002-9343(99)00271-5.

- Mărginean CO, Meliș LE, Ghiga DV, Mărginean MO. Early Inflammatory Status Related to Pediatric Obesity. *Front Pediatr*. 2019; 7:241. doi: 10.3389/fped.2019.00241.

- Maruhashi T, Hisatome I, Kihara Y, Higashi Y. Hyperuricemia and endothelial function: From molecular background to clinical perspectives. *Atherosclerosis*. 2018; 278:226-31. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.10.007.

- Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. *J Atheroscler Thromb*. 2011; 18(8):629-39. doi: 10.5551/jat.7922.

- McGill HC Jr, McMahan CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP; Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation*. 2002; 105(23):2712-8. doi: 10.1161/01.cir.0000018121.67607.ce.

- Mead E, Brown T, Rees K, Azevedo LB, Whittaker V, Jones D, Olajide J, Mainardi GM, Corpeleijn E, O'Malley C, Beardsmore E, Al-Khudairy L, Baur L, Metzendorf MI, Demaio A, Eells LJ. Diet, physical activity and behavioural interventions for the treatment of overweight or obese children from the age of 6 to 11 years. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 22;6(6):CD012651. doi: 10.1002/14651858.CD012651.

- 
- Meek TH, Morton GJ. The role of leptin in diabetes: metabolic effects. *Diabetologia*. 2016; 59(5):928-32. doi: 10.1007/s00125-016-3898-3.
  
  - Meisinger C, Koenig W, Baumert J, Döring A. Uric acid levels are associated with all-cause and cardiovascular disease mortality independent of systemic inflammation in men from the general population: the MONICA/KORA cohort study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28:1186–92. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.160184.
  
  - Menè P, Punzo G. Uric acid: bystander or culprit in hypertension and progressive renal disease?. *J Hypertens*. 2008; 26(11):2085-92. doi: 10.1097/HJH.0b013e32830e4945.
  
  - Meléndez-Ramírez G, Pérez-Méndez O, López-Osorio C, Kuri-Alfaro J, Espinola-Zavaleta N. Effect of the treatment with allopurinol on the endothelial function in patients with hyperuricemia. *Endocr Res* 2012; 37:1–6. doi: 10.3109/07435800.2011.566235.
  
  - Melissas J, Malliaraki N, Papadakis JA, Taflampas P, Kampa M, Castanas E. Plasma antioxidant capacity in morbidly obese patients before and after weight loss. *Obes Surg*. 2006; 16:314–20. doi:10.1381/096089206776116444.
  
  - Mohammed Edlam et al. Defining paediatric metabolic (dysfunction)-associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2021. doi:10.1016/S2468-1253(21)00183-7.
  
  - Molla N.H, Kathak R.R, Sumon A.H. et al. Assessment of the relationship between serum uric acid levels and liver enzymes activity in Bangladeshi adults. *Sci Rep* 11 2021; 20114. doi: 10.1038/s41598-021-86216-z.
  
  - Moran JR, Ghishan FK, Halter SA, Greene HL. Steatohepatitis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction. *Am J Gastroenterol*. 1983; 78(6):374-7.
  
  - Morrison JA, Friedman LA, Gray-McGuire C. Metabolic syndrome in childhood predicts adult cardiovascular disease 25 years later: the Princeton Lipid Research Clinics Follow-up Study. *Pediatrics*. 2007; 120:340– 5. doi: 10.1542/peds.2006-1699.
  
  - Morrison JA, Friedman LA, Wang P, Glueck CJ. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *J Pediatr*. 2008; 152(2):201-6. doi: 10.1016/j.jpeds.2007.09.010.
  
  - Mosca A, Nobili V, De Vito R, Crudele A, Scorletti E, Villani A, Alisi A, Byrne CD. Serum uric acid concentrations and fructose consumption are independently associated with NASH in children and adolescents. *J Hepatol*. 2017; 66(5):1031-6. doi: 10.1016/j.jhep.2016.12.025.

- Motamed N, Rabiee B, Poustchi H, Dehestani B, Hemasi GR, Khonsari MR, Maadi M, Saeedian FS, Zamani F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and 10-year risk of cardiovascular diseases. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2017; 41:31–8. doi: 10.1016/j.clinre.2016.07.005.

- Moulin-Mares SRA, Oliosá PR, Faria ER, Zago-Gomes MP, Mill JG. Association of uric acid with cardiovascular risk in Brazilian children and adolescents. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2021; 31(1):314-21. doi: 10.1016/j.numecd.2020.09.012.

- Muir SW, Harrow C, Dawson J, Lees KR, Weir CJ, Sattar N, Walters MR. Allopurinol use yields potentially beneficial effects on inflammatory indices in those with recent ischemic stroke: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Stroke*. 2008; 39(12):3303-7. doi: 10.1161/STROKEAHA.108.519793.

**N:**

- Nakanishi N, Suzuki K, Kawashimo H, Nakamura K, Tatara K. Serum uric acid: correlation with biological, clinical and behavioral factors in Japanese men. *J Epidemiol*. 1999; 9(2):99-106. doi: 10.2188/jea.9.99.

- Nappo A, González-Gil EM, Ahrens W, Bammann K, Michels N, Moreno LA, Y Kourides Y, Iacoviello L, Mårild S, Fraterman A, Molnár D, Veidebaum T, Siani A, Russo P. Analysis of the association of leptin and adiponectin concentrations with metabolic syndrome in children: Results from the IDEFICS study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2017; 27(6):543-51. doi:10.1016/j.numecd.2017.04.003.

- Neuschwander-Tetri BA. Enfermedad del hígado graso no alcohólico. *BMC Med*. 2017; 15:45. doi: 10.1186/s12916-017-0806-8.

- Nightingale CM, Rudnicka AR, Owen CG, Wells JC, Sattar N, Cook DG, Whincup PH. Influence of adiposity on insulin resistance and glycemia markers among U.K. children of south Asian, black African-Caribbean, and white European origin: child heart and health study in England. *Diabetes Care*. 2013; 36:1712–9. doi: 10.2337/dc12-1726.

- Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyysönen K, Alftan G, Lakka HM, Lakka TA, Salonen JT. Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men. *Arch Intern Med* 2004; 164:1546–51. doi: 10.1001/archinte.164.14.1546.

- Niu Y, Tang Q, Zhao X, Zhao X, Mao X, Sheng J, Cai W, Feng Y. Obesity-Induced Insulin Resistance Is Mediated by High Uric Acid in Obese Children and Adolescents. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12:773820. doi: 10.3389/fendo.2021.773820.



- Niu Y, Zhao XL, Ruan HJ, Mao XM, Tang QY. Uric acid is associated with adiposity factors, especially with fat mass reduction during weight loss in obese children and adolescents. *Nutr Metab (Lond)*. 2020; 17:79. doi: 10.1186/s12986-020-00500-9.
  
- Nobili V, Alisi A, Valenti L, Miele L, Feldstein AE, Alkhoury N. NAFLD in children: new genes, new diagnostic modalities and new drugs. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16:517–30. doi: 10.1038/s41575-019-0169-z.
  
- Nobili V, Alkhoury N, Alisi A, Della Corte C, Fitzpatrick E, Raponi M, Dhawan A. Nonalcoholic fatty liver disease: a challenge for pediatricians. *JAMA Pediatr*. 2015; 169:170-6. doi:10.1001/jamapediatrics.2014.2702.
  
- Nobili V, Marcellini M, Devito R, Ciampalini P, Piemonte F, Comparcola D, Sartorelli MR, Angulo P. NAFLD in children: a prospective clinical-pathological study and effect of lifestyle advice. *Hepatology*. 2006; 44:458-65. doi:10.1002/hep.21262.
  
- Nobili V, Svegliati-Baroni G, Alisi A, Miele L, Valenti L, Vajro P. A 360-degree overview of paediatric NAFLD: recent insights. *J Hepatol*. 2013; 58:1218-29. doi: 10.1016/j.jhep.2012.12.003.
  
- Noman A, Ang DS, Ogston S, Lang CC, Struthers AD. Effect of high-dose allopurinol on exercise in patients with chronic stable angina: a randomised, placebo controlled crossover trial. *Lancet*. 2010; 375(9732):2161-7. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60391-1.

**O:**

- Oberbach A, Neuhaus J, Inge T, Kirsch K, Schlichting N, Blüher S, Kullnick Y, Kugler J, Baumann S, Till H. Bariatric surgery in severely obese adolescents improves major comorbidities including hyperuricemia. *Metabolism* 2014; 63: 242–9. doi: 10.1016/j.metabol.2013.11.012.
  
- Ogden CL, Carroll MD, Lawman HG, Fryar CD, Kruszon-Moran D, Kit BK, Flegal KM. Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014. *JAMA*. 2016; 315(21):2292-9. doi: 10.1001/jama.2016.6361.
  
- Ogino K, Kato M, Furuse Y, Kinugasa Y, Ishida K, Osaki S, Kinugawa T, Igawa O, Hisatome I, Shigemasa C, Anker SD, Doehner W. Uric acid-lowering treatment with benzbromarone in patients with heart failure: a double-blind placebo-controlled crossover preliminary study. *Circ Heart Fail*. 2010; 3(1):73-81. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.868604.



- Ohnaka K, Kono S, Inoguchi T, Yin G, Morita M, Adachi M, Kawate H, Takayanagi R. Inverse associations of serum bilirubin with high sensitivity C-reactive protein, glycated hemoglobin, and prevalence of type 2 diabetes in middle-aged and elderly Japanese men and women. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 88(1):103–10. doi: 10.1016/j.diabres.2009.12.022.
- Oliveira AC, Oliveira AM, Adan LF, Oliveira NF, Silva AM, Ladeia AM. C-reactive protein and metabolic syndrome in youth: a strong relationship? *Obesity (Silver Spring).* 2008 May;16(5):1094-8. doi: 10.1038/oby.2008.43. Epub 2008 Mar 6. Retraction in: Oliveira AC, Oliveira AM, Adan LF, Oliveira NF, Silva AM, Ladeia AM. *Obesity (Silver Spring).* 2009; 17(6):1113.
- Olza J, Aguilera CM, Gil-Campos M, Leis R, Bueno G, Valle M, Cañete R, Tojo R, Moreno LA, Gil A. Waist-to-height ratio, inflammation and CVD risk in obese children. *Public Health Nutr.* 2014; 17(10):2378-85. doi: 10.1017/S1368980013003285.
- Onat A, Uyarel H, Hergenç G, Karabulut A, Albayrak S, Sari I, Yazici M, Keleş I. Serum uric acid is a determinant of metabolic syndrome in a populationbased study. *Am J Hypertens* 2006; 19:1055–62. doi: 10.1016/j.amjhyper.2006.02.014.
- Organización Mundial de la Salud. Informe de la Comisión para acabar con la obesidad infantil. 69.<sup>a</sup> Asamblea Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza. 2015.
- Organización Mundial de la Salud. Obesity and overweight. 2016; Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
- Organización Mundial de la Salud. Obesity and overweight. 2021; Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

**P:**

- Pacifico L, Cantisani V, Anania C, Bonaiuto E, Martino F, Pascone R, Chiesa C. Serum uric acid and its association with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in obese children. *Eur J Endocrinol* 2009; 160:45–52. doi: 10.1530/EJE-08-0618.
- Pacifico L, Perla FM, Roggini M, Andreoli G, D'Avanzo M, Chiesa C. A Systematic Review of NAFLD-Associated Extrahepatic Disorders in Youths. *J Clin Med.* 2019; 8(6):868. doi: 10.3390/jcm8060868.

- Patton HM, Yates K, Unalp-Arida A, Behling CA, Huang TTK, Rosenthal P, et al. Association between metabolic syndrome and liver histology among children with non-alcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2010; 105:2093-102. doi: 10.1038/ajg.2010.152.
  
- Pardo V, González-Rodríguez Á, Muntané J, Kozma SC, Valverde ÁM. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food Chem Toxicol.* 2015; 80:298–309. doi: 10.1016/j.fct.2015.03.029.
  
- Park JH, Kim SH, Park S, Park MJ. Alanine aminotransferase and metabolic syndrome in adolescents: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey Study. *Pediatr Obes.* 2014; 9:411–8. doi: 10.1111/j.2047-6310.2013.00199.x.
  
- Patel S, Lawlor DA, Ferreira DL, Hughes AD, Chaturvedi N, Callaway M, Day C, Sattar N, Fraser A. The association of nonalcoholic fatty liver disease with central and peripheral blood pressure in adolescence: findings from a cross-sectional study. *J Hypertens.* 2015; 33(3):546-52. doi:10.1097/HJH.0000000000000445.
  
- Peng L, Wu S, Zhou N, Zhu S, Liu Q, Li X. Clinical characteristics and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in children with obesity. *BMC Pediatr.* 2021; 21(1):122. doi: 10.1186/s12887-021-02595-2.
  
- Peplies J, Börnhorst C, Günther K, Fraterman A, Russo P, Veidebaum T, Tornaritis M, De Henauw S, Marild S, Molnar D, Moreno LA, Ahrens W; IDEFICS consortium. Longitudinal associations of lifestyle factors and weight status with insulin resistance (HOMA-IR) in preadolescent children: the large prospective cohort study IDEFICS. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2016; 13(1):97. doi:10.1186/s12966-016-0424-4.
  
- Petelin A, Jurdana M, Jenko Pražnikar Z, Žiberna L. Serum bilirubin correlates with serum adipokines in normal weight and overweight asymptomatic adults. *Acta Clin Croat.* 2020; 59(1):19-29. doi: 10.20471/acc.2020.59.01.03.
  
- Pimpin L, Cortez-Pinto H, Negro F, Corbould E, Lazarus JV, Webber L, Sheron N; EASL HEPAHEALTH Steering Committee. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *J Hepatol.* 2018; 69(3):718-35. doi: 10.1016/j.jhep.2018.05.011.
  
- Pinheiro Volp AC, Santos Silva FC, Bressan J. Hepatic inflammatory biomarkers and its link with obesity and chronic diseases. *Nutr Hosp.* 2015; 31(5):1947-56. doi: 10.3305/nh.2015.31.5.8525.

- Pirgon O, Bilgin H, Çekmez F, Kurku H, Dundar BN. Association between insulin resistance and oxidative stress parameters in obese adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2013; 5:33-9. doi: 10.4274/Jcrpe.825.
- Polyzos SA, Toulis KA, Goulis DG, Zavos C, Kountouras J. Serum total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and metaanalysis. *Metabolism*. 2011; 60:313–26. doi: 10.1016/j.metabol.2010.09.003.
- Putri RR, Casswall T, Hagman E. Prevalence of increased transaminases and its association with sex, age, and metabolic parameters in children and adolescents with obesity - a nationwide cross-sectional cohort study. *BMC Pediatr*. 2021; 21(1):271. doi: 10.1186/s12887-021-02747-4.

**Q:**

- Qin L, Yang Z, Gu H, Lu S, Shi Q, Xing Y, Li X, Li R, Ning G, Su Q. Association between serum uric acid levels and cardiovascular disease in middle-aged and elderly Chinese individuals. *BMC Cardiovasc Disord*. 2014; 14:26. doi: 10.1186/1471-2261-14-26.
- Quinones Galvan A, Natali A, Baldi S., Frascerra S, Sanna G, Ciociaro D, Ferrannini E. Effect of insulin on uric acid excretion in humans. *Am J Physiol*. 1995; 268(1 Pt 1):E1-5. doi: 10.1152/ajpendo.1995.268.1.E1.

**R:**

- Rajjo T, Almasri J, Al Nofal A, Farah W, Alsawas M, Ahmed AT, Mohammed K, Kanwar A, Asi N, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH. The Association of Weight Loss and Cardiometabolic Outcomes in Obese Children: Systematic Review and Meta-regression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017; 102(3):758-62. doi: 10.1210/jc.2016-2575.
- Reinehr T, Andler W. Changes in the atherogenic risk-factor profile according to degree of weight loss. *Arch Dis Child* 2004; 89:419-22. doi: 10.1136/adc.2003.028803.
- Rajjo T, Mohammed K, Alsawas M, Ahmed AT, Farah W, Asi N, Almasri J, Prokop LJ, Murad MH. Treatment of Pediatric Obesity: An Umbrella Systematic Review. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017; 102(3):763-75. doi: 10.1210/jc.2016-2574.
- Reinehr T, Kiess W, Kapellen T, Andler W. Insulin sensitivity in obese children and adolescents according to degree of weight loss. *Pediatrics* 2004; 114:1569-73. doi: 10.1542/peds.2003-0649-F.

- Reinehr T, Wiegand S, Siegfried W, Keller KM, Widhalm K, l'Allemand D, Zwiauer K, Holl RW. Comorbidities in overweight children and adolescents: do we treat them effectively? *Int J Obes (Lond)*. 2013; 37(4):493-9. doi: 10.1038/ijo.2012.184.
  
- Reinehr T, Roth CL. Inflammation Markers in Type 2 Diabetes and the Metabolic Syndrome in the Pediatric Population. *Curr Diab Rep*. 2018; 18(12):131. doi: 10.1007/s11892-018-1110-5.
  
- Putri RR, Casswall T, Hagman E. Prevalence of increased transaminases and its association with sex, age, and metabolic parameters in children and adolescents with obesity - a nationwide cross-sectional cohort study. *BMC Pediatr*. 2021; 21(1):271. doi: 10.1186/s12887-021-02747-4.
  
- Roman YM. The Daniel K. Inouye College of Pharmacy Scripts: Perspectives on the Epidemiology of Gout and Hyperuricemia. *Hawaii J Med Public Health*. 2019; 78(2):71-76.
  
- Rosqvist F, Iggman D, Kullberg J, Cedernaes J, Johansson HE, Larsson A, Johansson L, Ahlström H, Arner P, Dahlman I, Risérus U. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans. *Diabetes*. 2014; 63(7):2356-68. doi: 10.2337/db13-1622.
  
- Rotundo L, Persaud A, Feurdean M, Ahlawat S, Kim HS. The Association of leptin with severity of non-alcoholic fatty liver disease: A population-based study. *Clin Mol Hepatol*. 2018; 24:392-401. doi: 10.3350/cmh.2018.0011.
  
- Ruggiero C, Cherubini A, Ble A, Bos AJ, Maggio M, Dixit VD, Lauretani F, Bandinelli S, Senin U, Ferrucci L. Uric acid and inflammatory markers. *Eur Heart J*. 2006; 27(10):1174-81. doi: 10.1093/eurheartj/ehi879.

**S:**

- Samson SL, Garber AJ. Metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014; 43(1):1-23. doi: 10.1016/j.ecl.2013.09.009.
  
- Salomone F, Li Volti G, Rosso C, Grosso G, Bugianesi E. Unconjugated bilirubin, a potent endogenous antioxidant, is decreased in patients with non-alcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28:1202–8. doi: 10.1111/jgh.12155.

- Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2017; 27(1):1-4. doi: 10.1172/JCI92035.
- Sautin YY, Nakagawa T, Zharikov S, Johnson RJ. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007; 293(2):C584-96. doi: 10.1152/ajpcell.00600.2006.
- Schaffner F, Thaler H. Nonalcoholic fatty liver disease. *Prog Liver Dis.* 1986; 8:283-98.
- Scheitel MR, Kessler ME, Shellum JL, Peters SG, Milliner DS, Liu H, Komandur Elayavilli R, Poterack KA, Miksch TA, Boysen J, Hankey RA, Chaudhry R. Effect of a Novel Clinical Decision Support Tool on the Efficiency and Accuracy of Treatment Recommendations for Cholesterol Management. *Appl Clin Inform.* 2017; 8(1):124-36. doi: 10.4338/ACI-2016-07-RA-0114.
- Schwimmer JB, Deutsch R, Rauch JB, Behling C, Newbury R, Lavine JE. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr.* 2003; 143(4):500-5. doi: 10.1067/S0022-3476(03)00325-1.
- Schwimmer JB, Dunn W, Norman GJ, Pardee PE, Middleton MS, Kerkar N, Sirlin CB. SAFETY study: alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology.* 2010; 138(4):1357-64, 1364.e1-2. doi: 10.1053/j.gastro.2009.12.052.
- Schwimmer JB, Newton KP, Awai HI, Choi LJ, Garcia MA, Ellis LL, Vanderwall K, Fontanesi J. Paediatric gastroenterology evaluation of overweight and obese children referred from primary care for suspected non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 38:1267–77. doi: 10.1111/apt.12518.
- Schwimmer JB, Pardee PE, Lavine JE, Blumkin AK, Cook S. Cardiovascular risk factors and the metabolic syndrome in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Circulation.* 2008; 118(3):277-83. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.739920.
- Schwimmer JB, Zepeda A, Newton KP, Xanthakos SA, Behling C, Hallinan EK, Donithan M, Tonascia J. Longitudinal assessment of high blood pressure in children with nonalcoholic fatty liver disease. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. *PLoS One.* 2014; 24:9(11):e112569. doi: 10.1371/journal.pone.0112569.
- Scott FW, Trick KD, Stavric B, Braaten JT, Siddiqui Y. Uric acid-induced decrease in rat insulin secretion. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1981; 166(1):123-8. doi: 10.3181/00379727-166-41033.

- Shi Y, Wang Q, Sun Y, Zhao X, Kong Y, Ou X, et al. The Prevalence of Lean/Nonobese Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2020; 54:378-87. doi: 10.1097/MCG.0000000000001270.
  
- Shih MH, Lazo M, Liu SH, Bonekamp S, Hernaez R, Clark JM. Association between serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease in the US population. *J Formos Med Assoc*. 2015; 114(4):314-20. doi: 10.1016/j.jfma.2012.11.014.
  
- Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med*. 2014; 371(23):2237-8. doi: 10.1056/NEJMc1412427.
  
- Siddiqui MS, Sterling RK, Luketic VA, Puri P, Stravitz RT, Bouneva I, Boyett S, Fuchs M, Sargeant C, Warnick GR, Grami S, Sanyal AJ. Association between high-normal levels of alanine aminotransferase and risk factors for atherogenesis. *Gastroenterology*. 2013; 145:1271–9. doi: 10.1053/j.gastro.2013.08.036.
  
- Simmonds M, Llewellyn A, Owen CG, Woolacott N. Predicting adult obesity from childhood obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2016; 17(2):95-107. doi: 10.1111/obr.12334.
  
- Sinn DH, Kang D, Chang Y, Ryu S, Gu S, Kim H, Seong D, Cho SJ, Yi BK, Park HD, Paik SW, Song YB, Lazo M, Lima JA, Guallar E, Cho J, Gwak GY. Non-alcoholic fatty liver disease and progression of coronary artery calcium score: a retrospective cohort study. *Gut*. 2017; 66(2):323-9. doi: 10.1136/gutjnl-2016-311854.
  
- Sirota JC, McFann K, Targher G, Johnson RJ, Chonchol M, Jalal DI. Elevated serum uric acid levels are associated with non-alcoholic fatty liver disease independently of metabolic syndrome features in the United States: Liver ultrasound data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Metabolism*. 2013; 62(3):392-9. doi: 10.1016/j.metabol.2012.08.013.
  
- Skinner AC, Perrin EM, Moss LA, Skelton JA. Cardiometabolic Risks and Severity of Obesity in Children and Young Adults. *N Engl J Med*. 2015; 373(14):1307-17. doi: 10.1056/NEJMoa1502821.
  
- Skrzypczyk P, Ozimek A, Ofiara A, Szyszka M, Sołtyski J, Stelmaszczyk-Emmel A, Górska E, Pańczyk-Tomaszewska M. Markers of endothelial injury and subclinical inflammation in children and adolescents with primary hypertension. *Cent Eur J Immunol*. 2019; 44(3):253-61. doi: 10.5114/ceji.2019.89597.
  
- Skrzypczyk P, Przychodzień J, Bombińska M, Kaczmarska Z, Mazur M, Pańczyk-Tomaszewska M. Complete blood count-derived inflammatory markers in adolescents

with primary arterial hypertension: a preliminary report. *Cent Eur J Immunol.* 2018; 43(4):434-41. doi: 10.5114/ceji.2018.81353.

- Sobradillo B, Aguirre A, Aresti U, Bilbao A, Fernández-Ramos C, Lizárraga A, Lorenzo H, Madariaga L, Rica I, Ruiz I, Sánchez E, Santamaría C, Serrano JM, Zabala A, Zurimendi B, Hernández M. *Curvas y tablas de crecimiento. Estudios longitudinal y transversal.* Bilbao: Fundación Faustino Orbegozo, Bilbao, ISBN 84-607-9967-0, 2004, 1-31.

- Sopher AB, Thornton JC, Wang J, Pierson RN Jr, Heymsfield SB, Horlick M. Measurement of percentage of body fat in 411 children and adolescents: a comparison of dual-energy X-ray absorptiometry with a four-compartment model. *Pediatrics.* 2004; 113(5):1285-90. doi: 10.1542/peds.113.5.1285.

- Speliotes EK, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Meigs JB, Sahani DV, Hirschhorn JN, O'Donnell CJ, Fox CS. Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study. *Hepatology.* 2010; 51(6):1979-87. doi:10.1002/hep.23593.

- Stepanova M, De Avila L, Afendy M, Younossi I, Pham H, Cable R, Younossi ZM. Direct and Indirect Economic Burden of Chronic Liver Disease in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017; 15(5):759-66.e5. doi: 10.1016/j.cgh.2016.07.020.

- Stoner L, Rowlands D, Morrison A, Credeur D, Hamlin M, Gaffney K, Lambrick D, Matheson A. Efficacy of Exercise Intervention for Weight Loss in Overweight and Obese Adolescents: Meta-Analysis and Implications. *Sports Med.* 2016; 46(11):1737-51. doi: 10.1007/s40279-016-0537-6.

- Sui X, Church TS, Meriwether RA, Lobelo F, Blair SN. Uric acid and the development of metabolic syndrome in women and men. *Metabolism.* 2008; 57(6):845-52. doi: 10.1016/j.metabol.2008.01.030.

- Sun B, Karin M. Obesity, inflammation, and liver cancer. *J Hepatol.* 2012; 56(3):704-13. doi: 10.1016/j.jhep.2011.09.020.

- Sun D, Li S, Zhang X, Fernández C, Chen W, Srinivasan SR, Berenson GS. Uric acid is associated with metabolic syndrome in children and adults in a community: the Bogalusa Heart Study. *PLoS One.* 2014; 9(10):e89696. doi: 10.1371/journal.pone.0089696.

- Sun HL, Pei D, Lue KH, Chen YL. Uric Acid Levels Can Predict Metabolic Syndrome and Hypertension in Adolescents: A 10-Year Longitudinal Study. *PLoS One.* 2015; 10(11):e0143786. doi: 10.1371/journal.pone.0143786.



- Sunbul M, Gerin F, Durmus E, Kivrak T, Sari I, Tigen K, Cincin A. Neutrophil to lymphocyte and platelet to lymphocyte ratio in patients with dipper versus non-dipper hypertension. *Clin Exp Hypertens.* 2014; 36(4):217-21. doi:10.3109/10641963.2013.804547.

- Szimiko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation* 2003; 108:1917–23. doi: 10.1161/01.CIR.0000089190.95415.9F.

**T:**

- Takei R, Inoue T, Sonoda N, Kohjima M, Okamoto M, Sakamoto R, Inoguchi T, Ogawa Y. Bilirubin reduces visceral obesity and insulin resistance by suppression of inflammatory cytokines. *PLoS One.* 2019; 14(10):e0223302. doi: 10.1371/journal.pone.0223302.

- Tang L, Kubota M, Nagai A, Mamemoto K, Tokuda M. Hyperuricemia in obese children and adolescents: the relationship with metabolic syndrome. *Pediatr Rep* 2010; 18;2(1):e12. doi: 10.4081/pr.2010.e12.

- Taylor RW, Jones IE, Williams SM, Goulding A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(2):490-5. doi: 10.1093/ajcn/72.2.490

- Terawaki H, Nakayama M, Miyazawa E, Murata Y, Nakayama K, Matsushima M, Miyazaki M, Sato H, Sato M, Sato T, Taguma Y, Ito S. Effect of allopurinol on cardiovascular incidence among hypertensive nephropathy patients: the Gonryo study. *Clin Exp Nephrol.* 2013; 17(4):549-53. doi: 10.1007/s10157-012-0742-z.

- Thomazini F, de Carvalho BS, de Araujo PX, Franco MDC. High uric acid levels in overweight and obese children and their relationship with cardiometabolic risk factors: what is missing in this puzzle? *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2021; 34(11):1435-41. doi: 10.1515/jpem-2021-0211.

- Tilg H. The role of cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis.* 2010; 28(1):179-85. doi: 10.1159/000282083.

- Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 2008; 14(3-4):222-31. doi: 10.2119/2007-00119.Tilg.



- Tirosh A, Shai I, Afek A, Dubnov-Raz G, Ayalon N, Gordon B, Derazne E, Tzur D, Shamis A, Vinker S, Rudich A. Adolescent BMI trajectory and risk of diabetes versus coronary disease. *N Engl J Med*. 2011; 364(14):1315-25. doi: 10.1056/NEJMoa1006992.
- Tominaga K, Fujimoto E, Suzuki K, Hayashi M, Ichikawa M, Inaba Y. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and relationship to metabolic syndrome, insulin resistance, and waist circumference. *Environ Health Prev Med*. 2009; 14(2):142-9. doi: 10.1007/s12199-008-0074-5.
- Tricò D, Caprio S, Rosario Umamo G, Pierpont B, Nouws J, Galderisi A, et al. Metabolic features of nonalcoholic fatty liver (NAFL) in obese adolescents: finding from a multiethnic cohort. *Hepatology*. 2018; 68:1376-90. doi: 10.1002/hep.30035.
- Turak O, Ozcan F, Tok D, İşleyen A, Sökmen E, Taşoğlu I, Aydoğdu S, Sen N, McFann K, Johnson RJ, Kanbay M. Serum uric acid, inflammation, and nondipping circadian pattern in essential hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2013; 15(1):7-13. doi: 10.1111/jch.12026.

**U:**

- Uemura H, Katsuura-Kamano S, Yamaguchi M, Sawachika F, Arisawa K. Serum hepatic enzyme activity and alcohol drinking status in relation to the prevalence of metabolic syndrome in the general Japanese population. *PLoS One*. 2014. 22;9(4):e95981. doi: 10.1371/journal.pone.0095981.
- Umamo GR, Shabanova V, Pierpont B, Mata M, Nouws J, Tricò D, et al. A low visceral fat proportion, independent of total body fat mass, protects obese adolescent girls against fatty liver and glucose dysregulation: a longitudinal study. *Int J Obes*. 2018; 43:673-82. Doi: 10.1038/s41366-018-0227-6.
- Uthamalingam S, Patvardhan EA, Subramanian S, Ahmed W, Martin W, Daley M, Capodilupo R. Utility of the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term outcomes in acute decompensated heart failure. *Am J Cardiol*. 2011; 107(3):433-8. doi: 10.1016/j.amjcard.2010.09.039
- Utz-Melere M, Targa-Ferreira C, Lessa-Horta B, Epifanio M, Mouzaki M, Mattos AA. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: Lifestyle Change: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Hepatol*. 2018; 17:345-54. doi:10.5604/01.3001.0011.7380.

- Uysal Y, Wolters B, Knop C, Reinehr T. Components of the metabolic syndrome are negative predictors of weight loss in obese children with lifestyle intervention. *Clin Nutr.* 2014; 33(4):620-5. doi: 10.1016/j.clnu.2013.09.007.

**V:**

- Valle M, Martos R, Cañete MD, Valle R, van Donkelaar EL, Bermudo F, Cañete R. Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children. *Pediatr Diabetes.* 2015; 16(6):441-7. doi: 10.1111/pedi.12199.

- Valle M, Martos R, Gascón F, Cañete R, Zafra MA, Morales R. Low-grade systemic inflammation, hypoadiponectinemia and a high concentration of leptin are present in very young obese children, and correlate with metabolic syndrome. *Diabetes Metab* 2005; 31:55–62. doi: 10.1016/S1262-3636(07)70167-2.

- Valle-Martos R, Valle M, Martos R, Cañete R, Jiménez-Reina L, Cañete MD. Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity. *Front Pediatr.* 2021; 9:629346. doi: 10.3389/fped.2021.629346.

- van den Berg EH, Amini M, Schreuder TC, Dullaart RP, Faber KN, Alizadeh BZ, Blokzijl H. Prevalence and determinants of non-alcoholic fatty liver disease in lifelines: A large Dutch population cohort. *PLoS One.* 2017; 12(2):e0171502. doi: 10.1371/journal.pone.0171502.

- Viazzi F, Antolini L, Giussani M, Brambilla P, Galbiati S, Mastriani S, Stella A, Pontremoli R, Valsecchi MG, Genovesi S. Serum uric acid and blood pressure in children at cardiovascular risk. *Pediatrics.* 2013; 132(1):e93-9. doi: 10.1542/peds.2013-0047.

- Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, Friedman SL, Diago M, Romero-Gomez M. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2015; 149(2):367-78.e5; quiz e14-5. doi: 10.1053/j.gastro.2015.04.005.

- Vitek L. The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases. *Front Pharmacol.* 2012; 3:55. doi: 10.3389/fphar.2012.00055.

- Vitek L, Bellarosa C, Tiribelli C. Induction of mild hyperbilirubinemia: hype or real therapeutic opportunity? *Clin Pharmacol Ther.* 2019; 106(3):568–75. doi:10.1002/cpt.1341.

- Vogel ME, Zucker SD. Bilirubin acts as an endogenous regulator of inflammation by disrupting adhesion molecule-mediated leukocyte migration. *Inflamm Cell Signal*. 2016; 3(1):e1178. doi:10.14800/ics.1178.

- Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, Mouzaki M, Sathya P, Schwimmer JB, Sundaram SS, Xanthakos SA. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017; 64(2):319-34. doi: 10.1097/MPG.0000000000001482.

**W:**

- Wang, J., Wang, Y., Chen, F., Ma, G., & Wang, D. Measurement of the Combined Levels of Serum Uric Acid and Alanine Aminotransferase and the Risk of Metabolic Syndrome in a Population Aged 60 Years or More in Northeastern China. *Med Sci Monit*. 2020; 26. doi: 10.12659/MSM.916459.

- Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin RS, Caprio S. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004; 350(23):2362-74. doi: 10.1056/NEJMoa031049.

- Weitz J, Berger Z, Sabah S, Silva H. Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades Digestivas. Sociedad Chilena de Gastroenterología. Santiago de Chile. 2017. ISBN: 978-956-7936-34-2.

- White DL, Kanwal F, El-Serag HB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012; 10(12):1342-59.e2. doi: 10.1016/j.cgh.2012.10.001.

- Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. 2011; 140(1):124-31. doi: 10.1053/j.gastro.2010.09.038.

- Wise MS, Nichols CD, Grigg-Damberger MM, Marcus CL, Witmans MB, Kirk VG, D'Andrea LA, Hoban TF. Executive summary of respiratory indications for polysomnography in children: an evidence-based review. *Sleep*. 2011; 34(3):389-98AW. doi: 10.1093/sleep/34.3.389.

- Witkowska AM, Borawska MH. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1): an overview. *Eur Cytokine Netw.* 2004 Apr-Jun; 15(2):91-8.
- Wittcopp C, Conroy R. Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *Pediatr Rev.* 2016; 37(5):193-202. doi: 10.1542/pir.2014-0095.
- Wree A, Broderick L, Canbay A, Hoffman HM, Feldstein AE. From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; 10(11):627-36. doi: 10.1038/nrgastro.2013.149.

**X:**

- Xu C, Yu C, Xu L, Miao M, Li Y. High serum uric acid increases the risk for nonalcoholic fatty liver disease: A prospective observational study. *PLoS One.* 2010; 5:e11578. doi: 10.1371/journal.pone.0011578.

**Y:**

- Yang H, Li D, Song X, Liu F, Wang X, Ma Q, Zhang X, Li X. Joint associations of serum uric acid and ALT with NAFLD in elderly men and women: a Chinese cross-sectional study. *J Transl Med.* 2018; 16(1):285. doi: 10.1186/s12967-018-1657-6.
- Yang T, Chu CH, Bai CH, You SL, Chou YC, Hwang LC, Chien KL, Su TC, Tseng CH, Sun CA. Uric acid concentration as a risk marker for blood pressure progression and incident hypertension: a Chinese cohort study. *Metabolism.* 2012; 61(12):1747-55. doi: 10.1016/j.metabol.2012.05.006.
- Yanik M, Feig DI. Serum urate: a biomarker or treatment target in pediatric hypertension?. *Curr Opin Cardiol.* 2013; 28(4):433-8. doi: 10.1097/HCO.0b013e32836205ff.
- Yelken B, Caliskan Y, Gorgulu N, Altun I, Yilmaz A, Yazici H, Oflaz H, Yildiz A. Reduction of uric acid levels with allopurinol treatment improves endothelial function in patients with chronic kidney disease. *Clin Nephrol* 2012; 77:275–82. doi: 10.5414/cn107352.
- Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Abe Y, Kubota K, Saito S, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S,

Maeyama S, Nakajima A. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol*. 2007; 42:573–82. doi: 10.1007/s00535-007-2060-x.

- Yoo TW, Sung KC, Shin HS, Kim BJ, Kim BS, Kang JH, Lee MH, Park JR, Kim H, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Ryu SH, Keum DG. Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. *Circ J* 2005; 69(8):928-33. doi: 10.1253/circj.69.928.

- Yoshino S, Hamasaki S, Ishida S, Kataoka T, Yoshikawa A, Oketani N, Saihara K, Ichiki H, Kuwahata S, Fujita S, Takumi T, Yoshimoto I, Nakazaki M, Tei C. Characterization of the effect of serum bilirubin concentrations on coronary endothelial function via measurement of high-sensitivity C-reactive protein and high-density lipoprotein cholesterol. *Heart Vessels*. 2013; 28(2):157–65. doi: 10.1007/s00380-011-0228-z.

- Yoshino S, Hamasaki S, Ishida S, Kataoka T, Yoshikawa A, Oketani N, Saihara K, Okui H, Shinsato T, Ichiki H, Kubozono T, Kuwahata S, Fujita S, Kanda D, Nakazaki M, Miyata M, Tei C. Relationship between bilirubin concentration, coronary endothelial function, and inflammatory stress in overweight patients. *J Atheroscler Thromb*. 2011; 18:403-12. doi:10.5551/jat.6346.

- Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018; 15(1):11-20. doi: 10.1038/nrgastro.2017.109.

- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431.

- Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *J Hepatol*. 2019; 70(3):531-44. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033.

- Yun M, Zhang T, Li S, Wang X, Fan L, Yan Y, Bazzano L, He J, Chen W. Temporal relationship between body mass index and uric acid and their joint impact on blood pressure in children and adults: the Bogalusa Heart Study. *Int J Obes (Lond)*. 2021; 45(7):1457-63. doi: 10.1038/s41366-021-00810-9.

- Yunfei Luo, Hui Lin. Inflammation initiates a vicious cycle between obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Immun Inflamm Dis*. 2021; 9(1):59-73. doi: 10.1002/iid3

**Z:**

- Zeyda M, Stulnig TM. Adipose tissue macrophages. *Immunol Lett.* 2007; 112(2):61-7. doi: 10.1016/j.imlet.2007.07.003.
- Zhang C, Li L, Zhang Y, Zeng C. Recent advances in fructose intake and risk of hyperuricemia. *Biomed Pharmacother.* 2020; 131:110795. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110795.
- Zhang H, Ding Y, Li Q, Sun J, He S, Feng X, Zhao Y, Zhou X, Cai Y, Wang C, Shi X, Wang Z, Zhou Q, Niu J. Relationship between Serum Aminotransferase Levels and Metabolic Disorders in Northern China. *Iran J Public Health.* 2012; 41(2):15-26.
- Zheng X, Gong L, Luo R, Chen H, Peng B, Ren W, Wang Y. Serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in non-obesity Chinese adults. *Lipids Health Dis.* 2017; 16(1):202. doi: 10.1186/s12944-017-0531-5.
- Zhang X, Ji X, Wang Q, Li JZ. New insight into inter-organ crosstalk contributing to the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Protein Cell.* 2018; 9:164-77. doi: 10.1007/s13238-017-0436-0.
- Zhou F, Zhou J, Wang W, Zhang XJ, Ji YX, Zhang P, She ZG, Zhu L, Cai J, Li H. Unexpected Rapid Increase in the Burden of NAFLD in China From 2008 to 2018: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hepatology.* 2019; 70(4):1119-33. doi: 10.1002/hep.30702.
- Zhou H, Urso CJ, Jadeja V. Saturated Fatty Acids in Obesity-Associated Inflammation. *J Inflamm Res.* 2020; 13:1-14. doi: 10.2147/JIR.S229691.
- Zimmet P, Alberti KG, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, Wong G, Bennett P, Shaw J, Caprio S; IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes.* 2007; 8(5):299-306. doi: 10.1111/j.1399-5448.2007.00271.x.
- Zoccali C, Maio R, Mallamaci F, Sesti G, Perticone, F. Uric acid and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(5):1466-71. doi: 10.1681/ASN.2005090949.
- Zuo T, Liu X, Jiang L, Mao S, Yin X, Guo L. Hyperuricemia and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Cardiovasc Disord.* 2016; 16(1):207. doi: 10.1186/s12872-016-0379-z.







**VIII.- RESUMEN**

## **Introducción**

La obesidad se ha convertido en una epidemia mundial, llegando a prevalencias de sobrepeso superiores al 20% en población pediátrica entre 6 y 9 años en España. Es una enfermedad con asociación a otras patologías como la hipertensión, la diabetes, la dislipemia y el síndrome metabólico (MetS) en su conjunto. En el niño con obesidad, este síndrome se puede iniciar a edades muy tempranas. Junto a estos trastornos, varios autores, incluyendo nuestro grupo, han detectado alteraciones indicativas de disfunción endotelial, inflamación sistémica de bajo grado y alteraciones en los niveles de adipocinas.

Todas estas patologías producen de forma crónica, daño en órganos diana. Entre ellos, el hígado, lugar de acumulación grasa, ya demostrado en personas con sobrepeso y obesidad. Lo que provoca daño en los hepatocitos, iniciando así, la enfermedad del hígado graso no alcohólico. De hecho, la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) y también la hiperuricemia se han sugerido como componentes adicionales del MetS, siendo factores relacionados con la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo, lo cual conlleva a un estado proinflamatorio crónico.

La interrelación entre las distintas alteraciones asociadas con la obesidad y la gravedad que puede derivarse de ellas nos obliga a un análisis conjunto de los mismos. Desde esta perspectiva, el estudio de estos componentes adicionales del MetS ha de realizarse valorando su posible asociación con el resto de trastornos asociados a la obesidad.

Conocer estas alteraciones desde su inicio, los cambios que se producen con el tratamiento y la interrelación entre ellas, nos pueden permitir, además de profundizar en su fisiopatología, poder disponer de variables que podrían añadir información valiosa en la evaluación del niño con obesidad, y facilitar la adopción de medidas preventivas y terapéuticas adecuadas.

## **Objetivos**

Cuantificar las diferencias en los valores de enzimas de función hepática, bilirrubina y ácido úrico (AU) entre niños prepúberes con obesidad y niños con peso normal para determinar cualquier asociación entre ellos y parámetros relacionados con

MetS, adipocinas o marcadores de inflamación, disfunción endotelial y resistencia a la insulina.

Estudiar los cambios que se producen en respuesta al tratamiento estándar de la obesidad infantil para determinar si existen diferencias entre los niños que disminuyen su IMC-SDS después de nueve meses de tratamiento y los que mantienen su IMC-SDS estable. Así como determinar si existe una asociación entre los cambios en los niveles de enzimas hepáticas, ácido úrico, y bilirrubina y los cambios en parámetros relacionados con el MetS, leptina, disfunción endotelial, marcadores de insulina e inflamación, en respuesta al tratamiento.

### **Material y métodos**

La muestra la forman niños prepúberes, de ambos sexos y de edad comprendida entre 6 y 9 años. El estudio se divide en dos fases de análisis de datos. En una primera fase (estudio transversal) se analizan los resultados de 123 niños con obesidad y 61 niños con un peso normal. En la segunda fase se realizó un estudio longitudinal de 63 niños con obesidad.

Se midieron las enzimas hepáticas, bilirrubina, AU, la proteína C reactiva (PCR), la interleucina-6 (IL-6), la relación neutrófilos-linfocitos (NLR), la relación plaquetas-linfocitos (PLR), la molécula de adhesión intercelular soluble-1 (sICAM-1), la insulina y el perfil lipídico, leptina, además de tensión arterial y parámetros antropométricos. Se realizan análisis de comparación de medias (T de Student, Wilcoxon), análisis de correlación (coeficiente de correlación de Pearson, coeficiente de concordancia de Kendall) y técnicas de regresión múltiple.

### **Resultados**

A nivel basal, los niveles medios de ácido úrico (235,62  $\mu\text{mol/L}$  vs 211,39  $\mu\text{mol/L}$ ;  $p=0,0014$ ) y alamina aminotransferasa (19,93 U/L vs 18,01 U/L;  $p=0,011$ ) fueron significativamente más altos en los niños con obesidad, al contrario de los niveles de bilirrubina total (7,80  $\mu\text{mol / L}$  vs 8,72  $\mu\text{mol / L}$ ;  $p=0,0483$ ) y directa (2,22  $\mu\text{mol / L}$  vs 3,55  $\mu\text{mol / L}$ ;  $p=0,001$ ), que fueron menores en niños con obesidad.

Tras nueve meses de tratamiento, los niveles medios de ácido úrico (212,69  $\mu\text{mol/L}$  vs 252,85  $\mu\text{mol/L}$ ;  $p=0,0014$ ) y alamina aminotransferasa (18,19 U/L vs 21,13 U/L;  $p=0,0071$ ) fueron significativamente más bajos en los niños cuya IMC-SDS había

disminuido, al contrario de los niveles de bilirrubina total y directa, los cuales aumentaron en este grupo ( $p=0,0173$  y  $p=0,0220$  respectivamente).

Así mismo, tanto a nivel basal como tras tratamiento en niños con obesidad, se demostró la correlación lineal significativa entre enzimas hepáticas (fundamentalmente ALT), bilirrubina y ácido úrico y otros parámetros relacionados con MetS, disfunción endotelial (sICAM-1), marcadores de inflamación (PCR, IL-6, NLR, PLR), resistencia a la insulina y leptina. En los principales parámetros analizados, esta correlación significativa se mantiene cuando se corrige por edad y sexo.

Los cambios relativos (diferencia entre el valor basal y el valor a nueve meses) en los valores de enzimas hepáticas y ácido úrico se correlacionan de forma significativa con cambios favorables en parámetros relacionados con el síndrome metabólico, disfunción endotelial e inflamación.

### **Conclusiones**

Comparados con niños de peso normal, los niños con obesidad tienen niveles significativamente elevados de enzimas hepáticas, que disminuyen con el tratamiento, y sus cambios se asocian con modificaciones en el mismo sentido de parámetros antropométricos, leptina, insulina, HOMA-IR y biomarcadores de inflamación.

El ácido úrico está implicado en los procesos de inflamación, disfunción endotelial e hipertensión desde edades muy tempranas. Sus niveles mejoran con la disminución del SDS-BMI y se asocian a cambios favorables en la presión arterial, los biomarcadores de inflamación y la disfunción endotelial.

Tanto la ALT como el AU están ya elevadas desde temprana edad en los niños con obesidad, se relacionan entre sí y se asocian con las complicaciones metabólicas que agravan la obesidad, pudiendo estar implicados en su patogenia. La combinación de ácido úrico, alanina aminotransferasa y bilirrubina podrían tener valor clínico potencial para la prevención, detección temprana y seguimiento de trastornos metabólicos asociados a la obesidad como la EHGNA y el síndrome metabólico.







# Liver Enzymes Correlate With Metabolic Syndrome, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Prepubertal Children With Obesity

Rosario Valle-Martos<sup>1</sup>, Miguel Valle<sup>2</sup>, Rosario Martos<sup>3</sup>, Ramón Cañete<sup>4</sup>, Luis Jiménez-Reina<sup>5</sup> and María Dolores Cañete<sup>6\*</sup>

<sup>1</sup> Maimonides Biomedical Research Institute of Córdoba, University of Córdoba, Córdoba, Spain, <sup>2</sup> Valle de los Pedroches Hospital, Maimonides Biomedical Research Institute of Córdoba, Córdoba, Spain, <sup>3</sup> Health Center of Pozoblanco, Maimonides Biomedical Research Institute of Córdoba, Córdoba, Spain, <sup>4</sup> Faculty of Medicine, Maimonides Biomedical Research Institute of Córdoba, Biomedical Research Networking Center for Physiopathology of Obesity and Nutrition, University of Córdoba, Córdoba, Spain, <sup>5</sup> Faculty of Medicine, Maimonides Biomedical Research Institute of Córdoba, University of Córdoba, Córdoba, Spain, <sup>6</sup> Maimonides Biomedical Research Institute of Córdoba, Córdoba, Spain

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Yen-Hsuan Ni,  
National Taiwan University, Taiwan

### Reviewed by:

Claudia Mandato,  
AORN Santobono-Pausilipon, Italy  
Tudor Lucian Pop,  
Iuliu Haiegeanu University of Medicine  
and Pharmacy, Romania

### \*Correspondence:

María Dolores Cañete  
mdcanete@hotmail.com

### Specialty section:

This article was submitted to  
Pediatric Gastroenterology,  
Hepatology and Nutrition,  
a section of the journal  
Frontiers in Pediatrics

**Received:** 14 November 2020

**Accepted:** 26 January 2021

**Published:** 16 February 2021

### Citation:

Valle-Martos R, Valle M, Martos R,  
Cañete R, Jiménez-Reina L and  
Cañete MD (2021) Liver Enzymes  
Correlate With Metabolic Syndrome,  
Inflammation, and Endothelial  
Dysfunction in Prepubertal Children  
With Obesity.  
Front. Pediatr. 9:629346.  
doi: 10.3389/fped.2021.629346

**Background:** Metabolic syndrome (MetS) can start in children with obesity at very young ages. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is considered to be the hepatic component of metabolic syndrome. If left untreated, the clinical course of NAFLD can be progressive and can become chronic if not detected at an early stage.

**Objective:** We aimed to quantify the differences in liver enzymes between prepubertal children with obesity and children with normal weight to determine any associations between them and parameters related to MetS, adipokines, or markers of endothelial dysfunction and inflammation.

**Methods:** This cross-sectional study included 54 prepubertal children with obesity (aged 6–9 years) and 54 children with normal weight, matched by age and sex. Liver enzymes, C-reactive protein (CRP), interleukin-6, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), adipokines, and parameters related to metabolic syndrome (MetS) were all measured.

**Results:** Alanine aminotransferase (ALT) levels, serum butyryl cholinesterase (BChE), leptin, CRP, sICAM-1, triglycerides, blood pressure, and homeostasis model assessment for insulin resistance were significantly higher in children with obesity, while Apolipoprotein A-1, HDL-cholesterol, and adiponectin were significantly lower. In the children with obesity group, ALT and BChE levels correlated with anthropometric measurements, insulin resistance, and lipid parameters, leptin, interleukin-6, CRP, and sICAM-1 while BChE levels negatively correlated with adiponectin.

**Conclusions:** Compared to children with normal weight, prepubertal children with obesity had elevated values for liver enzymes, leptin, markers of insulin resistance, inflammation, and endothelial dysfunction, and variables associated with MetS. There was also a correlation between these disorders and liver enzyme levels.

**Keywords:** liver enzymes, prepubertal age, obesity, inflammation, metabolic syndrome, endothel dysfunction



## INTRODUCTION

Metabolic syndrome (MetS) can start in obese children at very young ages (1), and a not negligible proportion of prepubertal children were even classified as affected by metabolic syndrome in the IDEFICS study (2). The presentation of this syndrome in children is associated with a high risk for diabetes and atherosclerotic cardiovascular disease during adulthood (3).

Together with the disorders that define metabolic syndrome, a subclinical inflammation state indicative of alterations producing endothelial dysfunction, as well as changes in adipokine levels, have been documented in prepubertal children with obesity (4–6).

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with important components of MetS such as obesity (7, 8), some authors consider these to be hepatic manifestations of this syndrome (9) and its prevalence increases in line with that of MetS and its components, particularly obesity (10). NAFLD has now become the most frequent cause of chronic liver disease, both in children and adults (10, 11).

The pathogenesis of NAFLD is multifactorial, dietary factors, insulin resistance (IR), inflammation, adipocytokines, lipotoxicity, and a genetic predisposition, are all factors that may be involved (12).

Elevated Alanine aminotransferase (ALT) levels are associated with the incidence of MetS, diabetes mellitus, and cardiovascular disease and have been shown to be a predictive factor for non-alcoholic steatosis (13, 14). Elevated serum butyryl cholinesterase (BChE) levels have also been described in individuals with obesity and MetS (15) and there is an association between BChE activity, lipid metabolism, and MetS in adults (16).

Adipose tissue plays an important role in the pathogenesis of NAFLD by contributing to the low-grade inflammation strongly related to this disease (17). In a subsample of European children forming part of the IDEFICS study, the highest levels of leptin were associated with metabolic syndrome, regardless of body mass. The measurement of leptin could help to discriminate overweight/obese children with an increased risk of cardiometabolic complications while still at an early age (18).

The available data indicate that obesity-associated metabolic disorders, including NAFLD, IR, and inflammation, as well as altered levels of adipokines, can onset at very early ages. Although limited, the data on the natural history of pediatric NAFLD show that a few children rapidly progress from NAFLD to clinical events, some of which are even more severe than those diagnosed in adults (19, 20). This emphasizes the potential importance of applying preventive interventions in patients while they are still young, and consequently, the need for diagnostic tools that are easy to use in daily clinical practice.

**Abbreviations:** MetS, metabolic syndrome; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; IR, insulin resistance; ALT, alanine aminotransferase; BChE, butyryl cholinesterase; BMI, body mass index; AST, aspartate aminotransferase; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; CRP, C-reactive protein; IL-6, Interleukin-6; TG, triglycerides; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol; HOMA-IR, homeostasis model formula for IR; Apo A1, apolipoprotein A1; Apo B, apolipoprotein B; FFAs, free fatty acids; SEM, standard error mean.

Limited information is available about the possible association between liver-function enzymes, obesity-related disorders, and NAFLD in prepubescent children. There is currently a lack of predictors of NAFLD among young children with obesity. The seriousness of these pathologies and the consequences of their clinical evolution without treatment serve to highlight the need for their early diagnosis and treatment. Therefore, we must try to develop diagnostic tools that can be applied in general clinical practice.

Thus, in this study we aimed to analyse the possible differences between children with obesity and prepubertal children with normal weight in liver enzyme values to determine any associations between them and parameters related to MetS, adipokines, and markers of endothelial dysfunction or inflammation.

## MATERIALS AND METHODS

### Study Design

We carried out a cross-sectional study in prepubertal (Tanner stage 1) children with obesity of both sexes. To reduce selection bias, both groups, cases and controls were selected from the same population, and case control ratio observed was of 1:1, matched by age and sex.

Inclusion criteria were the same for the study group and control group with the exception for BMI: prepubertal (Tanner stage 1) children of both sexes and aged 6–9 years. The children were placed into one or the other group according to whether their BMI categorized them as with obesity (cases) or normoweight (control).

Exclusion criteria for both groups: children with diabetes (fasting glucose  $\geq 7.0$  mmol/L), impaired fasting glucose (fasting glucose  $\geq 6.1$  mmol/L or  $< 7.0$  mmol/L), primary hyperlipidaemia, hypertension, aspartate aminotransferase  $> 40$  U/L, or secondary obesity were excluded from both the study. None of the participants were receiving any regular treatments with any medications. Children with CRP levels  $> 10$  mg/L (which thus indicates the presence of clinically relevant inflammatory conditions), were excluded from both the children with obesity group and the control group. ALT levels must be interpreted in the context of the gender specific upper limits of normality in children (22 U/L for girls and 26 U/L for boys) and not upon the upper limits of normality provided by individual laboratories (14). Reference curves for leptin and adiponectin in the IDEFICS population may be useful when trying to assess the limits of their normality (21).

### Study Population

All the children in this study were Spanish. Both, children with obesity and children with normal weight were selected from the same schools, and had similar lifestyles. We informed in four schools in the area about this study in order to recruit the participants (Córdoba, Spain). All the parents of the children included in this study gave their written consent, and the study was authorized by the local hospital ethics committee.

First, parents were invited to a briefing on this study and asked to participate in it. All parents with children between the ages of



6 and 9 were summoned. All students whose parents signed the informed consent were included in the study consecutively, by order of registration.

One group included 54 children with obesity [with a body mass index (BMI) exceeding the 95th percentile in the reference tables for the Spanish population] (22), and the control group included an equal number of children with a normal weight (under the 85th percentile) matched by age and sex (aged 6–9 years). Taking ALT as the main variable, and given that the standard deviations for the two groups were 0.061 and 0.083, respectively, and, the expected mean difference was 0.040, to achieve a power of 80% at a confidence level of 95%, we calculated that 54 patients would be required in each of the two groups.

### Anthropometric Measurements and Blood Sampling and Analysis

After a fasting for 12 h, blood samples were collected without venous occlusion from a vein in the antecubital fossa. All the samples were collected between 8:00 a.m. and 9:00 a.m., and were divided into aliquots and immediately frozen at  $-45^{\circ}\text{C}$  until their analysis. Serum ALT, aspartate aminotransferase (AST), serum cholinesterase, leptin, adiponectin, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM), C-reactive protein (CRP), and interleukin-6 (IL-6) levels, as well as a range of MetS-related variables (glucose, insulin, lipids, and blood pressure) were measured in all the children.

Serum glucose, ALT, AST, BChE, creatine kinase (CK), total cholesterol, and triglycerides (TG) concentrations were measured using a random-access analyser (ADVIA 1800, Siemens Healthcare Diagnostics) with reagents from the same manufacturer. Insulin was quantified using an Access 2-Immunoassay System (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). High-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) was measured after precipitation of chylomicrons, very low-density lipoproteins, and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) with phosphotungstic acid and magnesium ions. The LDL-c concentration was calculated using the Friedewald formula.

IR was assessed using the homeostasis model formula for IR (HOMA-IR) based on fasting glucose and insulin concentrations:  $\text{resistance} = [\text{insulin (mU/L)} \times \text{glucose (mmol/L)}] / 22.5$ . Apolipoprotein A1 (Apo A1), apolipoprotein B (Apo B), and CRP were measured by nephelometry (N Antisera to Human Apo A1, Apo B, and N high-sensitivity CRP reagent; Behringwerke AG, Marburg, Germany) in a Dade Behring Analyzer II Nephelometer (Dade Behring, Inc., Deer field, IL, USA).

Antigenic immunoassay methods were used to quantify adiponectin (Quantikine human adiponectin, R&D Systems, Wiesbaden-Norderstedt, Germany), sICAM-1 (IBL Immuno-Biological Laboratories, Hamburg, Germany), leptin (Quantikine human leptin, R&D Systems, Wiesbaden-Norderstedt, Germany), and IL-6 (Quantikine Human IL-6; RD Systems, Wiesbaden-Norderstedt, Germany) in a microtiter plate analyser (Personal LAB, Phadia Spain SL, Barcelona, Spain).

Free fatty acids (FFAs) were quantified by a colorimetric enzyme assay (NEFA C ACS-ACOD Method, Wako Chemicals

GmbH, Neuss, Germany). Blood pressure was measured with a mercury sphygmomanometer (Pymah Corporation, Sommerville, NJ, USA) after resting for 20 min in a supine position. The measurements were performed on three consecutive days and the mean was used in our analyses. The sphygmomanometer cuff width had to cover 2/3 of the length of the child's arm and so three cuff sizes were available for use (9 cm  $\times$  32 cm, 11 cm  $\times$  36 cm, and 12 cm  $\times$  41 cm). Weight was measured to the nearest 0.1 kg and height to the nearest 0.1 cm. BMI was calculated as the weight (kg)/height (m)<sup>2</sup>.

### Statistical Analysis

Statistical assessment was performed using Microstat (Ecosoft, Indianapolis, IN, USA) or GraphPad InStat software (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Abnormal values (outliers) were excluded by applying Reed's method. The distribution of each variable was tested to check for deviance from the Gaussian distribution, and the equality of the variance was checked by using Snedecor's *F*-test. The mean values of the groups were compared by applying Student's unpaired *t*-tests. All the results were expressed as a mean  $\pm$  standard error mean (SEM) with a 95% confidence interval (95% CI). Statistical significance was set at  $p < 0.05$ . The correlation between the variables was evaluated using Pearson's correlation coefficient and regression analysis. Multivariate regression analysis was performed using the stepwise method. For each variable, potential confounders ( $0.05 < p < 0.2$ ) were evaluated by analyzing the raw and adjusted regression coefficients.

## RESULTS

### Liver Enzymes, Insulin Resistance, and Parameters Related to MetS

The clinical, anthropometric, and biochemical parameters related to MetS were measured in both groups (Table 1). The mean ALT levels were significantly higher in children with obesity, at 19.57 U/L (95% CI [18.21–20.93]) compared to 17.20 U/L in the control group (95% CI [16.21–18.19]; Table 2). Although the BChE levels were higher in the children with obesity group at 11,178.5 U/L (95% CI [10,888.9–11,468.2]) compared to 10,636.3 U/L in the control group (95% CI [10,201.1–11,072.1]; Table 2). No significant differences were found in the AST values.

The univariate correlation analysis for MetS-related parameters for the children with obesity group is summarized in Table 3 and Figure 1. In the single linear correlation, ALT and BChE levels correlated with anthropometric measurements, IR, and lipid parameters related to MetS, while the ALT/AST indices correlated only with the anthropometric measurements.

In the children with obesity group, age, and sex-corrected multivariate regression analysis showed that the BMI ( $P$  partial = 0.0074), waist circumference ( $P$  partial = 0.0057), serum insulin ( $P$  partial = 0.0014), HOMA-IR ( $P$  partial = 0.0009), TG ( $P$  partial = 0.0287), HDL-c ( $P$  partial = 0.0369), and Apo A1 ( $P$  partial = 0.032) were independent predictive factors for ALT. For serum BChE, the age and sex-corrected BMI

**TABLE 1** | Comparison between children with obesity and children with normal weight.

	Children with obesity (n = 54)	Children with normal weight (n = 54)	p
Age (years)	7.95 ± 0.14	7.89 ± 0.12	0.7414
Male/Female	25/29	25/29	
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	23.34 ± 0.28	16.76 ± 0.19	<0.0001
BMI z-score	3.30 ± 0.15	0.06 ± 0.01	<0.0001
Waist circumference (cm)	73.39 ± 0.89	57.74 ± 1.16	<0.0001
SBP (mm Hg)	100.99 ± 1.49	89.36 ± 1.23	<0.0001
DBP (mm Hg)	62.34 ± 1.12	52.36 ± 1.07	<0.0001
Total cholesterol (mmol/L)	4.49 ± 0.08	4.41 ± 0.08	0.5006
Triglycerides (mmol/L)	0.76 ± 0.04	0.59 ± 0.16	0.0002
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.32 ± 0.03	1.47 ± 0.04	0.0013
Apolipoprotein A1 (μmol/L)	53.5 ± 0.71	57.86 ± 1.07	0.0001
Apolipoprotein B (μmol/L)	26.43 ± 0.71	23.93 ± 0.36	0.0038
Free fatty acids (mmol/L)	0.548 ± 0.03	0.502 ± 0.02	<0.0001
Glucose (mmol/L)	5.05 ± 0.06	4.78 ± 0.04	0.0003
Insulin (pmol/L)	47.5 ± 2.64	38.68 ± 1.80	0.0066
HOMA-IR	1.554 ± 0.095	1.187 ± 0.059	0.0013

Clinical and anthropometric measurements, and biochemical parameters related to metabolic syndrome.

BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance. Results are expressed as the mean ± S.E.M.

**TABLE 2** | Comparison between children with obesity and children with normal weight.

	Children with obesity (n = 54)	Children with normal weight (n = 54)	p
ALT (U/L)	19.57 ± 0.68	17.20 ± 0.49	0.0068
AST (U/L)	24.81 ± 0.43	24.51 ± 0.53	0.655
BChE (U/L)	11178.5 ± 144.3	10636.3 ± 217.6	0.0413
IL-6 (pg/mL)	1.71 ± 0.14	1.43 ± 0.27	0.2526
CRP (mg/L)	2.34 ± 0.25	0.89 ± 0.22	<0.0001
sICAM-1 (ng/mL)	284.9 ± 8.84	250.3 ± 6.33	0.0006
Leptin (ng/mL)	19.39 ± 1.37	4.16 ± 0.54	<0.0001
Adiponectin (ng/mL)	9.74 ± 0.68	11.59 ± 0.67	0.0161
Creatine kinase (U/L)	113.39 ± 4.50	117.18 ± 5.98	0.6142

Hepatic enzymes, adipokines, inflammation, and endothelial biomarkers.

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BChE, butyryl cholinesterase; IL-6, interleukin-6; CRP, C-reactive protein; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1. Results are expressed as the mean ± S.E.M.

( $P$  partial = 0.0005), waist circumference ( $P$  partial = 0.0251), TG ( $P$  partial = 0.0045), and Apo A1 ( $P$  partial = 0.0327), but not insulin ( $P$  partial = 0.1071), HOMA-IR ( $P$  partial = 0.1138), or HDL-c ( $P$  partial = 0.0599) were independent predictive factors.

In the combined group (children with obesity group and children with normal weight together), serum ALT positively correlated with BMI ( $p = 0.0007$ ), waist circumference ( $p = 0.0009$ ), insulin ( $p < 0.0001$ ), HOMA-IR ( $p < 0.0001$ ), and TG ( $p = 0.0010$ ), and negatively correlated with HDL-c ( $p = 0.0121$ ), and Apo A1 ( $p = 0.0126$ ) while serum BChE positively correlated with BMI ( $p = 0.0007$ ), waist circumference ( $p = 0.0143$ ), insulin ( $p = 0.0494$ ), HOMA-IR ( $p = 0.0320$ ), and TG ( $p = 0.0015$ ), and negatively with HDL-c ( $p = 0.0416$ ).

## Liver Enzymes, Inflammation, Endothelial Dysfunction, and Adipokines

**Table 2** shows liver enzymes, adipokines, inflammation, and endothelial biomarkers for children with obesity and children with normal weight. The mean values for CRP, sICAM, and leptin were significantly higher in the children with obesity and adiponectin levels were significantly lower.

The univariate correlation analysis for liver enzymes, adipokines, inflammation, and endothelial biomarkers for children with obesity is summarized in **Table 3** and **Figure 2**. The ALT levels and the ALT/AST index positively correlated with IL-6, CRP, sICAM-1, and leptin, but not with adiponectin values. Serum BChE levels positively correlated with inflammation



**TABLE 3** | Single correlation coefficients ( $r$ ) between different variables in the children with obesity group.

	ALT		AST		ALT/AST		BChE	
	$r$	$p$	$r$	$p$	$r$	$p$	$r$	$p$
BMI	0.3705	0.0063	-0.1319	0.3466	0.4286	0.0013	0.4733	0.0003
BMI z-score	0.3112	0.0247	-0.0616	0.6578	0.2752	0.044	0.3409	0.0124
Waist circumference	0.4057	0.0035	-0.2489	0.0773	0.4057	0.0035	0.3019	0.0257
Glucose	0.3007	0.0286	-0.0597	0.668	0.3128	0.0224	0.0765	0.5822
Insulin	0.4452	0.0007	-0.1293	0.3512	0.4583	0.0005	0.2816	0.0414
HOMA-IR	0.4681	0.0005	-0.1220	0.3795	0.4696	0.0003	0.2739	0.0471
SBP	-0.2270	0.1098	-0.1848	0.1937	-0.0864	0.5463	0.0837	0.5592
DBP	-0.1469	0.3098	-0.1814	0.2012	-0.1090	0.4461	0.1051	0.4629
Total cholesterol	0.07	0.6148	-0.0639	0.6458	0.1116	0.4219	0.0659	0.6391
Triglycerides	0.3327	0.0156	0.0304	0.8318	0.2404	0.0887	0.4199	0.0017
HDL cholesterol	-0.2998	0.0287	-0.0474	0.7394	-0.1990	0.1574	-0.3024	0.0279
Apo A1	-0.3125	0.0237	-0.0057	0.9694	-0.2416	0.0882	-0.2993	0.0289
Apo B	0.1792	0.1947	0.0222	0.8733	0.1708	0.2168	0.0276	0.8429
IL-6	0.3631	0.007	0.0159	0.669	0.2853	0.0365	0.3075	0.0251
CRP	0.4159	0.0018	0.1965	0.1544	0.2795	0.0407	0.3117	0.0243
sICAM-1	0.323	0.0187	0.1332	0.3468	0.3262	0.0181	0.5333	<0.0001
Leptin	0.3633	0.0069	-0.3562	0.0082	0.5336	<0.0001	0.2522	0.0701
Adiponectin	0.0779	0.6058	-0.1961	0.1876	0.1916	0.1587	-0.4327	0.0006

BMI, body mass index; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; Apo A1, Apolipoprotein A1; Apo B, Apolipoprotein B; IL-6, interleukin-6; CRP, C-reactive protein; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1.

and endothelial biomarkers and negatively correlated with the adiponectin concentration.

A multivariate regression analysis was carried out for the children with obesity group. When adjusted for age and sex, levels of IL-6 ( $P$  partial = 0.0090), CRP ( $P$  partial = 0.0032), sICAM-1 ( $P$  partial = 0.0224), and leptin ( $P$  partial = 0.0223) were independent predictive factors for ALT. For serum BChE, age and sex-corrected levels of IL-6 ( $P$  partial = 0.0481), CRP ( $P$  partial = 0.0497), sICAM-1 ( $P$  partial < 0.0001), and Apo A1 ( $P$  partial = 0.0223) were independent predictive factors.

In the combined children with obesity and children with normal weight group, serum ALT positively correlated with levels of IL-6 ( $p = 0.0040$ ), CRP ( $p = 0.0003$ ), sICAM-1 ( $p = 0.0018$ ), and leptin ( $p < 0.0001$ ), but not with adiponectin ( $p = 0.5397$ ) while BChE levels positively correlated with IL-6 ( $p = 0.0481$ ), sICAM-1 ( $P$  partial = 0.0004), and leptin ( $p = 0.0047$ ) levels, and negatively correlated with adiponectin ( $p = 0.0082$ ).

## DISCUSSION

MetS is associated with an increased risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality (23). Moreover, children with metabolic syndrome are at an increased risk of cardiovascular disease in adulthood (24). We and other authors have detected low-grade systemic inflammation, alterations indicative of endothelial dysfunction, and altered adipokine levels alongside the disorders that define MetS (4–6) as well as an increase in leptin and decrease in adiponectin in children with obesity. In this work we described an increase in liver-function

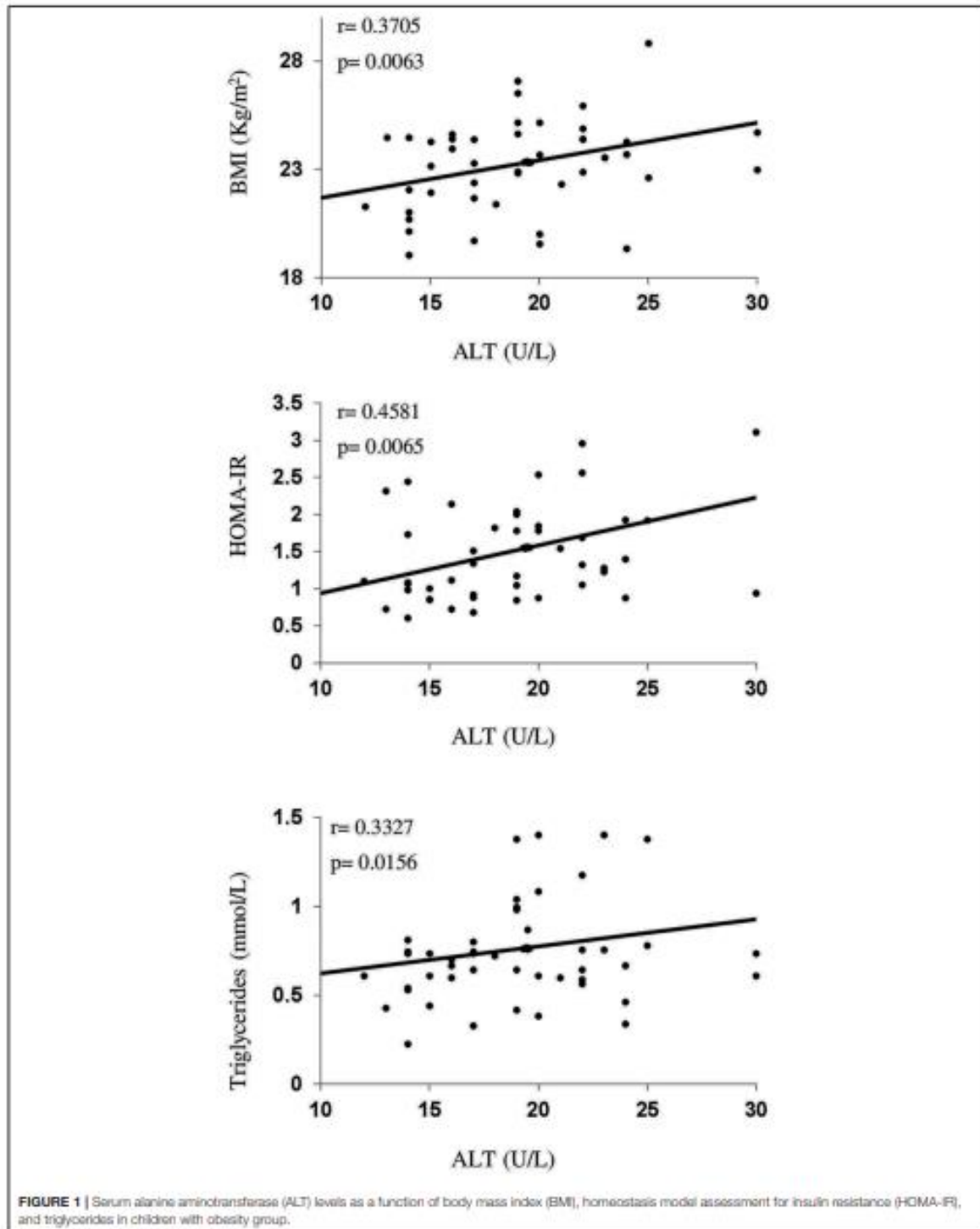
enzymes in prepubescent children with obesity compared to children with normal weight of an equal age. In addition to the variables related to MetS, we also correlated the values of these enzymes with markers of inflammation, endothelial dysfunction, and adipokine levels.

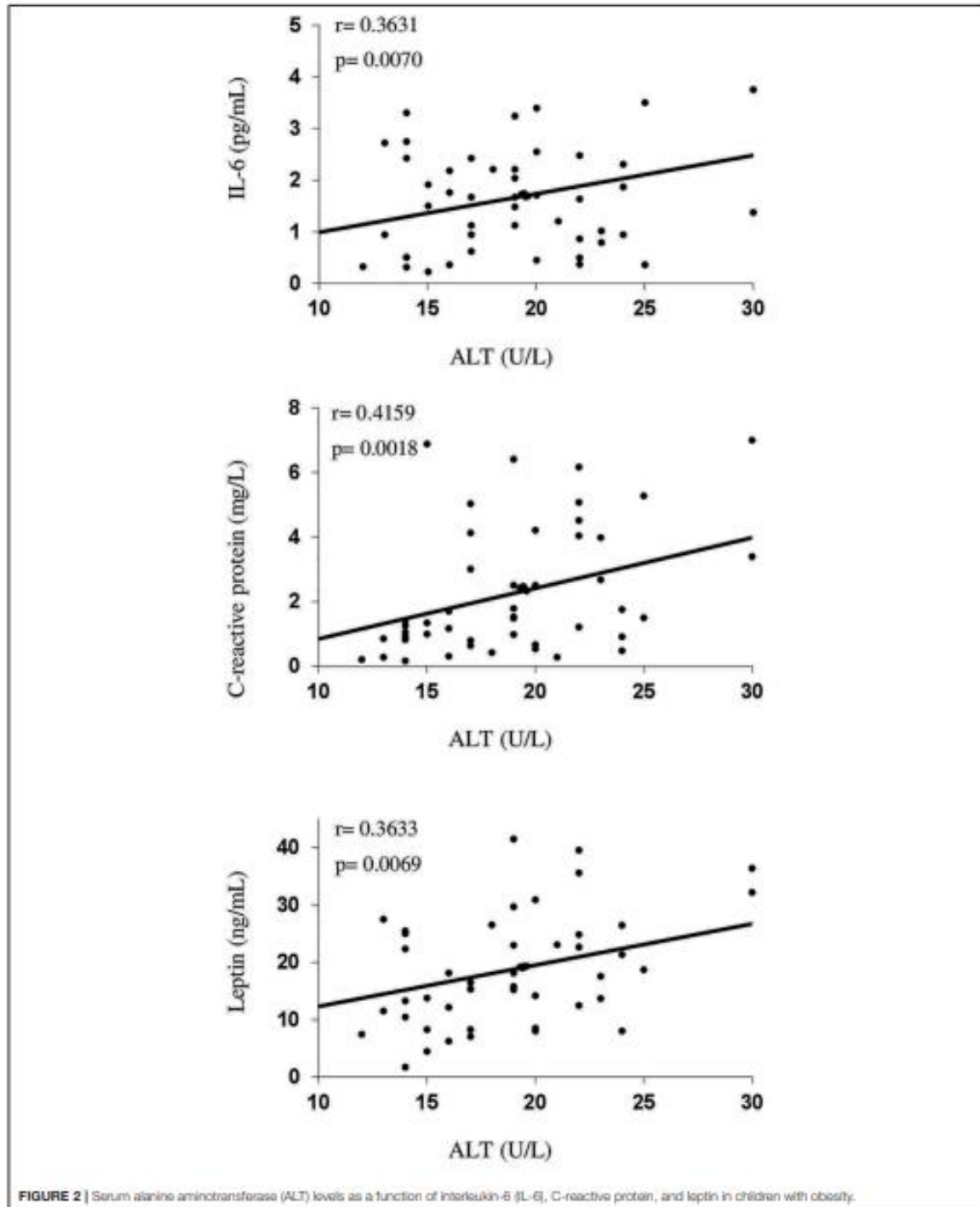
## Liver Enzymes, Insulin Resistance, and Parameters Related to MetS

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is considered to be the hepatic component of metabolic syndrome (25). In concert with the increase in prevalence rates of obesity and metabolic syndrome, the prevalence of NAFLD has increased dramatically to over 25% of the population worldwide (26).

The prevalence of NAFLD in children overweight or obesity ranges from 29.8 to 34.7% (27) and can cause a broad spectrum of lesions (9). The risk of steatosis and non-alcoholic steatohepatitis increases in children with obesity with MetS (9). Individuals with NAFLD had a significantly higher risk of cardiovascular disease (28).

The high prevalence of NAFLD, and its possible serious health consequences, make its early detection important because simple steatosis is reversible by lifestyle modifications, especially weight loss (29). Some expert committees recommend the use of serum ALT levels to screen for NAFLD in children older than 10 years (14). In this work, we analyzed the biochemical variables related to obesity and NAFLD before puberty. Studying these in this age group also allowed us to study how these parameters affect IR by eliminating the interference produced by hormonal changes during puberty.





ALT is closely related to the accumulation of fat in the liver and is considered a sensitive indicator of liver injury. It has been correlated with obesity and several components of MetS, including dyslipidaemia (30). Its elevation is also associated with the incidence of MetS, diabetes mellitus, and cardiovascular disease (14). Children with increased liver transaminases as surrogates of NAFLD show higher prevalences for prediabetes and type 2 diabetes mellitus as compared to those with normal transaminases (31).

AST and gamma glutamyl transferase (GGT) have not yet been independently tested as screening tools for NAFLD in children. In the context of elevated ALT, higher AST and GGT levels are associated with poorer histology (14). However, elevated AST or GGT in the context of normal ALT can also be representative of conditions other than NAFLD. Different studies describe a high prevalence of NAFLD in children and adolescents aged 10–19 years, even using an upper limit of normality for ALT that is lower than the usual standards (32). They propose that the definition of the upper limit of normal for ALT can be adjusted for each gender and ethnicity in the general population, while the laboratory ALT thresholds used for children should be re-examined. Similar to the results described in adults and adolescents, ALT was increased in prepubescent children with obesity in this study compared to children with normal weight. ALT correlated with anthropometric measurements, IR, and lipid parameters related to MetS and provided evidence that metabolic disorders related to obesity and NAFLD begin at a very early age in children with obesity. However, this association persisted when children with obesity and children with normal weight were jointly analyzed, suggesting that the increase in ALT levels entails a progressive increase in the values of parameters related to MetS.

The ALT test outcome is a continuous variable, and even fluctuation in the normal range also indicates a potential risk of metabolic disorders or cardiovascular disease in a given population (33). Of note, the definition of the upper limit of normality for ALT can be adjusted according to gender and ethnicity in the general population. For some authors, using the gender-specific upper limits of normality in children as a reference, the use of two times the gender-specific ALT in overweight and obese children aged  $\geq 10$  years showed a sensitivity of 88% and a specificity of 26% for the diagnosis of NAFLD (14, 34). Thus, it might be of interest to review the normal limits of ALT, as well as considering the inclusion of liver enzyme assessments, even for children aged under 10 years.

NAFLD is closely related to IR and hyperinsulinemia, which favors an increase in the levels of free fatty acids, TG, and the onset of hepatic steatosis (35). The group of children with obesity studied in this work presented an increase in FFAs, TG, and IR markers and both serum TG and HOMA-IR were correlated with liver enzyme values. The presence of saturated free fatty acids generates reticulocyte stress and hepatocellular lesions (36). Indeed, an increase in plasma levels of BChE has been reported in individuals with abdominal obesity and MetS (15).

Serum BChE levels are associated with components of MetS has also been described in adolescents (37). In our group,

BChE values were also correlated with parameters related to MetS, although when corrected for age and sex, insulin, and HOMA-IR were not independent predictive factors. However, this association was also maintained when both groups were analyzed together. The ALT/AST index did not appear to provide more information than derived from ALT and BChE separately. Thus, we can conclude that increased levels of liver enzymes and parameters related to altered MetS are present at an early age in children with obesity and there is a correlation between them.

### Liver Enzymes, Inflammation, Endothelial Dysfunction, and Adipokines

Adipose tissue interacts with the liver and releases a series of adipokines involved in processes such as inflammation, insulin sensitivity, and NAFLD. An increase in BChE has also been observed in NAFLD. Another mechanism for these associations may be inflammation (38).

Leptin increases IR and the production of fatty acids in hepatocytes and promotes inflammatory and fibrogenic pathways in the liver (39), mechanisms that can contribute to the development of NAFLD. Higher leptin levels are associated with NAFLD and the serum leptin concentration correlates with its severity (40).

In this age group (6–9 years), we found a significant association both between ALT and BChE with markers of inflammation, endothelial dysfunction, and IR, in turn resulting in a positive correlation between liver enzymes and leptin concentration. Serum CRP levels are predictive of NAFLD and have been related to the presence and severity of liver fibrosis (41).

The transition from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis is accompanied by an additional decrease in adiponectin levels (42). It may have a key role in the relationship between adipose tissue, IR, and inflammation. Although ALT was not associated with adiponectin levels, we did find a significant inverse correlation between adiponectin and BChE. Thus, from an early age, adipose tissue may be involved in the onset of the metabolic disorders that accompany obesity and its complications such as MetS and NAFLD.

The optimal age for NAFLD screening and the need for repeat screenings remain undetermined because of the lack of pediatric studies on the incidence and natural history of NAFLD in young patients. The North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (NASPGHAN) guidelines recommend the use of serum ALT levels to screen for NAFLD in children, starting from the age of 9 years (14).

The data provided in this study describe the early onset of metabolic disorders related to obesity and NAFLD, which may suggest that screening should be initiated at ages under 10 years, particularly in children with obesity. Thus, it may be of interest to review the normal limits of ALT and to evaluate liver enzymes from prepubertal ages, as well as assessing the usefulness of other possible biochemical markers in pediatric patients. In this regard, extensive studies will be



necessary in prepubertal children, including the evaluation of whether weight loss positively affects liver enzymes and its impact on other variables that accompany metabolic syndrome and NAFLD.

The design of this current study did not allow us to establish if there were any sex-related differences in our population. Although this was a limitation, even after age and sex-corrected multivariate regression analysis, the main variables we studied for this age group maintained the same correlations. Only prepubertal children were studied in this current research in order to eliminate the influence of the hormonal changes that occur with puberty.

Another limitation of this work was that we did not perform any imaging studies. Nonetheless, we did aim to assess whether any alterations in biochemical parameters related to obesity and NAFLD were present in children with obesity before puberty and to determine any correlations between them.

Despite recent advances in the understanding of pediatric NAFLD, the evolution, and consequences of this condition are still unclear. The information from the future research would help create clinical programs for early diagnosis and intervention before significant vascular disease begins (43). In addition to the determination of liver enzymes, other parameters related to inflammation and adipokines could also add information to its evaluation in children with obesity at an early age (6–9 years).

## CONCLUSIONS

We described an increase in liver enzyme values, markers of IR, inflammation, and endothelial dysfunction, together with the variables that define MetS and altered levels of adipocytokines in prepubescent children with obesity compared to age and sex-matched children with normal weight and there was a correlation between these alterations and liver-function enzymes.

## REFERENCES

- Zimmer P, Alberti KG, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes*. (2007) 8:299–306. doi: 10.1111/j.1399-5448.2007.00271.x
- Ahrens W, Moreno LA, Mårild S, Molnár D, Siani A, De Henauw S, et al. Metabolic syndrome in young children: definitions and results of the IDEFICS study. *Int J Obes*. (2014) 38:54–14. doi: 10.1038/ijo.2014.130
- Day C. Metabolic syndrome, or what you will: definitions and epidemiology. *Diab Vasc Dis Res*. (2007) 4:32–8. doi: 10.3132/dvdr.2007.003
- Ergü FS, Hasanoglu A, Tümer I, Özbay F, Aybay C, Gündüz M. Endothelial activation and inflammation in prepubertal obese Turkish children. *Metabolism*. (2005) 54:1384–9. doi: 10.1016/j.metabol.2005.05.003
- Martos R, Valle M, Morales RM, Cañete R, Gascón F, Urbano MM. Changes in body mass index are associated with changes in inflammatory and endothelial dysfunction biomarkers in obese prepubertal children after 9 months of body mass index SD score loss. *Metabolism*. (2009) 58:1153–60. doi: 10.1016/j.metabol.2009.03.017
- Valle M, Martos R, Gascón F, Cañete R, Zafrá MA, Morales R. Low-grade systemic inflammation, hypoalbuminemia and a high concentration of leptin are present in very young obese children,

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

## ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by the Research and Ethics Commission, North Sanitary Area of Cordoba, Hospital Valle de los Pedroches, C/ Juan del Rey Calero s/n 14400, Pozoblanco, Córdoba, Spain. Written informed consent to participate in this study was provided by the participants' legal guardian/next of kin.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

MC is responsible for all data collection and samples of all participants at the Hospital Reina Sofia (Córdoba). She wrote the manuscript and approved the final manuscript as presented. RV-M participated in designing the study, data analysis, interpretation, discussion, and collaborated in the writing of the manuscript. MV and RM created the sampling and supervised data collection. They participated in the interpretation and discussion of the data, reviewed, and edited the manuscript. RC is responsible and coordinator for recruiting children at the Hospital Reina Sofia (Córdoba). LJ-R designed the study, collaborated in data analysis, interpretation, and discussion. All authors have read and approved the final manuscript and assume full responsibility for its contents.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grants from the Spanish Ministry of Health and the Fund for Research in Health [Fondo de Investigación Sanitaria (FIS PI021155)].

- and correlate with metabolic syndrome. *Diabetes Metab*. (2005) 31:55–62. doi: 10.1016/S1262-3636(07)70167-2
- Cuzmar V, Alberti G, Uauy R, Pereira A, García C, De Barbieri F, et al. Early obesity: risk factor for fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. (2020) 70:93–8. doi: 10.1097/MPG.0000000000002523
- Machado MV, Cortez-Pinto H. Management of fatty liver disease with the metabolic syndrome. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. (2014) 8:487–500. doi: 10.1586/17474124.2014.903798
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. (2011) 34:274–85. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x
- Yu EL, Goldhan S, Harlow KE, Angeles JE, Darelle J, Goyal NP, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in children with obesity. *J Pediatr*. (2019) 207:64–70. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.11.021
- Nobli V, Alkhouri N, Alisi A, Della Corte C, Fitzpatrick E, Raponi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a challenge for pediatricians. *JAMA Pediatr*. (2015) 169:170–6. doi: 10.1001/jamapediatrics.2014.2702
- Clemente MG, Mandato C, Poeta M, Vajro P. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: Recent solutions, unresolved issues,

- and future research directions. *World J Gastroenterol*. (2016) 22:8078–93. doi: 10.3748/wjg.v22.i36.8078
13. Goessling W, Massaro JM, Vasan RS, D'Agostino RB Sr, Ellison RC, Fox CS. Aminotransferase levels and 20-year risk of metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease. *Gastroenterology*. (2008) 135:1935–44. doi: 10.1053/j.gastro.2008.09.018
  14. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. (2017) 64:319–34. doi: 10.1097/MPG.0000000000001482
  15. Duchnowicz P, Ziobro A, Rapacka E, Koter-Michalak M, Bukowska B. Changes in cholinesterase activity in blood of adolescent with metabolic syndrome after supplementation with extract from *Aronia melanocarpa*. *Biomed Res Int*. (2018) 2018:5670145. doi: 10.1155/2018/5670145
  16. Vallianou NG, Evangelopoulos AA, Bountziouka V, Bonou MS, Katsagoni C, Vogiatzakis ED, et al. Association of butyrylcholinesterase with cardiometabolic risk factors among apparently healthy adults. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. (2014) 15:377–83. doi: 10.2459/JCM.0b013e3283627700
  17. Boutari C, Perakakis N, Mantzoros CS. Association of adipokines with development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrinol Metab (Seoul)*. (2018) 33:33–43. doi: 10.3803/EnM.2018.33.1.33
  18. Nappo A, González-Gil EM, Ahrens W, Bammann K, Michels N, Moreno LA, et al. Analysis of the association of leptin and adiponectin concentrations with metabolic syndrome in children: Results from the IDEFICS study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. (2017) 27:543–51. doi: 10.1016/j.numecd.2017.04.003
  19. Holterman AX, Guzman G, Fantuzzi G, Wang H, Aigner K, Browne A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese adolescent and adult patients. *Obesity (Silver Spring)*. (2013) 21:591–7. doi: 10.1002/oby.20174
  20. Schwimmer JB, Zepeda A, Newton KP, Xanthakos SA, Behling C, Hallinan EK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. Longitudinal assessment of high blood pressure in children with nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS One*. (2014) 9:e112569. doi: 10.1371/journal.pone.0112569
  21. Erhardt E, Foraita R, Pigeot I, Barba G, Veidebaum T, Tornaritis M, et al. Reference values for leptin and adiponectin in children below the age of 10 based on the IDEFICS cohort. *Int J Obes (Lond)*. (2014) 38:532–8. doi: 10.1038/ijo.2014.133
  22. Fernández C, Lorenzo H, Vrotsou K, Aresti U, Rica I, Sánchez E. Estudio de Crecimiento de Bilbao. Curvas y tablas de crecimiento. Estudio Transversal. Fundación Faustino Orbegozo (2011).
  23. Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab*. (2007) 92:399–404. doi: 10.1210/jc.2006-0513
  24. Morrison JA, Friedman LA, Gray-McGuire C. Metabolic syndrome in childhood predicts adult cardiovascular disease 25 years later: the Princeton Lipid Research Clinics Follow-up Study. *Pediatrics*. (2007) 120:340–5. doi: 10.1542/peds.2006-1699
  25. Arab JP, Arrese M, Trauner M. Recent insights into the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Annu Rev Pathol*. (2018) 13:321–50. doi: 10.1146/annurev-pathol-020117-043617
  26. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. (2017) 15:11–20. doi: 10.1038/nrgastro.2017.109
  27. Crespo M, Lappe S, Feldstein AE, Alkhouli N. Similarities and differences between pediatric and adult nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. (2016) 65:1161–71. doi: 10.1016/j.metabol.2016.01.008
  28. Motamed N, Rabiee B, Poustchi H, Dehestani B, Hemasi GR, Khosravi MR, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and 10-year risk of cardiovascular diseases. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. (2017) 41:31–8. doi: 10.1016/j.clinre.2016.07.005
  29. Hannah WN Jr, Harrison SA. Effect of weight loss, diet, exercise, and bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis*. (2016) 20:339–50. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.008
  30. Hartman C, Rennert HS, Rennert G, Elenberg Y, Zuckerman E. Prevalence of elevated liver enzymes and comorbidities in children and adolescents with overweight and obesity. *Acta Paediatr*. (2020). doi: 10.1111/apa.15469. [Epub ahead of print].
  31. Koutny F, Weghuber D, Bollow E, Greber-Platzer S, Hartmann K, Körner A, et al. Prevalence of prediabetes and type 2 diabetes in children with obesity and increased transaminases in European German-speaking countries. Analysis of the APV initiative. *Pediatr Obes*. (2020) 15:e12601. doi: 10.1111/ijpo.12601
  32. Kang Y, Park S, Kim S, Koh H. Normal serum alanine aminotransferase and non-alcoholic fatty liver disease among Korean adolescents: a cross-sectional study using data from KNHANES 2010–2015. *BMC Pediatr*. (2018) 18:215. doi: 10.1186/s12887-018-1202-z
  33. Siddiqui MS, Sterling RK, Laketic VA, Puri P, Stravitz RT, Bouneva I, et al. Association between high-normal levels of alanine aminotransferase and risk factors for atherogenesis. *Gastroenterology*. (2013) 145:1271–9. doi: 10.1053/j.gastro.2013.08.036
  34. Schwimmer JB, Newton KP, Awai HI, Choi LJ, Garcia MA, Ellis LL, et al. Paediatric gastroenterology evaluation of overweight and obese children referred from primary care for suspected non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. (2013) 38:1267–77. doi: 10.1111/apt.12518
  35. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev*. (2002) 23:201–29. doi: 10.1210/edrv.23.2.0461
  36. Pardo V, González-Rodríguez Á, Muntané J, Kozma SC, Valverde ÁM. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food Chem Toxicol*. (2015) 80:298–309. doi: 10.1016/j.fct.2015.03.029
  37. Han Y, Ma Y, Liu Y, Zhao Z, Zhen S, Yang X, et al. Plasma cholinesterase is associated with Chinese adolescent overweight or obesity and metabolic syndrome prediction. *Diabetes Metab Syndr Obes*. (2019) 12:685–702. doi: 10.2147/DMSO.S201594
  38. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. (2006) 444:860–7. doi: 10.1038/nature05485
  39. Meek TH, Morton GJ. The role of leptin in diabetes: metabolic effects. *Diabetologia*. (2016) 59:928–32. doi: 10.1007/s00125-016-3898-3
  40. Rotundo L, Persaud A, Feurdean M, Ahlawat S, Kim HS. The Association of leptin with severity of non-alcoholic fatty liver disease: a population-based study. *Clin Mol Hepatol*. (2018) 24:392–401. doi: 10.3350/cmh.2018.0011
  41. Yoneda M, Maswatori H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, et al. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol*. (2007) 42:573–82. doi: 10.1007/s00535-007-2060-x
  42. Polyzos SA, Toulis KA, Goulis DG, Zavos C, Kountouras J. Serum total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. (2011) 60:313–26. doi: 10.1016/j.metabol.2010.09.003
  43. Karjoo S. Is there an association of vascular disease and atherosclerosis in children and adolescents with obesity and non-alcoholic fatty liver disease? *Front Pediatr*. (2018) 6:345. doi: 10.3389/fped.2018.00345

**Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Valle-Martos, Valle, Martos, Cañete, Jiménez-Reina and Cañete. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.



**X.- ANEXO 2**



## Original Article

# Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children

Valle M, Martos R, Cañete MD, Valle R, van Donkelaar EL, Bermudo F, Cañete R. Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children. *Pediatric Diabetes* 2015; 16: 441–447.

**Background:** High serum uric acid (SUA) levels are present in patients with metabolic syndrome (MetS), when the latter is associated with endothelial dysfunction, inflammation, and hypertension. This increase in SUA levels may have a key role in cardiovascular diseases.

**Objective:** We aim to quantify the differences in inflammation biomarkers, endothelial dysfunction, and parameters associated with MetS in obese prepubertal children compared to non-obese children, and determine if there is a relationship between uric acid levels and these variables.

**Methods:** A cross-sectional study was carried out on obese children (6–9 yr old). The study included 43 obese children and the same number of non-obese children (control group), matched by age and sex. SUA, C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), glucose, insulin, lipid profile, and blood pressure were all measured.

**Results:** SUA levels, CRP, and sICAM-1 were significantly higher in obese children. In the obese group, SUA levels showed a positive correlation with body mass index (BMI), insulin, homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR), CRP, IL-6, sICAM-1, and triglycerides (TGs), and correlated negatively with high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and Apo-AI, but not with Apo-B. When adjusted for age, sex, and creatinine, it was noted that SUA levels are independent predictive factors for sICAM-1, CRP, and IL-6.

**Conclusions:** Inflammation biomarkers, endothelial dysfunction, and parameters associated with MetS are elevated in obese prepubertal children and correlate to uric acid levels.

**Miguel Valle<sup>a</sup>,  
 Rosario Martos<sup>b</sup>,  
 María Dolores Cañete<sup>c</sup>,  
 Rosario Valle<sup>d</sup>,  
 Eva L van Donkelaar<sup>e</sup>,  
 Francisco Bermudo<sup>a</sup>  
 and Ramón Cañete<sup>f,g</sup>**

<sup>a</sup>Clinical Laboratory Department, Valle de los Pedroches Hospital, Pozoblanco, Córdoba, Spain; <sup>b</sup>Health Center of Pozoblanco, IMBIC Córdoba, Spain; <sup>c</sup>PAIDI Group TSH-329 (IMBIC), University of Córdoba, Córdoba, Spain; <sup>d</sup>Faculty of Medicine, Medical Surgical Specialties Department, Córdoba, Spain; <sup>e</sup>Faculty of Health, Medicine and Life Sciences, Maastricht University, Maastricht, the Netherlands; <sup>f</sup>Pediatric Department, Reina Sofia Hospital, School of Medicine Córdoba, Córdoba, Spain; and <sup>g</sup>School of Medicine Córdoba, Córdoba, Spain

**Key words:** children – endothelial dysfunction – inflammation – obesity – uric acid

Corresponding author: Dr Miguel Valle Jiménez,  
 Clinical Laboratory Department,  
 Valle de los Pedroches Hospital,  
 C/ Juan del Rey Calero s/n,  
 Pozoblanco 14400,  
 Córdoba,  
 Spain.  
 Tel: (34) 957026309;  
 fax: (34) 957026309;  
 (34) 957026310;  
 e-mail: miguelvalle90@yahoo.es

Submitted 24 March 2014.  
 Accepted for publication 1 July 2014

The last few years have seen a progressive increase in childhood obesity (1), and it is the most prevalent nutritional condition in developed countries (2). It is

frequently associated to a series of metabolic disorders that comprise the so-called metabolic syndrome (MetS) (3, 4). Together with this syndrome, the following are

**Valle et al.**

described in the obese adult: endothelial dysfunction, insulin resistance (IR), low degree of systemic inflammation, and inadequate fibrinolysis (5–8).

Increased serum uric acid (SUA) levels are present in patients with MetS, and obesity is the main determining factor of SUA level variation (9). In adults, the prevalence of this syndrome increases with increasing SUA levels (9–11). Uric acid may be a determining factor in this syndrome (9).

Therefore, high levels of SUA are associated with MetS, when this is associated to endothelial dysfunction, inflammation, and hypertension, and all this may contribute to the development of atherosclerosis (12, 13).

A positive and significant association has been described between SUA and several inflammation markers, such as C-reactive protein (CRP) and interleukin (IL)-6 (13).

Elevated levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM) are indicative of endothelial dysfunction, and this molecule plays an important role in the initiation of the inflammatory process (14).

Increased SUA levels may be an expression of an insulin-resistant state. Recent data have found that SUA is significantly associated with the homeostasis model assessment of IR in obese children (15). IR has a central role in the relationship between uric acid and MetS (9, 10, 16) and it is believed to cause a reduced excretion of SUA.

Different studies have described SUA as an independent risk factor for cardiovascular disease (CVD) (17, 18). Uric acid may mediate these effects by inducing oxidative stress, inflammation, and endothelial dysfunction (19, 20). Different evidence suggests that SUA stimulates vascular smooth muscle proliferation and induces endothelial dysfunction. This direct action of SUA has been suggested as a possible mechanism for its deleterious effects (21, 22).

In children and adolescents, the association between SUA and MetS has been described, as well as the different factors of cardiovascular risk in MetS (15, 23, 24).

Together with the disorders that define MetS, an increase in markers associated to endothelial dysfunction and inflammation, as well as elevated levels of SUA have been described in obese children compared to children with normal weight (25–28).

The association between the increase in uric acid and these variables may be initiated, in the obese child, at very early ages. The studies that analyze this possible association in obese children are scarce, and even more so the studies that analyze prepubescent children.

The aim of this study is to quantify the differences in inflammation biomarkers, endothelial dysfunction, and parameters associated with MetS in obese prepubertal children vs. non-obese children, and

determine if there is a relationship between uric acid levels and these variables.

**Materials and methods****Subjects**

A cross-sectional study was carried out in obese children of both genders. One group included 43 obese children [body mass index (BMI) that surpassed the percentile 95 in the reference tables for the Spanish population] (29), and the other group (control) included an equal number of non-obese children (percentile <85) matched by age and sex (6–9 yr old). The study only included prepubertal children (Tanner stage 1).

Taking the homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) as the main variable, and given that the standard deviations for the two groups were 0.059 and 0.106, respectively, and that the expected mean difference was 0.052, with a power of 80% and a confidence level of 95%, 43 patients were required in the obese group and 43 in the control group.

Children with primary hyperlipidemia, hypertension, diabetes (fasting glucose  $\geq 7.0$  mmol/L), and impaired fasting glucose (fasting glucose  $\geq 6.1$  mmol/L and  $<7.0$  mmol/L) (30) were excluded from both the test group and the control group, as were children with secondary obesity. None of the subjects were receiving regular drug treatment.

The study groups were formed of children from several schools. First, their corresponding pediatricians in the different schools were informed about the realization of the study. Child was included in one or another group according to his BMI. All the children are of Spanish origin. All parents gave their written consent, and the study was authorized by the hospital ethics committee.

**Blood sampling and analysis**

After a fasting period of 12 h, blood samples were collected from a vein in the antecubital fossa, without venous occlusion. Entire collections were made between 08:00 and 09:00 hours.

The samples were separated into aliquots and frozen immediately at  $-45^{\circ}\text{C}$  until analysis. The following were measured in all the children: sICAM, CRP, and IL-6 levels, together with a range of MetS-related variables (insulin, lipids, blood pressure, carbohydrate metabolism, and uric acid). Glucose, uric acid, cholesterol, and triglyceride (TG) concentrations were measured using a random access analyzer (Axon, Bayer Diagnostics) with reagents from Bayer Diagnostics. The homeostasis model assessment for IR (HOMA-IR) was used to detect the degree of IR.



Resistance was assessed from fasting glucose and insulin concentrations using the formula: resistance (HOMA-IR) = [insulin (mU/L) × glucose (mmol/L)] / 22.5. High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was measured after precipitation of chylomicrons, very low-density lipoproteins, and low-density lipoproteins with phosphotungstic acid and magnesium ions. Insulin was quantified using an Access2-Immunoassay System (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Apolipoprotein A-I (Apo A-I), apolipoprotein B, and CRP were measured by nephelometry [N Antisera to Human Apo A-I, Apolipoprotein B (Apo-B), and N High Sensitivity CRP reagent, Behringwerke AG, Marburg, Germany] in a Dade Behring Analyzer II Nephelometer (Dade Behring, Inc., Deerfield, IL, USA). Antigenic immunoassay methods were used for the quantification of IL-6 (Quantikine human IL-6, RD systems, Wiesbaden-Nordenstadt, Germany) and sICAM-1 was measured by ELISA (IBL Immuno-Biological Laboratories, Hamburg, Germany) using a microtiter plate analyzer (Personal LAB, Phadia Spain S.L. Barcelona, Spain).

Anthropometric measurements and blood pressure: weight was measured to the nearest 0.1 kg and height to the nearest 0.1 cm. BMI was calculated as weight (kg)/height (m)<sup>2</sup>. Blood pressure was measured with a mercury sphygmomanometer (Pymah Corporation, Somerville, NJ, USA) after a 20-min rest, in a supine position. Three cuff sizes were used (9 × 32, 11 × 36, and 12 × 41 cm); the cuff width was required to cover 2/3 of the length of the child's arm. Three measurements were made, one every day, and the mean of the three was used.

#### Statistical analysis

Statistical assessment was performed using Microstat (Ecosoft, Indianapolis, IN, USA) or GraphPAD InStat (GraphPAD Software, San Diego, CA, USA). Abnormal values (outliers) were excluded. Results were expressed as a mean ± standard error mean (SEM), with a 95% confidence interval (95% CI).

The distribution of each variable was tested for departure from Gaussian distribution, and variance equality was controlled by Snedecor's F-test. The mean values of the groups were compared using Student's unpaired *t*-test. Statistical significance was set at *p* < 0.05. Correlation between variables was evaluated using Pearson's correlation coefficient and regression analysis. Multivariate regression analysis was performed using the stepwise method. For each variable, potential confounders (0.05 < *p* < 0.2) were evaluated by an analysis of raw and adjusted regression coefficients.

#### Uric acid and inflammation in children

Table 1. Comparison between obese and non-obese children. Anthropometric measurements, insulin resistance, and blood pressure

	Non-obese children (n = 43)	Obese children (n = 43)	<i>p</i>
Male/female	18/25	18/25	
Age (yr)	7.91 ± 0.15	8.03 ± 0.17	0.601
Weight (kg)	27.37 ± 0.67	41.45 ± 0.98	<0.001
Height (cm)	127.46 ± 1.08	132.03 ± 1.09	0.004
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16.83 ± 0.21	23.68 ± 0.34	<0.001
BMI z-score	0.05 ± 0.01	3.39 ± 0.17	<0.001
Waist circumference (cm)	57.72 ± 1.97	73.04 ± 2.19	<0.001
Glucose (mmol/L)	4.72 ± 0.04	4.75 ± 0.06	0.677
Insulin (μU/mL)	5.40 ± 0.34	6.88 ± 0.46	0.013
HOMA-IR	1.13 ± 0.06	1.48 ± 0.11	0.006
SBP (mm Hg)	88.87 ± 1.20	99.08 ± 1.46	<0.001
DBP (mm Hg)	52.25 ± 1.07	60.81 ± 1.22	<0.001

BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; SBP, systolic blood pressure. Values are means ± SEM.

Table 2. Comparison between obese and non-obese children. Uric acid, lipids levels, inflammation, and endothelial biomarkers

	Non-obese children (n = 43)	Obese children (n = 43)	<i>p</i>
Uric acid (mmol/L)	0.21 ± 0.004	0.24 ± 0.007	0.006
sICAM-1 (ng/mL)	247.73 ± 6.43	278.30 ± 9.93	0.011
C-reactive protein (mg/L)	0.92 ± 0.23	2.48 ± 0.31	<0.001
IL-6 (pg/mL)	1.60 ± 0.22	1.81 ± 0.16	0.441
Cholesterol (mmol/L)	4.32 ± 0.10	4.51 ± 0.09	0.174
Triglycerides (mmol/L)	0.585 ± 0.02	0.804 ± 0.05	<0.001
Apolipoprotein A-I (g/L)	1.61 ± 0.03	1.47 ± 0.03	0.001
Apolipoprotein B (g/L)	0.67 ± 0.02	0.72 ± 0.02	0.099
HDL-C (mmol/L)	1.44 ± 0.05	1.31 ± 0.04	0.027
LDL-C (mmol/L)	2.62 ± 0.08	2.844 ± 0.09	0.056

Values are means ± SEM. HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; IL-6, interleukin-6; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; SEM, standard error mean; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1.

#### Results

Clinical, anthropometric, and biochemical parameters were measured in the obese and control groups (Table 1). The mean age was 8.03 (obese) and 7.91 yr (control), with a range of 6–9 yr.

Mean SUA levels were significantly higher in obese children, at 3.96 mg/dL (95% CI 3.73–4.19) compared to 3.59 mg/dL in the control group (95% CI 3.44–3.74) (Table 2).

Valle et al.

Although glucose concentration was slightly higher in the obese group, the differences were not significant (Table 1).

Relationship between uric acid and biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction

Obese children displayed higher plasma sICAM-1 and CRP concentrations than non-obese subjects (Table 2). No significant differences were found in IL-6 levels between the obese group and the control group.

In the single linear correlation, for the obese group, SUA concentration was positively correlated with sICAM-1, CRP, and IL-6 (Fig. 1).

In the obese group, a multivariate regression analysis was carried out. Adjusting for age, sex, and creatinine, it was noted that SUA is an independent predictive factor for sICAM-1 (partial  $p = 0.0014$ ), CRP (partial  $p = 0.020$ ), and IL-6 (partial  $p = 0.023$ ).

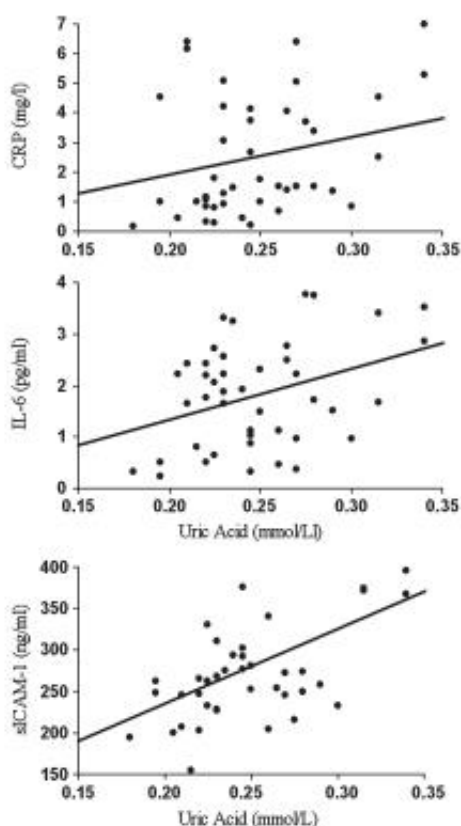


Fig. 1. Serum uric acid (SUA) concentrations as a function of C-reactive protein (CRP) ( $r = 0.3375$ ;  $p = 0.027$ ), interleukin (IL)-6 ( $r = 0.3614$ ;  $p = 0.017$ ), and soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) ( $r = 0.5152$ ;  $p < 0.001$ ) in obese children.

Table 3. Simple correlation coefficients ( $r$ ) between uric acid and different variables of the obese group ( $n = 43$ ) and the total group (obese and non-obese together) ( $n = 86$ )

	Uric acid	
	Obese	Obese and non-obese (together)
BMI	0.3943*	0.4275***
Insulin	0.3601**	0.4025***
HOMA-IR	0.3513**	0.3956***
C-reactive protein	0.3375**	0.3896***
IL-6	0.3614**	0.3145**
sICAM-1	0.5152***	0.4653***
Cholesterol	-0.0503	0.0340
Triglycerides	0.3631**	0.4454***
Apolipoprotein A-I	-0.3018	-0.2923**
Apolipoprotein B	0.0355	0.0710
HDL-C	-0.3850**	-0.2956**
SBP	-0.2187	-0.0750
DBP	-0.2069	-0.0808

BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; IL-6, interleukin-6; SBP, systolic blood pressure; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1.  $p < 0.01$ ; \*\* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.001$ .

In the combined group (obese and non-obese together), SUA correlates positively with sICAM-1, CRP, and IL-6 (Table 3). Adjusted for age and gender, in the entire group, the level of uric acid is an independent predictive factor for sICAM-1 ( $P$  partial  $< 0.001$ ), CRP ( $P$  partial = 0.028), and IL-6 ( $P$  partial = 0.023).

Relationship between uric acid, IR, and parameters related to MetS

Tables 1 and 2 show MetS-related parameters for obese and non-obese children. Mean values for insulin, HOMA-IR, systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and TGs were significantly higher in the obese group.

HDL-cholesterol and apolipoprotein A-I levels were significantly lower in obese children (Table 2).

The univariate correlation analysis for MetS-related parameters for obese and total group (obese and non-obese together) is summarized in Table 3. In the single linear correlation, in both the obese group and the whole group, SUA levels correlated positively with BMI, insulin, HOMA-IR, and TGs, and negatively with apolipoprotein A-I and HDL-C.

Discussion

Relationship between uric acid, IR, and parameters related to MetS

Obesity is a chronic condition that is frequently associated with various metabolic disorders that are grouped under the heading of MetS (3). This



### Uric acid and inflammation in children

syndrome is associated with high risk for diabetes and atherosclerotic CVD (31).

In adults, MetS may be accompanied by alterations of the endothelial function, resistance to insulin, and a low degree of systemic inflammation and inadequate fibrinolysis.

In this study, together with the disorders that are characteristic of MetS an increased SUA and increased biomarkers for IR are noted in obese compared to non-obese prepubescent children. These biomarkers correlate significantly with SUA levels.

There are high levels of SUA in MetS patients. The prevalence of this syndrome increases with increasing SUA levels (9, 10, 32). Obesity is the main determining factor for the variation of uric acid. An increase of one standard deviation in uric acid levels is associated in both genders to a 35% higher probability of MetS, which suggests that uric acid is a determining factor for this syndrome (9). Reduction in Standard Deviation Score (SDS)-BMI significantly correlates with changes in SUA in obese adolescents (33). In the results described in this study, SUA levels are significantly associated with the BMI, both in obese children and in the total group (obese and non-obese children jointly).

In obese prepubertal children, high levels of SUA have been described compared to non-obese children, as well as a significant association with features of IR syndrome (23). SUA was significantly associated with the homeostasis model assessment of IR in obese children (15). The association between SUA and MetS can be measured by the resistance to insulin (9, 10, 16). IR could be implicated in the lower uric acid excretion. Consistently with these statements, the current study found high levels of SUA and HOMA-IR in obese children compared to the levels in non-obese children. Furthermore, SUA levels correlate significantly with baseline insulin levels and HOMA-IR index.

The relationship between SUA level and CVDs has long been controversial (34). Some studies describe uric acid as an independent risk factor for CVD (17, 18). A significant correlation has been described between various indexes of coronary heart disease and SUA levels (5). In healthy adults, SUA levels are associated with different cardiovascular risk factors associated with MetS, such as obesity, hypertension (35, 36), low- and high-density lipoprotein-cholesterol, hypertriglyceridemia, and impaired glucose tolerance (11, 32, 34).

In this study, although SBP and DBP values were higher in obese children, there was no correlation between them and SUA values. Although other authors have reported a correlation between blood pressure and SUA (37), the children in this study were younger, and were all prepubertal. A future correlation between these two variables in the same subjects correlation at later ages cannot be ruled out.

Just as with adult subjects, SUA levels are inversely associated to the HDL-C concentration (33, 38).

#### Relationship between uric acid and biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction

Therefore, high concentrations of SUA are associated with MetS, which in turn is associated with endothelial dysfunction, inflammation, and hypertension, and all this may contribute to the development of early atherosclerosis (12, 13, 20, 39). IR and a range of metabolic disorders grouped under the label 'MetS' are reported in obese children (24, 40); a number of authors – including the present team – have detected a low-grade systemic inflammation, alterations indicative of endothelial dysfunction (14, 25, 5, 41, 42), and findings consistent with inappropriate fibrinolysis (43) in these children. Hyperuricemia is associated with endothelial dysfunction in humans and lowering uric acid with xanthine oxidase inhibitors is associated with improvement in endothelial function (44–46).

sICAM plays an important role in the initiation of the inflammatory process (14) and is a biochemical marker associated to atherosclerotic progression and to other inflammatory disease processes (47). Elevated levels of this molecule are indicative of endothelial dysfunction and entail an enhanced leukocyte adhesion to the endothelium (48), a physiopathologically decisive stage in atherogenesis. Vascular endothelial dysfunction is considered to be the earliest stage in the atherogenic process.

Uric acid may mediate these effects by inducing oxidative stress, inflammation, and endothelial dysfunction (19). Significant association has been described between SUA and CRP and interleukin-6 (IL-6) (13).

This study not only shows an increase in inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children, but also, that these biomarkers are associated very significantly to SUA levels. This association persists when obese and non-obese prepubertal children are jointly analyzed. This suggests that the increase in SUA levels entails a progressive increase in the values of markers for inflammation, endothelial dysfunction, and IR, both in healthy and obese children.

The study design did not permit sex-related differences to be established. The study focused only on prepubertal children, and therefore it was not possible to determine the influence on hormonal changes taking place in puberty on the variables studied.

Hyperuricemia is closely associated with obesity and MetS, and it may be involved in the development of the group of cardiovascular risk factors that accompany MetS. Although more studies are necessary

**Valle et al.**

to determine the true importance of SUA levels, their quantification should be considered in the early evaluation of obesity and MetS.

**Acknowledgements**

This study was supported by grants from the Spanish Ministry of Health and the Fund for Research in Health [Fondo de Investigación Sanitaria (FIS PI021155)].

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

**References**

- PÉREZ-FARINÓS N, LÓPEZ-SOBALER AM, DAL RE MÁ et al. The ALADINO study: a national study of prevalence of overweight and obesity in Spanish children in 2011. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 1–7 163687.
- FUSSENEGGER D, PIETROBELLI A, WIDHALM K. Childhood obesity: political developments in Europe and related perspectives for future action on prevention. *Obes Rev* 2008; 9: 76–82.
- ZIMMET P, ALBERTI KG, KAUFMAN F, BIELAK LF, SHEEDY PF 2nd, KULLO IJ. IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents – an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* 2007; 8: 299–306.
- ZIMMET P, ALBERTI G, KAUFMAN F et al. The metabolic syndrome in children and adolescents. *Lancet* 2007; 369: 2059–2061.
- COUTINHO TDE A, TURNER ST, PEYSER PA et al. Associations of serum uric acid with markers of inflammation, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis. *Am J Hypertens* 2007; 20: 83–89.
- JUHAN-VAGUE I, ALESSI MC, MAVRI A, MORANGE PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1575–1579.
- TAMAKOSHI K, YATSUYA H, KONDO T et al. The metabolic syndrome is associated with elevated circulating C-reactive protein in healthy reference range, a systemic low-grade inflammatory state. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 443–449.
- STRACZKOWSKI M, LEWCZUK P, DZIENIS-STRACZKOWSKA S, KOWALSKA I, STEPIEN A, KINALSKA I. Elevated soluble intercellular adhesion molecular-1 levels in obesity: relationship to insulin resistance and tumor necrosis factor-alpha system activity. *Metabolism* 2002; 51: 75–78.
- ONAT A, UYAREL H, HERGENG G et al. Serum uric acid is a determinant of metabolic syndrome in a population-based study. *Am J Hypertens* 2006; 19: 1055–1062.
- YOO TW, SUNG KC, SHIN HS et al. Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. *Circ J* 2005; 69: 928–933.
- CHOI HK, FORD ES. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. *Am J Med* 2007; 120: 442–447.
- ALDERMAN MH. Uric acid and cardiovascular risk. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2: 126–130.
- RUGGIERO C, CHERUBINI A, BLE A et al. Uric acid and inflammatory markers. *Eur Heart J* 2006; 27: 1174–1181.
- SZIMIKO PE, WANG CH, WEISEL RD, DE ALMEIDA JR, ANDERSON TJ, VERMA S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation* 2003; 108: 1917–1923.
- PACÍFICO L, CANTISANI V, ANANIA C et al. Serum uric acid and its association with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in obese children. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 45–52.
- TANG L, KUBOTA M, NAGAI A, MAMEMOTO K, TOKUDA M. Hyperuricemia in obese children and adolescents: the relationship with metabolic syndrome. *Pediatr Rep* 2010; 2: 38–41.
- NISKANEN LK, LAAKSONEN DE, NYSSÖNEN K et al. Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1546–1551.
- MEISINGER C, KOENIG W, BAUMERT J, DÖRING A. Uric acid levels are associated with all-cause and cardiovascular disease mortality independent of systemic inflammation in men from the general population: the MONICA/KORA cohort study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1186–1192.
- KANBAY M, SEGAL M, AFSAR B, KANG DH, RODRIGUEZ-ITURBE B, JOHNSON RJ. The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease. *Heart* 2013; 99: 759–766.
- HANSSON GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 21: 1685–1695.
- KHOSLA UM, ZHARIKOV S, FINCH JL et al. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int* 2005; 67: 1739–1742.
- RAO GN, CORSON MA, BERK BC. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation by increasing platelet-derived growth factor A-chain expression. *J Biol Chem* 1991; 266: 8604–8608.
- 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; 24: 607–613.
- HONGO M, HIDAKA H, SAKAGUCHI S et al. Association between serum uric acid levels and cardiometabolic risk factors among Japanese junior high school students. *Circ J* 2010; 74: 1570–1577.
- VALLE M, GASCÓN F, MARTOS R et al. Metabolic cardiovascular syndrome in obese prepubertal children: the role of high fasting insulin levels. *Metabolism* 2002; 51: 423–428.
- VALLE M, MARTOS R, GASCÓN F, CAÑETE R, ZAFRA MA, MORALES R. Low-grade systemic inflammation, hypoalbuminemia and a high concentration of leptin are present in very young obese children, and correlate with metabolic syndrome. *Diabetes Metab* 2005; 31: 55–62.
- VALLE M, MARTOS R, MORALES RM, CAÑETE R, GASCÓN F, BERMUDO F. Endothelial dysfunction is related to insulin resistance and inflammatory biomarker levels in obese prepubertal children. *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 497–502.



## Uric acid and inflammation in children

28. WASLEWSKA A, TENDERENDA E, TARANTA-JANUSZ K, TOBOLCZYK J, STYPUKOWSKA J. Markers of systemic inflammation in children with hyperuricemia. *Acta Paediatr* 2012; 101: 497–500.
29. SOBRADILLO B, AGUIRRE A, ARESTI U et al. Curvas y tablas de crecimiento (Estudios Longitudinal y Transversal). Bilbao: Instituto de Investigación sobre Crecimiento y Desarrollo, Fundación Faustino Orbeagoiz Eizaguirre; 2004. 84-607-9967-0
30. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: S5–S20.
31. DAY C. Metabolic syndrome, or what you will: definitions and epidemiology. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4: 32–38.
32. ISHIZAKA N, ISHIZAKA Y, TODA E, NAGAI R, YAMAKODO M. Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1038–1044.
33. OBERBACH A, NEUHAUS J, INGE T et al. Bariatric surgery in severely obese adolescents improves major comorbidities including hyperuricemia. *Metabolism* 2014; 63: 242–249.
34. FEIG DI, KANG DH, JOHNSON RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2008; 359: 1811–1821.
35. YANG T, CHU CH, BAI CH et al. Uric acid concentration as a risk marker for blood pressure progression and incident hypertension: a Chinese cohort study. *Metabolism* 2012; 61: 1747–1755.
36. GRAYSON PC, KIM SY, LAVALLEY M, CHOI HK. Hyperuricemia and incident hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011; 63: 102–110.
37. VIAZZI F, ANTOLINI L, GIUSSANI M et al. Serum uric acid and blood pressure in children at cardiovascular risk. *Pediatrics* 2013; 132: 93–99.
38. QIN L, YANG Z, GU H et al. Association between serum uric acid levels and cardiovascular disease in middle-aged and elderly Chinese individuals. *BMC Cardiovasc Disord* 2014; 25: 14–26.
39. HONG Q, QI K, FENG Z et al. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction via mitochondrial Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger-mediated mitochondrial calcium overload. *Cell Calcium* 2012; 51: 402–410.
40. CSABI G, TOROK K, JEGES S, MOLNAR D. Presence of metabolic cardiovascular syndrome in obese children. *Eur J Pediatr* 2000; 159: 91–95.
41. SHEA S, AYMONG E, ZYBERT P et al. Obesity, fasting plasma insulin, and C-reactive protein levels in healthy children. *Obes Res* 2003; 11: 95–103.
42. EZGÜ FS, HASANOĞLU A, TÜMER L, ÖZBAY F, AYBAY C, GÜNDÜZ M. Endothelial activation and inflammation in prepubertal obese Turkish children. *Metabolism* 2005; 54: 1384–1389.
43. VALLE M, GASCÓN F, MARTOS R et al. Infantile obesity: a situation of atherothrombotic risk? *Metabolism* 2000; 49: 672–675.
44. KANBAY M, HUDDAM B, AZAK A et al. A randomized study of allopurinol on endothelial function and estimated glomerular filtration rate in asymptomatic hyperuricemic subjects with normal renal function. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 1887–1894.
45. MELENDEZ-RAMIREZ G, PEREZ-MENDEZ O, LÓPEZ-OSORIO C, KURI-ALFARO J, ESPINOLA-ZAVALA N. Effect of the treatment with allopurinol on the endothelial function in patients with hyperuricemia. *Endocr Res* 2012; 37: 1–6.
46. YELKEN B, CALISKAN Y, GORGULU N et al. Reduction of uric acid levels with allopurinol treatment improves endothelial function in patients with chronic kidney disease. *Clin Nephrol* 2012; 77: 275–282.
47. KENT JW Jr, COMUZZIE AG, MAHANEY MC et al. Intercellular adhesion molecule-1 concentration is genetically correlated with insulin resistance, obesity, and HDL concentration in Mexican Americans. *Diabetes* 2004; 53: 2691–2695.
48. WITKOWSKA AM, BORAWSKA MH. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1): an overview. *Eur Cytokine Netw* 2004; 15: 91–98.



