



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA Y RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA**

Evaluación del Grosor  
del Complejo Íntima-Media Carotídeo  
con Ultrasonidos en Niños Obesos

**D<sup>a</sup> Francisca Velázquez Marín**  
2015





# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **Departamento de Dermatología, Estomatología y Radiología y Medicina Física**

Evaluación del grosor del complejo íntima-media  
carotídeo con ultrasonidos en niños obesos

**Francisca Velázquez Marín**

Directores:

María del Pilar Sainz de Baranda Andújar

Juan de Dios Berná Mestre

Juan de Dios Berná Serna

**2015**





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA Y  
RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA**

**Facultad de Medicina**

**María del Pilar Sainz de Baranda Andújar**

Doctora en Ciencias del Deporte y Profesora Contratada Doctor del Departamento de  
Actividad Física y Deporte de la Universidad de Murcia

**AUTORIZA:**

La presentación de la tesis doctoral titulada: “**Evaluación del grosor del complejo íntima-media carotídeo con ultrasonidos en niños obesos**”, realizada por **D<sup>a</sup>. Francisca Velázquez Marín**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del Grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Y, para que surta los efectos oportunos al interesado, firmo la presente en Murcia, a cinco de octubre de dos mil quince.

D<sup>a</sup>. María del Pilar Sainz de Baranda Andújar





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA Y  
RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA**

**Facultad de Medicina**

**Juan de Dios Berná Mestre**

Profesor Contratado Doctor del Departamento de Dermatología, Estomatología y Radiología y Medicina Física de la Universidad de Murcia

**AUTORIZA:**

La presentación de la tesis doctoral titulada: “**Evaluación del grosor del complejo íntima-media carotídeo con ultrasonidos en niños obesos**”, realizada por **D<sup>a</sup>. Francisca Velázquez Marín**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del Grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Y, para que surta los efectos oportunos al interesado, firmo la presente en Murcia, a cinco de octubre de dos mil quince.

D. Juan de Dios Berná Mestre





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA Y  
RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA**

**Facultad de Medicina**

**Juan de Dios Berná Serna**

Catedrático del Departamento de Dermatología, Estomatología y Radiología y  
Medicina Física de la Universidad de Murcia

**AUTORIZA:**

La presentación de la tesis doctoral titulada: “**Evaluación del grosor del complejo íntima-media carotídeo con ultrasonidos en niños obesos**”, realizada por **D<sup>a</sup>. Francisca Velázquez Marín**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del Grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Y, para que surta los efectos oportunos al interesado, firmo la presente en Murcia, a cinco de octubre de dos mil quince.

D. Juan de Dios Berná Serna



*A mis padres y hermanos,*

*A Diego, mi marido y*

*a nuestros hijos Diego y María.*



## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Juan de Dios Berná, mi profesor de Radiología en la Facultad de Medicina, después mi adjunto, compañero y ahora Jefe de Servicio. Por ser una referencia como médico, docente, investigador y persona. Por su confianza, apoyo y estímulo que tan importantes han sido para mí en el desarrollo de esta tesis. Sin su trabajo no hubiera sido posible.

A Pilar Sainz, por su esfuerzo y entusiasmo, por haber confiado en mí y por la codirección de esta tesis.

A mis compañeros del servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, "mi segunda familia", por su colaboración en la realización de ecografías a los niños y por lo mucho que me han aportado con sus opiniones, con sus ánimos, con sus risas, con su paciencia.

A la Fundación para el Fomento y la Investigación Sanitaria de la Región de Murcia (FFIS). Y en particular a Guadalupe Ruiz Merino por su inestimable apoyo en el procesamiento estadístico.

A la Facultad de Ciencias del deporte de la Universidad de Murcia. Al Ayuntamiento de Molina, especialmente a la Concejalía de Sanidad y a la Concejalía de Educación. Por ser el motor del programa Salud 5-10.

A los escolares y padres por su participación voluntaria e incondicional en este estudio.

A mis padres por enseñarme los valores del esfuerzo y el trabajo. A mis hermanos que siempre han sido un ejemplo para mí. A mis suegros que desde el principio me han tratado como a una hija. A mis amigas por su optimismo y alegría y por estar siempre. A Diego, mi marido además de por su ayuda, por su paciencia y compañía. Por el camino tan bonito que llevamos vivido y el que nos queda... Y a nuestros hijos Diego y María, que son la ilusión de nuestra vida.

A todos, muchas gracias.



## **ABREVIATURAS**

ACC. Arteria carótida común

ACI. Arteria carótida interna

AF. Actividad física

AGL. Ácidos grasos libres

ALD. Hepatopatía de origen alcohólico

BC. Bifurcación carotídea

CHOL. Colesterol total

CHS. Cardiovascular Health Study

DMG. Diabetes mellitus gestacional

ECC. Enfermedad cardiaca coronaria

ECV. Enfermedad cardio vascular

EH. Esteatosis hepática

FRCV. Factores de riesgo cardiovascular

GC. Grupo control

GGT. gamma glutamyltransferase

GI. Grupo de intervención

GIM. Grosor Intima Media

GLU. Glucemia

GVM. Grasa valor máximo

GOT. Glutamate oxaloacetate transaminase

GPT. Glutamate pyruvate transaminase

HDL. high-density lipoprotein

IMC. Índice de masa corporal

IMT. Intima-media grosor

IVUS. Ecografía intravascular

KIHD. estudio Kuopio Ischemic Heart Disease

LDL. low-density lipoprotein

LM. Lactancia materna

LPL. Lipoprotein lipasa

MVPA. Actividad física de moderada a vigorosa

NAFLD. Enfermedad grasa hepática de origen no alcohólico

NASH. Esteatohepatitis

PC. Perímetro cintura

PEG. Pequeño para la edad gestacional

RI. Resistencia a la insulina

SM. Síndrome metabólico

TAd. Tensión arterial diastólica

TAs. Tensión arterial sistólica

TG. Triglicéridos

THI. Tissue harmonic imaging

US. Ultrasonidos

VPA. Actividad física vigorosa

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. Introducción</b> .....	17
1.1. Obesidad infantil: aspectos generales.....	19
1.1.1 Concepto y clasificación .....	19
1.1.2 Epidemiología .....	20
1.1.3 Valoración de la obesidad en la infancia. Medidas antropométricas .....	21
1.1.3.1 Índice de masa corporal .....	21
1.1.3.2 Perímetro cintura .....	22
1.1.3.3 Otros parámetros .....	23
1.1.4 Fisiología del tejido adiposo. Fisiopatología de la obesidad .....	23
1.1.5 Etiología.....	24
1.1.5.1 Factores de riesgo de la obesidad infantil.....	25
1.1.6 Comorbilidades e implicaciones para la salud.....	27
1.1.7 Prevención y tratamiento.....	29
1.1.7.1 Estrategias preventivas de la obesidad infantil .....	29
1.1.7.2 Tratamiento de la obesidad infantil.....	30
1.2. Aterosclerosis.....	33
1.2.1 Definición de aterosclerosis .....	33
1.2.2 Fenómenos inflamatorios implicados en la aterosclerosis .....	35
1.2.2.1 Disfunción del endotelio vascular.....	35
1.2.2.2 Adhesión molecular y migración de elementos celulares .....	36
1.2.3 Evolución anatomopatológica de la lesión aterosclerótica .....	37
1.3. Ecografía carotídea. ....	42

1.3.1 Ecografía carotídea. Consideraciones generales .....	42
1.3.2 Ecografía carotídea frente a otras técnicas de imagen para la valoración de la aterosclerosis preclínica.....	46
1.3.2.1. Detección de calcio coronario por TC .....	46
1.3.2.2. Resonancia magnética nuclear cardiovascular.....	47
1.3.2.3. Ecografía intravascular (IVUS) .....	48
1.4. Enfermedad grasa no alcohólica del hígado (NAFLD) .....	49
1.4.1 Concepto .....	49
1.4.2 Diagnóstico y biomarcadores .....	50
1.4.3 Enfermedad grasa no alcohólica del hígado (NAFLD) en niños .....	53
1.5. Epidemiología de la actividad física en niños .....	55
1.5.1. Prevalencia de la actividad física en niños .....	56
1.5.2. Asociación entre actividad física, ECV y factores de riesgo.....	57
1.5.3. Asociación entre actividad física y GIM en adultos .....	58
1.5.4. Asociación entre actividad física y GIM en niños y adolescentes. ....	59
<b>2. Hipótesis de trabajo. ....</b>	<b>61</b>
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>65</b>
<b>4. Material y métodos .....</b>	<b>69</b>
4.1 Diseño del Programa SALUD 5-10 y organización.....	71
4.2 Tamaño muestral .....	74
4.3 Consideraciones éticas .....	76

4.4 Procedimiento. Descripción del programa de intervención .....	77
4.5 Variables dependientes evaluadas pre y post intervención .....	79
4.6. Análisis Estadístico. ....	83
<b>5. Resultados</b> .....	<b>85</b>
5.1. Características antropométricas y clínicas previas a la intervención.....	87
5.2. GIM y NAFLD, previa a la intervención.....	88
5.3. Características antropométricas y clínicas post intervención .....	89
5.4. GIM y NAFLD post intervención.....	89
<b>6. Discusión</b> .....	<b>93</b>
6.1 Protocolo de examen de la medida del GIM carotídeo mediante ultrasonidos.....	95
6.2. GIM y NAFLD en niños con sobrepeso y obesidad.....	98
6.3. GIM y NAFLD en niños con sobrepeso y obesidad tras la realización de un programa de actividad física .....	103
6.4. Programa SALUD 5-10 .....	105
<b>7. Conclusiones</b> .....	<b>107</b>
<b>8. Bibliografía</b> .....	<b>111</b>



# 1. INTRODUCCIÓN

---



## 1.1. OBESIDAD INFANTIL: ASPECTOS GENERALES

### 1.1.1 Concepto y clasificación

La obesidad infantil es la patología nutricional más prevalente de los países desarrollados (Fussenegger et al, 2008). Se define como el exceso de grasa corporal o de tejido adiposo, siendo el resultado de una excesiva ingesta de nutrientes y/o de un gasto energético disminuido, mantenido de forma crónica.

La obesidad es una enfermedad crónica, compleja, de origen multifactorial que suele iniciarse en la infancia y adolescencia y que atiende tanto a factores genéticos como ambientales. Algunos autores, resaltan la importancia del entorno en su desarrollo, debido a que en este trastorno nutricional influyen arraigadas y profundas normas sociales, difícilmente modificables (Oda, 2008).

En el 95 por ciento de los casos, la obesidad es de causa nutricional, exógena o primaria y sólo en el 5 por ciento de los casos, es endógena, monogénica o secundaria a otras enfermedades o a la ingesta de fármacos. Según la distribución de la grasa corporal, la obesidad se clasifica en central o androide, tipo manzana, con predominio de tejido graso en la región intrabdominal, o periférica, ginoide o tipo pera, con acúmulo graso fundamentalmente en la región fémoro-glútea. Esta distribución varía según el género y la raza, siendo en la infancia predominantemente mixta. La diferencia en la distribución de la masa grasa corporal por géneros, fue descrita en 1940 y explicada parcialmente por las diferencias hormonales; los andrógenos se relacionan con un incremento del tejido adiposo visceral, asociándose con factores de riesgo cardiovascular, mientras que los estrógenos se relacionan con el tejido adiposo periférico o subcutáneo (Sweeting, 2007). Durante la pubertad, acontecen cambios en la distribución de grasa corporal influenciadas por la leptina, que inducen la secreción de GnRH y de gonadotropinas. Además, la leptina se correlaciona muy positivamente con el índice de masa corporal (IMC), transmitiendo información sobre la energía almacenada disponible al cerebro. La concentración sérica de leptina, se incrementa en las mujeres durante la pubertad, pero disminuyen en los varones después de iniciarse la

misma, en el estadio 2 de maduración gonadal, originando el característico patrón androide y ginoide de distribución de grasa característico del adolescente y del adulto (Muñoz, 2007).

### **1.1.2 Epidemiología**

Actualmente, la obesidad es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como “una epidemia mundial creciente”, siendo la segunda causa de mortalidad prematura y evitable, después del tabaco (OMS, 2008). La Internacional Obesity Task Force (IOTF) la considera la “enfermedad del milenio” (IOTF, 2008).

La OMS estima que 1 billón de personas en el mundo tienen sobrepeso y que al menos 300 millones de éstos son obesos (Smyth y Heron, 2005). Además, la obesidad en adultos condiciona un millón de muertes anuales y un 6 por ciento de los costes sanitarios europeos (Fussenegger et al, 2008). El Ministerio de Sanidad Español estima que los costes asociados a la obesidad representan un 7 por ciento del gasto sanitario.

Según datos de la OMS, en 2006 la prevalencia infantil de sobrepeso y obesidad en Europa era del 31,8 y 7,9 por ciento, respectivamente, estimándose un incremento para el 2010 del 38,2 y 10 por ciento, respectivamente. Así, casi el 50 por ciento de los niños europeos presentarán sobrepeso u obesidad. En España, la prevalencia de obesidad infantil ha aumentado considerablemente en las dos últimas décadas. Así, se ha pasado del 4,9 por ciento documentado en el estudio PAIDOS en 1984, hasta el 13,9 por ciento objetivado en el estudio enKid en el año 2000 y del 12,4 por ciento para el sobrepeso (Serra et al, 2001). Esto es, un 26,3 por ciento de los niños españoles tienen obesidad o sobrepeso (Salas-Salvadó et al, 2007).

### 1.1.3 Valoración de la obesidad en la infancia. Medidas antropométricas

La valoración de la obesidad infantil es más dificultosa que en el adulto, debido a que los niños experimentan continuos cambios en la composición corporal durante el crecimiento y desarrollo, característico de esta etapa de la vida.

Disponemos de técnicas accesibles y reproducibles, basadas en la antropometría, como son el IMC o de Quetelet (Sweeting, 2007), la medición del perímetro de la cintura (PC), el cociente cintura-cadera, la medición de los pliegues cutáneos o el índice nutricional.

#### 1.1.3.1 Índice de masa corporal (IMC)

El IMC mide de forma indirecta la masa grasa corporal total, pues no distingue entre masa grasa y la libre de grasa; a pesar de ello, su uso es aceptado internacionalmente (Salas-Salvadó et al, 2007). Se calcula como peso (Kg) / talla (m<sup>2</sup>).

Este índice varía con el desarrollo madurativo del niño, edad y género, por lo que debe ser expresado en percentiles (p) según las citadas variables. Además, se han constatado cambios raciales de IMC, superior en los mexicanos americanos y los inmigrantes del sudeste asiático, e inferior en la raza negra, por lo que se deben usar las tablas de referencia para cada población. En los niños menores de dos años no es correcto usar el IMC sino que se deben utilizar tablas de peso referido a la talla (Krebs et al, 2007).

Actualmente, se desconoce la prevalencia mundial de obesidad infantil, puesto que los estudios sobre esta patología utilizan las tablas regionales. Para subsanar este problema, se ha establecido internacionalmente por consenso usar las tablas poblacionales de IMC elaboradas por Cole y colaboradores (2000) con fines epidemiológicos, realizadas mediante una proyección matemática de los valores correspondientes a la definición de obesidad y sobrepeso en adultos hacia edades anteriores.

El IMC se incrementa desde el nacimiento hasta el año de vida descendiendo posteriormente hasta que de nuevo, a los 5-6 años vuelve a ascender hasta la pubertad. Al punto de inflexión del IMC se le denomina “rebote adiposo”

Según el IMC la obesidad en adultos se define por  $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$  y el sobrepeso como  $IMC 25-29,9 \text{ kg/m}^2$ . La obesidad a su vez se subclasifica en grados según el riesgo cardiovascular, como: grado I al  $IMC 30-34,5 \text{ kg/m}^2$ , grado II al  $IMC 35-39,9 \text{ kg/m}^2$ , grado III u obesidad mórbida, considerada como  $IMC 40-49,9 \text{ kg/m}^2$  y grado IV u obesidad extrema  $IMC > 50 \text{ kg/m}^2$  (Salas-Salvadó et al, 2007). En la infancia, se considera obesidad el  $IMC \geq p 95$  y sobrepeso el  $IMC p 85-94$  según la clasificación de Cole y colaboradores (2000)

El IMC puede ser expresado en forma de z score para establecer comparaciones entre niños de diferentes edades y géneros. Su fórmula es:  $\text{medición individual de IMC} - \text{mediana IMC según edad y género} / \text{desviación estándar según edad y género}$ . Su interpretación es:  $z < -1,28$ ,  $\pm 1,28$  o  $> 1,65$  corresponde al  $p < 10$ ,  $p 10-90$  y  $p > 95$ , respectivamente (Dalmau et al, 2007).

### **1.1.3.2 Perímetro cintura (PC)**

Otro de los parámetros empleados en la medición de la adiposidad es el PC, que estima de manera más específica la grasa visceral que el IMC (Cook et al, 2003). La medida estandarizada debe de ser tomada con una cinta métrica flexible en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca superior, existiendo tablas normalizadas de PC según género y edad (Moreno et al, 2003).

En modelos de regresión multivariante se ha objetivado que el PC es más eficiente que el IMC para predecir cambios o alteraciones en resistencia a la insulina (RI), la tensión arterial (TA), los niveles séricos de colesterol y de triglicéridos (TG) (Barnett, 2008). Por ello, el

PC proporciona mayor información predictiva que el IMC sobre el riesgo cardiovascular y metabólico (Cook et al, 2005). Aunque se desconocen los puntos de corte de riesgo, se asume un riesgo elevado con un PC en el p 90-95.

### **1.1.3.3 Otros parámetros**

Los pliegues cutáneos son otros de los parámetros antropométricos empleados para medir la adiposidad, debido a que hasta el 80 por ciento de la misma la conforma la grasa subcutánea. Son cuatro los comúnmente empleados: tricipital, bicipital, subescapular y suprailíaco. Su gran limitación es que son menos reproducibles, ya que requieren la experiencia de un personal entrenado para su medición correcta y el uso de fórmulas para determinar el porcentaje de grasa corporal total a partir de los mismos (Fuentes, 2007). El pliegue del tríceps, sirve para medir la grasa subcutánea y estimar el porcentaje de grasa corporal. Una mayor adiposidad se considera como un factor de riesgo para sufrir enfermedades cardiovasculares. Diámetros óseos (biestiloideo, biepicondíleo de húmero, y bicondíleo de fémur). La impedanciometría valora el porcentaje de grasa corporal (Alvero et al, 2010).

Por otra parte, el índice nutricional valora el exceso de peso teniendo en cuenta la edad, género, peso y talla. Se obtiene relacionando el peso actual con el ideal para la talla, que es el percentil de peso que corresponde para el mismo percentil de talla actual. Esto es:  $\text{peso actual (Kg)} / \text{talla actual (m)} : \text{peso ideal (Kg)} / \text{talla actual (m)}$ . Un índice superior a 120 define a la obesidad y entre 110-120 el sobrepeso (Martínez y Pedrón, 2009).

### **1.1.4 Fisiología del tejido adiposo. Fisiopatología de la obesidad**

Actualmente, al tejido adiposo considerado desde antaño como el principal órgano de reserva grasa, se le han atribuido otras propiedades como órgano endocrino y participante de la respuesta inmune. La masa grasa corporal está distribuida en un 20 por ciento de grasa

visceral y un 80 por ciento en el tejido adiposo subcutáneo. Por otra parte, el 80 por ciento del peso de la masa magra son lípidos, de los cuales, el 90 por ciento son TG.

En función del balance energético, el tejido adiposo tenderá a la lipólisis de los TG, actuando la lipoproteína lipasa (LPL), hacia ácidos grasos libres (AGL) y glicerol o tenderá hacia la esterificación de ambos compuestos formando TG.

Así, en épocas prolongadas de balance energético positivo, el tejido adiposo responde reclutando preadipocitos (células sin capacidad de reserva grasa aún) que proliferan (hiperplasia), e hipertrofiando los adipocitos maduros con el consiguiente crecimiento estromal y vascular ante la hipoxia adipocitaria. Alteraciones a cualquiera de estos tres niveles, moduladas por factores adipocitarios o no adipocitarios, conllevan consecuencias metabólicas e inmunes. De igual modo, el balance energético positivo incrementa la concentración de AGL en la circulación sistémica, acumulándose en músculo esquelético y en hígado, generando una lipotoxicidad que aumenta la RI.

También dará lugar a dislipemia, enfermedad hepática no alcohólica (NAFLD) e hipertensión arterial (HTA). A ésta RI se suma la insulinopenia generada por el acúmulo lipídico pancreático y al efecto tóxico que conduce a la apoptosis celular. Si se cronifica este estado se establecerá la Diabetes Mellitus 2 (DM2).

### **1.1.5 Etiología**

La obesidad primaria o exógena es un desorden multifactorial, resultado de la interacción del entorno socio-ambiental desfavorable sobre un individuo con una predisposición poligénica. Se traduce en un exceso de grasa corporal, como consecuencia de un balance energético positivo, generalmente por un incremento del consumo calórico asociado a una deficiente actividad física, favorecido por un “entorno obesogénico” (Martínez et al, 2006). La OMS valora como causas fundamentales de la epidemia de obesidad, los

estilos de vida sedentarios, las dietas ricas en grasa y de alta densidad energética y el incremento de la urbanización (Smyth y Heron, 2005).

La obesidad puede tener un origen endógeno, respondiendo a una alteración monogénica (Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Lawrence-Moon-Bield, Síndrome de Alstrom...) o secundaria a fármacos (corticoesteroides, antidepresivos, anticonvulsivantes, antihistamínicos...) o a otras endocrinopatías (Síndrome de Cushing, hipotiroidismo, acromegalia, feocromocitoma...) (Acere, 2008).

#### **1.1.5.1 Factores de riesgo de la obesidad infantil**

Los factores de riesgo para el desarrollo de obesidad exógena en la infancia son:

1. Antecedentes familiares de obesidad, DM, HTA, ECV precoz (definida en hombres antes de los 55 años y en mujeres antes de los 65 años), dislipemia... (Dalmau et al, 2007). La obesidad de uno o de ambos progenitores incrementa el riesgo de obesidad infantil por 3 o 10, respectivamente, siendo más importante la materna, interviniendo para ello tanto la genética como los hábitos familiares.

2. La Obesidad y el PC materno durante la gestación favorecen en desarrollo de SM en los descendientes (Hirschler et al, 2007).

3. La DM gestacional (DMG) supone un riesgo significativo del 50 por ciento de desarrollo de SM en los hijos, si éste además es pequeño para la edad gestacional (PEG) (considerado como un peso al nacimiento inferior al p 10) a diferencia del recién nacido con peso adecuado o si es PEG fruto de una madre sin DMG. Ambos factores, tanto la DMG y el antecedente de PEG, están asociados a la RI, incrementando el riesgo de desarrollo de DM2 (Franks et al, 2007).

4. Los factores genéticos: hasta octubre de 2005, han sido descritos más de 600 genes, marcadores y regiones cromosómicas, implicados en la obesidad. Todos los cromosomas humanos a excepción del Y, presentan al menos un locus candidato relacionado con la obesidad (Rankinen et al, 2006).

5. El bajo peso al nacer con catch-up rápido, antes de los 2 años (Ong et al, 2000).
6. El peso elevado al nacimiento, considerado como superior a 4000 g, es reconocido como factor de riesgo para algunos autores, siempre y cuando se asocie a DMG (Boney et al, 2005; Schaefer-Graf et al, 2005), a diferencia de otros autores (Eriksson, 2006), que incluso consideran que protege del riesgo cariometabólico (Bouhours-Nouet et al, 2008).
7. El tipo de lactancia y la duración de la misma. La lactancia materna (LM) afecta tanto a la ingesta proteica, secreción insulínica y modulación del depósito de grasa y el desarrollo adipocitario (Quak et al, 2008). Por otra parte, se ha objetivado que los niños alimentados al pecho presentan mejores perfiles lipídicos, cifras tensionales y desarrollo neuroconductual (Wu y Chen, 2009). Esto parece estar en relación a la presencia de hormonas como la leptina, adiponectina, factor de crecimiento tipo insulina-I (IGF-1), grelina, obestatina y resistina en la leche materna (Savino et al, 2009).
8. El consumo elevado de proteínas animales en los primeros años de vida y una dieta rica en ácidos grasos saturados trans y poliinsaturados n-6 (Cañete et al, 2007).
9. El rebote adiposo precoz, antes de los 5-6 años, se ha relacionado con mayor predisposición y persistencia de obesidad infantil. También es un factor de riesgo el incremento a partir de los 8 años de más de 2 unidades de IMC al año. Así, la infancia es considerada una etapa crítica para el desarrollo de obesidad.
10. Diversos estilos de vida: sedentarismo, ver la televisión, internet, jugar a los videojuegos..., más de 2 horas diarias. A esto se puede asociar un “sobreconsumo pasivo”, con ingesta de snacks y otros productos de alto contenido de grasa y poco volumen.
11. Hábitos nutricionales: preferencia de comida rápida, de alta densidad energética y bebidas azucaradas. Se ha producido un cambio en la alimentación infantil, incrementándose el consumo calórico total a expensas de proteínas y grasa asociado a un bajo consumo de frutas, verduras y hortalizas. El estudio enKid reveló que 8,2 por ciento de los niños españoles no desayunaban (Serra et al, 2001). Además, en las últimas décadas, se han incrementado el tamaño de las raciones alimentarias.
12. Los estratos socioeconómicos bajos en los países desarrollados y los estratos poblacionales que ascienden en capacidad económica en los países en vías

de desarrollo favorecen la obesidad (Kristensen et al, 2006). El nivel educativo menor de la madre predispone al consumo de alimentos perjudiciales como embutidos, carnes, snacks y bebidas azucaradas, propiciando la obesidad en los hijos.

### **1.1.6 Comorbilidades e implicaciones para la salud.**

Ya desde el año 400 AC, Hipócrates observó que “la muerte repentina es más común en aquéllos que eran naturalmente obesos que en delgados”. De este modo, la obesidad infantil puede asociar alteraciones en todos los aparatos del organismo, en la infancia o en etapas posteriores (Cruz et al, 2003; Cañete et al, 2010):

1. Psíquicas: los niños obesos pueden presentar baja autoestima, ansiedad, depresión... que favorece el aislamiento social. Este estado psicológico, predispone al fracaso escolar, sedentarismo y a trastornos de la conducta alimentaria, pudiendo agravar la obesidad.

2. Neurológicas: Pseudotumor cerebri o hipertensión intracraneal benigna, desórdenes del sueño...

3. Ortopédicas: la obesidad infantil favorece la epifisiolisis femoral, pie plano, escoliosis, enfermedad de Blount, espondilolistesis, escoliosis, artritis y fractura de cadera, que se ha descrito en mujeres obesas adultas.

4. Cardiovasculares: hipertrofia del ventrículo izquierdo, ateromatosis, HTA, infarto agudo de miocardio (Haffner, 2007)... El sobrepeso en adolescentes aumenta el riesgo en 8,5 de padecer HTA en la edad adulta. El incremento moderado del IMC y sobre todo del PC, como medidor directo de la adiposidad visceral, se asocian a un riesgo elevado de muerte por ECV (August et al, 2008; Steven y Haffner, 2008).

5. Respiratorias: asma, disnea de esfuerzo, síndrome de apnea obstructiva del sueño...

6. Metabólicas: alteraciones en la tolerancia a la glucosa, RI, DM 2 (hasta 80 por ciento de las personas con sobrepeso) (Smyth y Heron, 2005), dislipemias (entre las más comunes son el descenso de lipoproteínas de alta densidad-colesterol (HDLc) y la hipertrigliceridemia (August et al, 2008), el incremento de VLDL

(lipoproteínas de muy baja densidad), hipercolesterolemia (Cook et al, 2003; Van Gaal et al, 2006)), SM (hasta 50 por ciento de los obesos severos) (Weiss et al, 2004), hiperuricemia y gota en adultos... (Dalmau et al, 2007; Gil-Campos et al, 2009).

7. Gastrointestinales: dolor abdominal, reflujo gastroesofágico, estreñimiento, enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD) en 22,5-55,8 por ciento de los niños obesos, litiasis biliar (sobre todo en el género femenino que pierde rápidamente peso tras un régimen alimentario restrictivo), cáncer colorrectal e intestinal...

8. Endocrinológicas: pseudohipogenitalismo, adipomastia y/o ginecomastia, pubertad retrasada (probablemente por la hiperleptinemia), síndrome de ovario poliquístico, disfunciones menstruales (como consecuencia del hiperandrogenismo), infertilidad (MacLaren et al, 2007)... Suelen aparecer pubarquia y telarquia adelantadas, correlacionándose con el IMC (Wang Y, 2002).

9. Nefrológicas: enuresis nocturna, proteinuria, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, pudiendo progresar a insuficiencia renal crónica o revertir con la pérdida de peso (Adelman et al, 2001).

10. Dermatológicas: acantosis nigricans en relación a la RI (hasta el 55 por ciento de niños obesos afro-americanos y el 8 por ciento de caucasianos) (Viner et al, 2005). Es frecuente evidenciar en el abdomen de los niños obesos estrías de distensión, acné, hirsutismo... siendo considerados factores de riesgo de RI.

11. Neoplasias de diferentes órganos en adultos, cuyo mecanismo es desconocido por el momento (Calle y Kaaks, 2004; Van Kruijsdijk et al, 2009).

12. Infecciones: en la obesidad se producen alteraciones del sistema inmune, tanto humoral como celular, esencialmente relacionadas con la resistencia periférica a la leptina, incrementándose la susceptibilidad a las infecciones (Muñoz et al, 2004; Falagas y Kompoti, 2006).

13. Buco-dentales: la caries dental se correlaciona significativamente con un IMC elevado en la infancia (Willershausen et al, 2007).

14. Envejecimiento prematuro con menor esperanza de vida (Chudek y Wiecek, 2008).

### **1.1.7 Prevención y tratamiento**

#### **1.1.7.1 Estrategias preventivas de la obesidad infantil**

La obesidad supone actualmente un problema de salud pública debido al aumento alarmante de su prevalencia y las implicaciones para la salud que de ella se derivan. Por ello, la OMS elaboró en mayo de 2004, en la 57ª Asamblea Mundial de la Salud, una “Estrategia Mundial sobre Régimen Alimentario, Actividad Física y Salud”.

Sus objetivos principales eran “reducir los factores de riesgo y de morbilidad, promover la concienciación y conocimiento general, y fomentar los planes políticos de actuación y seguimiento de la investigación científica”.

El Ministerio de Salud y Consumo Español ideó en 2005 una estrategia para la nutrición, actividad física y prevención de la obesidad (estrategia NAOS) que tiene como objetivo “fomentar una alimentación saludable y promover la actividad física para invertir la tendencia ascendente de la prevalencia de la obesidad y con ello, reducir sustancialmente, la morbilidad y mortalidad atribuible a las enfermedades crónicas”.

Dentro de este marco se estableció en septiembre de 2005 el código PAOS (Autorregulación de la Publicidad de los Alimentos) dirigida a menores, en el que se subscribieron 33 empresas españolas. Posteriormente, en mayo de 2007, en la Comisión de las Comunidades Europeas celebrada en Bruselas, se estableció “la estrategia europea sobre nutrición, sobrepeso y obesidad” cuyo objetivo es “la promoción de la dieta saludable y la actividad física: una dimensión europea para la prevención del sobrepeso, la obesidad y las enfermedades crónicas”. Desde entonces se han adoptado hasta 200 iniciativas diferentes por parte de los estados miembros. Ejemplos de las mismas son la reforma de la política de la agricultura común, dentro de la que se encuentra la organización de mercado común que promueve el consumo de frutas y verduras dentro de la escuela, financiando hasta el 60 por ciento de los productos. Otros ejemplos son el programa de energía inteligente europea que

promueve ir al trabajo caminando o en bicicleta (Comisión de las Comunidades Europeas, 2007).

Las medidas adoptadas para modificar los estilos de vida previniendo la obesidad deben de estar monitorizadas para determinar la efectividad de las mismas.

Para ello se cuenta con la Inspección de la intervención en salud Europea y la EUROSTAT (Oficina de Estadística de la Comisión Europea) como indicador del consumo, de los patrones de conducta y de las tendencias. Las intervenciones preventivas sobre la obesidad infantil no mejoran actualmente la prevalencia de la misma aunque sí muestran mejoras en el conocimiento y comportamiento poblacional (Summerbell et al, 2005; Kamath et al, 2008).

Las estrategias preventivas deben incluir la recomendación de LM exclusiva hasta el 6º mes (Muñoz y Dalmau, 2008), iniciando el beikost a partir entonces, fomentar hábitos alimentarios y de actividad física adecuados, de forma precoz. Estos deben incluir el control por parte de los progenitores del consumo proteico elevado, sobretodo en la etapa inicial de la vida, las comidas de alta densidad energética, ricas en AG saturados y trans, “comidas rápidas” y porciones alimentarias, el incremento de fibra, frutas y verduras, y establecer un horario regular de comidas, sin prescindir del desayuno (Cañete et al, 2007; August et al, 2008). El éxito de estas medidas dependerá fundamentalmente de la implicación familiar creando un entorno propicio para el niño (McGovern et al, 2008).

#### **1.1.7.2 Tratamiento de la obesidad infantil**

El tratamiento de los niños obesos deberá ser precoz e individualizado, tras estudiar las comorbilidades que pueden presentarse en la infancia. Este se fundamentará en tres pilares básicos, como son motivación, dieta y ejercicio. El clínico deberá indagar y conocer los hábitos de vida del niño, que generalmente son el reflejo de los familiares e incidirá en los posibles errores adquiridos, procurando una alimentación saludable, ajustando la energía

ingerida a las necesidades reales, y promocionado la actividad física, siendo fundamental para ello el apoyo familiar (Dalmau et al, 2007).

Tanto la hipertrofia del tejido subcutáneo como el incremento de grasa visceral son modificables a través de los cambios nutricionales y la actividad física. Se ha demostrado que la modificación de los hábitos de vida en la infancia, apoyados por la familia, provocan un modesto efecto sobre la obesidad, siendo menor sin la implicación familiar (disminución del IMC 1,5 Kg/m<sup>2</sup> y 0,4 kg/m<sup>2</sup>, respectivamente) (Young et al, 2007). Gracias a la adopción y mantenimiento de estilos de vida saludables se consigue una mejoría en los parámetros metabólicos, con descenso del tamaño adipocitario y cambios en la expresión génica, descendiendo el estado inflamatorio subyacente a la obesidad (Skilton y Celermajer, 2006; Nicoletti et al, 2003; Heilbronn et al, 2001). Ello conlleva menor riesgo o mejoría de comorbilidades como la DM2, dislipemia (disminuyendo el nivel de TG y LDL oxidada (LDLox) e incrementando la HDLc) e HTA (Rector et al, 2007). No obstante, la disminución de grasa subcutánea tras la liposucción, no altera los niveles plasmáticos de PCR, IL-6, ni adiponectina, y por tanto, no repercute sobre la sensibilidad a la insulina ni sobre el riesgo cardiovascular (Klein et al, 2004).

### *1) Motivación*

La motivación del niño y su familia son imprescindibles en el tratamiento exitoso de la obesidad, así como en la adherencia y mantenimiento de los cambios de vida adoptados. La importancia y dificultad del tratamiento psicológico de los niños obesos radica en que éstos pueden presentar problemas psíquicos asociados y, frecuentemente, pertenecen a familias de progenitores obesos, que practican hábitos de vida poco saludables y profundamente arraigados.

### *2) Dieta*

En cuanto a la dieta o “comida saludable”, se deberá corregir los errores dietéticos y elaborar un plan de intervención individualizado, según el grado de obesidad. Así en los niños con sobrepeso u obesidad leve sólo será necesario la corrección de errores dietéticos; en la moderada, además de lo anterior, se perseguirá una dieta hipocalórica ajustada a la edad,

pues el mantenimiento de peso a lo largo del tiempo junto al incremento de la talla provocará una disminución del IMC; en la grave o rebelde, se establecerá una dieta hipocalórica acorde a su edad, con una restricción calórica de hasta el 25-30 por ciento (Soriano y Muñoz, 2007; Dalmau et al, 2007). Se deberá recomendar seguir la dieta mediterránea, por sus reconocidos beneficios nutricionales. Esta consiste en una amplia variedad de comida y gran porcentaje de hidratos de carbono, poseyendo una capacidad saciante alta, previniendo así la cetogénesis. Estas características la hacen fácilmente seguible, siendo válida tanto para el tratamiento de la obesidad como en etapas posteriores de mantenimiento. Por ello, ha demostrado ser efectiva en la pérdida ponderal de un modo más estable (Garaulet y Pérez de Heredia, 2010).

### *3) Ejercicio físico*

Se recomienda la realización de un mínimo de 30-60 minutos diarios de ejercicio físico aeróbico moderado. Se limitarán las actividades sedentarias como ver la TV, internet, jugar a videojuegos..., a un máximo de 1-2 horas diarias (August et al, 2008).

### *4) Otros*

Tras el fracaso de estos tres principios básicos, se puede recurrir a la terapia farmacológica y/o quirúrgica, con unas indicaciones muy precisas en la edad pediátrica. La experiencia en la infancia de fármacos antiobesidad es muy limitada. La Agencia de Administración de Fármacos y Alimentos (FDA) no aprueba el uso de los mismos en niños ni adolescentes jóvenes, por lo que se reserva a pacientes adolescentes en los que el crecimiento se encuentre finalizado. Las indicaciones son niños obesos en los que la dieta y el ejercicio físico han fracasado o niños con sobrepeso, con comorbilidades severas y antecedentes familiares de DM2 o ECV precoz (August et al, 2008).

Finalmente, la cirugía bariátrica se contempla como la última opción terapéutica, siendo las indicaciones en la infancia muy restrictivas, debido a que la pérdida brusca de peso puede influir negativamente en el crecimiento. Además, generalmente las comorbilidades de la obesidad en la infancia son menos graves y el pronóstico de la misma mejor (Dalmau et al, 2007).

## **1.2. ATEROSCLEROSIS**

### **1.2.1 Definición de aterosclerosis**

La aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico (Ross R. 1999) caracterizado por la alteración morfológica y funcional de la pared vascular que en estadios finales tiene como consecuencia la disminución del calibre de la luz arterial. A las alteraciones de la pared arterial se asocian con mayor frecuencia fenómenos de agregación plaquetaria y trombosis que pueden llegar a producir la obstrucción completa de la luz arterial.

Las lesiones ateroscleróticas asientan principalmente en arterias elásticas y musculares de gran y mediano calibre. Dentro de éstas las arterias coronarias, que irrigan el miocardio, las arterias carótidas y sus ramas que irrigan el cerebro y las arterias ilíacas y sus ramas que vascularizan las extremidades inferiores son los segmentos arteriales en los que con mayor frecuencia se localizan este tipo de lesiones. Los tejidos cuya irrigación es subsidiaria de dichas arterias sufren isquemia por falta de aporte de oxígeno llegando a producirse isquemia o necrosis por muerte del tejido afecto cuando la falta de aporte sanguíneo es total. Otra variedad de enfermedad aterosclerótica es la formación de dilataciones aneurismáticas, localizadas principalmente en la aorta. Las principales complicaciones de este tipo de lesiones son la formación de trombos en la luz arterial y/o la ruptura de la pared.

Desde hace varias décadas se han reconocido una serie de factores clínicos y epidemiológicos asociados con mayor incidencia de enfermedad isquémica principalmente cardíaca pero también en el resto de órganos descritos previamente. El aumento de colesterol en sangre ha sido señalado como el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de aterosclerosis (Kannel WB et al, 1979).

*Anatomía Vascul*

La pared arterial consta de tres capas bien diferenciadas morfológicamente: la íntima, la media y la adventicia (Figura 1). La íntima está formada por el endotelio y una capa de tejido conjuntivo sub-endotelial. El endotelio, formado por células endoteliales, actúa como una barrera de permeabilidad selectiva a macromoléculas como las lipoproteínas y a células como los monocitos o los linfocitos circulantes. Además, ejerce otras muchas funciones: participa en la regulación del tono vascular, actúa como superficie anti-trombótica, y participa en procesos inflamatorios. El subendotelio da soporte al endotelio y está constituido básicamente, por una matriz de proteoglicanos.

La íntima y la media están separadas por la elástica interna, formada por una malla compacta de elastina. La media es la capa de mayor grosor, está formada por células musculares lisas, su principal función es la de mantener el tono de la pared arterial, por ello las células musculares lisas poseen un citoesqueleto rico en actina y miosina. La capa más alejada de la luz del vaso es la adventicia, que está formada por tejido conectivo y fibroblastos y está separada de la media por la lámina elástica externa. En la adventicia nos encontramos con vasos de pequeño calibre denominados “vasa vasorum” que ocasionalmente penetran en la media, y cuya función está relacionada con el aporte de nutrientes y oxígeno a las capas más profundas de la pared.

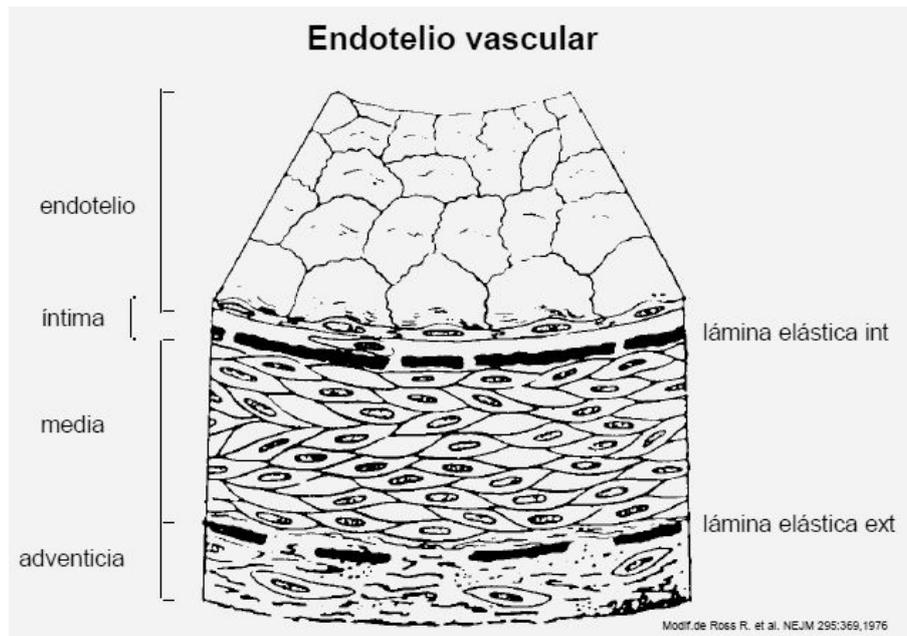


Figura 1. Anatomía vascular.

## 1.2.2 Fenómenos inflamatorios implicados en la aterosclerosis

### 1.2.2.1 Disfunción del endotelio vascular

La disfunción del endotelio vascular es la primera alteración producida como respuesta a una agresión ejercida en la pared vascular (Ross R. 1999; Kannel WB et al, 1979). Varios estudios han demostrado correlación entre disfunción endotelial y la presencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en personas sin evidencia clínica de enfermedad aterosclerótica (Ross R et al, 1973).

Como primera consecuencia se altera el equilibrio entre la producción de agentes vasodilatadores como óxido nítrico (ON) y vasoconstrictores como endotelina y angiotensina II lo que coopera en la iniciación, progresión y complicación de la lesión aterosclerótica. También se ha demostrado la activación focal del endotelio en arterias de gran y mediano calibre secundaria al aumento en la concentración de colesterol en sangre lo que inicia la respuesta inflamatoria en la pared arterial. A partir de ciertas concentraciones de colesterol

unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) aumenta la producción de VCAM-1 (molécula de adhesión a células vasculares) así como la adhesión a la superficie del endotelio de linfocitos y macrófago y su posterior migración al espacio subendotelial. Otros agentes como el tabaco, el aumento de presión arterial o DM agreden al endotelio provocando un aumento en la producción de radicales libres. También se han descrito factores genéticos implicados en la mayor vulnerabilidad del endotelio vascular (Stary HC et al, 1995).

### **1.2.2.2 Adhesión molecular y migración de elementos celulares**

Las células endoteliales contienen gran variedad de receptores específicos para distintas moléculas como LDL (Fogelman AM et al, 1988), insulina (Bar RS, 1982) e histamina (Simionescu N et al, 1982). Otra de sus propiedades es la permeabilidad a gran variedad de proteínas plasmáticas. La frecuencia de transporte de lipoproteínas y otras macromoléculas a su través depende de la concentración plasmática de estas sustancias, de su tamaño y de su carga eléctrica. Este transporte se modifica con la edad, la presión arterial y el tono vascular. Los cambios de flujo alteran la expresión de genes que producen factores quimiotácticos y aumentan la expresión de moléculas de adhesión (Mondi JS et al, 1997). También aumenta el tiempo de contacto de las lipoproteínas y con ello la probabilidad de que se internalicen dentro del endotelio poniendo en marcha los mecanismos desencadenantes de la respuesta inflamatoria.

La respuesta de las células a la acción de distintos factores de riesgo se traduce también en una mayor capacidad de adhesión y permeabilidad de leucocitos y plaquetas a la capa endotelial que adquiere capacidad procoagulante a la vez que estimulan la producción de citoquinas. Estas moléculas y otras sustancias vasoactivas y proinflamatorias atraerán hacia la lesión macrófagos y linfocitos T provenientes del torrente circulatorio (Rajavashisth TB et al, 1990).

Las moléculas de LDL en el endotelio ejercen una acción quimiotáctica sobre monocitos y aumenta la expresión de genes activadores del crecimiento de colonias de macrófagos lo que supone un fenómeno decisivo en la evolución de la lesión (Gerrity RG.

1981). Los macrófagos activados liberan mediadores de inflamación como uroquinasa e interleucina 1 (IL-1) facilitando la entrada de monocitos y la adhesión de las moléculas de LDL a las células endoteliales (Rajavashisth TB et al, 1990).

En una etapa posterior se produce la migración de células musculares lisas desde la capa más profunda de la íntima y de macrófagos y linfocitos T desde el torrente sanguíneo al espacio subendotelial. Los monocitos se transforman en macrófagos que captan y fagocitan las lipoproteínas depositadas en el espacio subendotelial a través de receptores de membrana denominados scavenger receptor (SR). La activación de estas células se sigue de liberación de enzimas hidrolíticas, citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento que amplifican la respuesta inflamatoria llegando a producirse necrosis focal en algunas zonas. La repetición cíclica de estos fenómenos se acompaña de acumulación de células mononucleadas y de la formación de tejido fibroso que ocasionan el crecimiento y reorganización de la lesión. Como resultado final se forma una capa fibrosa que cubre un núcleo de lípidos extracelulares y tejido necrótico (Stary HC et al, 1995).

### **1.2.3 Evolución anatomopatológica de la lesión aterosclerótica**

En el análisis histológico de muestras obtenidas de autopsias de sujetos asintomáticos entre los 2 y 15 años de edad, fallecidos por causas no relacionadas con enfermedad aterosclerótica, las lesiones se localizaron principalmente en la arteria aorta, arterias coronarias y en general en la bifurcación de las arterias (Berenson GS et al, 1998). En esta sección se describe la evolución de la lesión desde estadios iniciales en los que se producen cambios detectados sólo microscópicamente hasta fases avanzadas en las que se produce un remodelado y alteración de la luz arterial.

#### *Capa íntima en sujetos sanos y regiones proclives a desarrollar aterosclerosis*

Las fases iniciales de la aterosclerosis comienzan en la capa íntima de la pared arterial definida como la región de la pared arterial contigua a la luz del vaso, desde el endotelio

hasta la capa media. La capa íntima a su vez se separa en dos niveles: el más próximo a la luz vascular está compuesto principalmente por proteoglicanos, células endoteliales, que forman una capa monocelular que cubre completamente la superficie en contacto con la luz arterial, macrófagos y células musculares lisas aisladas. Una segunda capa por debajo de la anterior se compone por abundantes células musculares lisas y fibras elásticas. Esta zona se separa de la capa media mediante una capa elástica que suele estar ausente en bifurcaciones, ramificaciones o curvaturas (Stary HC et al, 1992).

Desde el punto de vista morfológico existen segmentos de arterias con engrosamiento de la capa íntima sin que ésta pierda sus características morfológicas. Este fenómeno se considera una adaptación a cambios en el flujo y presión de la pared y se dan con más frecuencia en zonas de ramificaciones y orificios, con una distribución irregular dentro de la sección circular de la arteria. En estas zonas se produce un mayor recambio de células endoteliales y células musculares lisas además de acumulación de lipoproteínas y otras macromoléculas del plasma. En muchos casos estas mismas localizaciones son aquellas en las que posteriormente asientan las lesiones ateroscleróticas por lo que el engrosamiento de la capa íntima supondría el estadio inicial de la lesión aterosclerótica (Berenson GS et al, 1998; Stary HC et al, 1992).

#### *Definición de lesiones iniciales, estría grasa y lesiones intermedias*

Técnicamente es imposible seguir la evolución de una misma lesión a lo largo de la vida de un individuo por lo que los datos que nos permiten describir la evolución anatomopatológica de la enfermedad se han obtenido tras estudiar segmentos con la misma localización en individuos de distintas edades. De acuerdo a los hallazgos obtenidos se distinguen tres estadios sucesivos dentro de las fases iniciales de la aterosclerosis.

Lesión Tipo I o lesión inicial. Se describe como el depósito de lípidos en la íntima y la reacción celular asociada detectada mediante la exploración microscópica de los tejidos ya que no puede observarse a simple vista. Son más frecuentes en arterias de niños si bien puede encontrarse en adultos con poca aterosclerosis o en segmentos de arterias resistentes

a la aterosclerosis. Microscópicamente corresponden a grupos aislados de macrófagos con lípidos en su interior circunscritos a las zonas de la íntima más engrosadas.

Lesión Tipo II. Estas lesiones son las primeras detectables macroscópicamente y se describen como “estrias grasas”, acúmulos de células espumosas lineales o en forma de “gota”. Sin embargo, en fases iniciales, siguen pasando desapercibidas para el ojo humano. Microscópicamente se definen como células espumosas organizadas en capas. En la lesión se observa mayor número de macrófagos que en el estadio previo. La mayor cantidad de lípidos se contiene dentro de las células pero ya se observan pequeñas cantidades acumuladas fuera de ellas, principalmente ésteres de colesterol<sup>23</sup>. También comienzan a detectarse células musculares lisas con “gotas” de lípidos en su interior en la capa más profunda de la íntima así como mayor cantidad de matriz extracelular, linfocitos T y mastocitos. Este tipo de lesiones se han descrito en arterias de sujetos de 30 años sin FRCV ni historia personal de eventos cardiovasculares conocidos (Berenson GS et al, 1998).

Sólo una parte de estas lesiones evolucionarán hacia el estadio siguiente constituyendo un subtipo especial dentro de las lesiones tipo II. Pueden aparecer en zonas que soportan mayor estrés por alteración en la dirección del flujo sanguíneo sin que tengan que coexistir siempre con altas concentraciones de cLDL. En estas circunstancias se supone que la presión ejercida en la pared vascular provoca mayor tiempo de contacto entre la superficie celular y la sangre lo que facilita la internación de estas moléculas en la capa íntima. En sujetos con altas concentraciones de cLDL como aquellos con hipercolesterolemia familiar homocigota las lesiones tipo II darán lugar rápidamente a lesiones avanzadas, incluso en localizaciones atípicas (Beeuwkes R III et al, 1990).

Lesión Tipo III. Este tipo de lesiones enlazan entre las lesiones iniciales y lesiones avanzadas. Histológicamente se caracterizan por la acumulación extracelular de lípidos que confluyen entre capas de células musculares lisas en zonas de la íntima. Los lípidos extracelulares reemplazan el contenido de la matriz, confluyen y desplazan al resto de elementos celulares dando lugar a pequeñas gotas de grasa sin que todavía se forme un gran núcleo lipídico extracelular ni se afecte la estructura de la capa media.

Las lesiones iniciales en general permanecen clínicamente silentes al cesar la acción del agente agresor, por ejemplo al normalizarse las concentraciones de cLDL. En todas ellas la capa media adyacente a la lesión permanece intacta. Por el contrario en las lesiones avanzadas, el depósito extracelular de lípidos produce la ruptura y deformación de la íntima. En lesiones muy avanzadas estos depósitos pueden afectar a las capas media y adventicia (Figura 2).

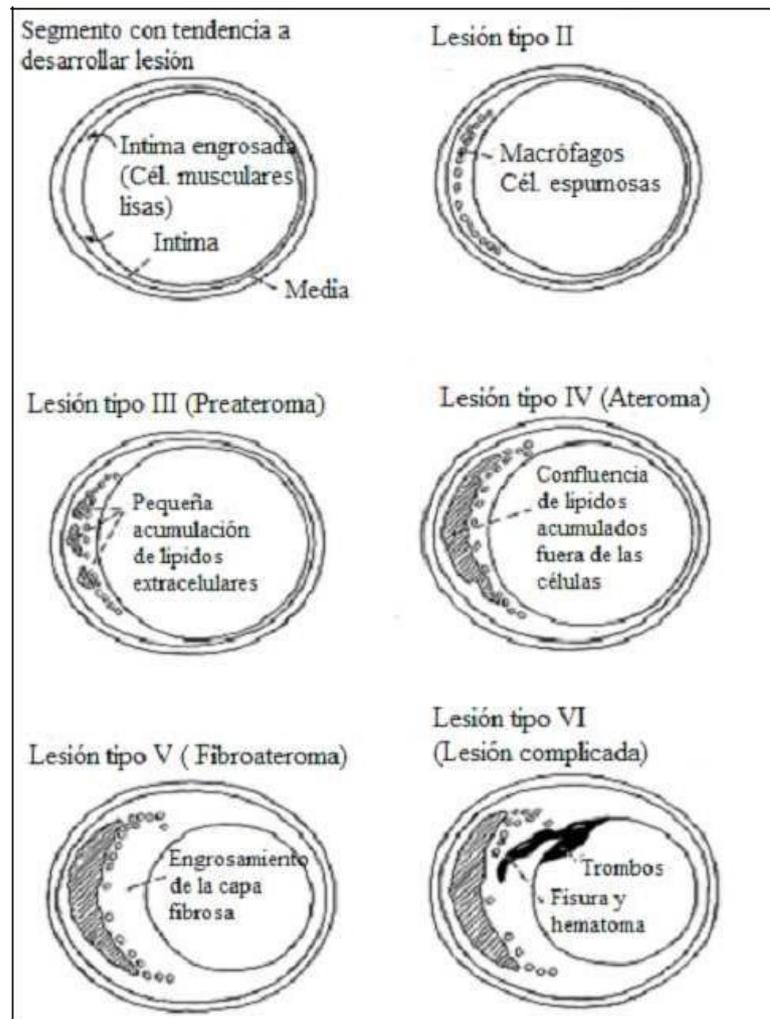


Figura 2. Esquema de las lesiones ateroscleróticas desde el estadio inicial hasta el desarrollo de complicaciones.

## Lesiones avanzadas y clasificación histológica de la aterosclerosis

Las lesiones avanzadas son aquellas en las que la acumulación de material extracelular, principalmente lípidos, ha ocasionado una importante alteración en la estructura de la capa íntima produciendo su engrosamiento y desorganización junto con la deformación de la pared arterial. A partir de este estadio, la probabilidad de complicación de la lesión de forma súbita por mecanismos trombóticos secundarios o no a la ruptura de la placa es mucho mayor (Stary HC et al, 1995).

Dentro de las lesiones avanzadas se incluyen tres tipos diferentes (Figura 2):

Lesión Tipo IV. La confluencia de pequeñas gotas de lípidos extracelulares y células espumosas dentro de la íntima da lugar a un núcleo lipídico, también conocido como “ateroma” que se cree es el resultado de la afluencia continua de lipoproteínas desde el plasma<sup>22</sup>. En este estadio, los lípidos acumulados engruesan visiblemente la capa íntima pero sin producir todavía la disminución del calibre de la luz arterial<sup>25</sup>. La matriz extracelular es desplazada localizándose entre el core lipídico y la superficie endotelial. En su interior se concentran macrófagos, linfocitos, mastocitos y células musculares lisas. Con frecuencia se acompañan de capilares que bordean los límites de la lesión. En algunas muestras de sujetos de edad media sin antecedentes clínicos de enfermedad cardiovascular (ECV) se ha observado la calcificación de organelas lo que dará lugar a imágenes hiperecogénicas en la exploración ecográfica de la lesión. La disminución de colágeno y el aumento de macrófagos facilitan la formación de fisuras en esta zona. Como consecuencia se pueden producir con mayor probabilidad complicaciones aterotrombóticas que den lugar a manifestaciones clínicas por disminución del flujo arterial (Beeuwkes R III et al, 1990).

Lesión Tipo V. En este estadio la capa de matriz extracelular que rodea el core lipídico se transforma en una prominente capa de tejido fibroso. Este nuevo tejido se compone principalmente de colágeno y células musculares lisas con abundante expresión del retículo endoplásmico rugoso que aumenta el grosor de la capa íntima. Esta capa se engruesa más cuando engloba en su interior restos de trombos que se han ido incorporando y reorganizado

en su interior. En los márgenes de la capa fibrosa aparecen capilares que suelen ser mayores y más numerosos que en las lesiones tipo IV, junto con macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. Con frecuencia se acompañan de microhemorragias cuyos restos quedan englobados en la propia lesión. Existen distintas variaciones según se incluya el core lipídico, se asocie o no con tejido fibroso y aparezcan o no calcificaciones. En este estadio se produce la disminución de la luz vascular y alteraciones en el flujo sanguíneo que las hacen aún más proclives a nuevas complicaciones (Stary HC et al, 1995).

Lesión Tipo VI. Se clasifican en este apartado las lesiones tipo IV o V que han sufrido una ruptura o erosión de la capa fibrosa, hemorragia o trombosis. Estas lesiones son las que con más frecuencia ocasionan manifestaciones clínicas por disminución del flujo arterial. Estas complicaciones pueden asentarse en cualquier estadio de la aterosclerosis, incluso en la superficie de la íntima sin lesión aparente, aunque en este último caso son mucho menos probables.

A la vez que se producen todos estos fenómenos se produce una adaptación del calibre vascular. La evolución de la lesión ocasiona el engrosamiento de la pared arterial junto con el aumento del tamaño de la arteria por lo que el calibre de la arteria permanece preservado hasta que el aumento en el diámetro arterial se hace insuficiente dando lugar a la disminución de la luz vascular y alteraciones del flujo sanguíneo (Glagov S et al, 1987).

### **1.3. ECOGRAFÍA CAROTÍDEA.**

#### **1.3.1 Ecografía carotídea. Consideraciones generales.**

La ecografía carotídea es un método sencillo, reproducible, de bajo coste y fiable que permite evaluar la magnitud anatómica de la aterosclerosis y el riesgo cardiovascular mediante el estudio morfológico del territorio carotídeo (Bots M et al, 2003).

En el estudio ecográfico de arterias de localización superficial como las carótidas, y por lo tanto, accesibles al estudio con transductores de alta frecuencia (7,5-10 MHz), la pared arterial normal explorada en sección longitudinal está formada por dos líneas paralelas ecogénicas separadas por un espacio anecoico. Esta imagen se observa siempre en la pared posterior del vaso (la más alejada del transductor) y de forma menos constante en la pared anterior (la más cercana al transductor) por problemas de reverberación.

En 1986, Pignoli et al (Pignoli P et al, 1986) demostraron en piezas quirúrgicas de tejido arterial, que las dos líneas ecogénicas apreciables en los cortes longitudinales de la pared posterior carotídea, se originaban a partir de las interfases luz vascular-íntima y media-adventicia, respectivamente. Los autores propusieron la medida de la separación entre ambas líneas, que se denominó complejo íntima-media, como parámetro para cuantificar la aterosclerosis, basándose en la hipótesis de que el complejo íntima-media estaría engrosado debido al depósito de lípidos.

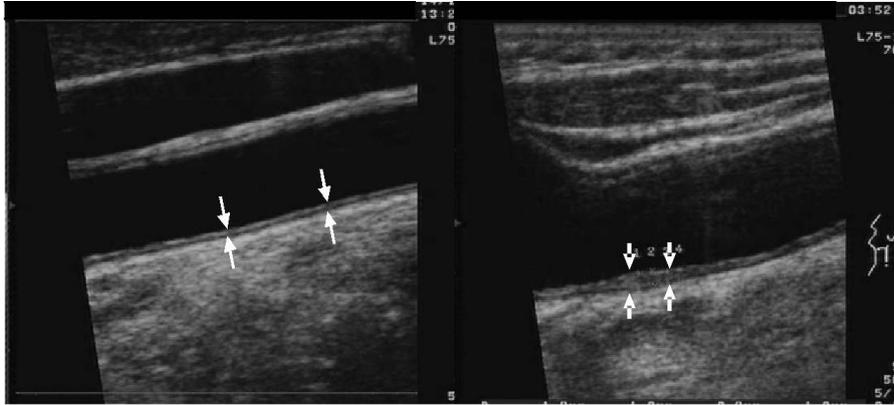
Debido a la accesibilidad de la carótida primitiva y al ser la evaluación de los segmentos pre-bifurcación reproducibles entre diferentes exploraciones, son estos los que se evalúan en la cuantificación del complejo íntima-media.

Estas localizaciones también coinciden con la localización de las lesiones ateroscleróticas precoces con independencia de la existencia o no de la elevación de las fracciones lipídicas. Este hecho es indicativo de que las lesiones se desarrollan más frecuentemente en zonas que están sometidas a un proceso adaptativo hemodinámico: registro turbulento, diferencias de tensión parietal entre segmentos y/o estasis sanguíneo.

En la realización de la ecografía carotídea, para evaluar la carga aterosclerótica, se evalúan los siguientes parámetros:

1. Grosor íntima-media (GIM) de la carótida primitiva. Se define como la distancia existente entre la interfase luz carotídea-íntima y la interfase media-

adventicia de la pared posterior (Figuras 3 y 4). Cuando existen placas de ateroma, se considera como grosor máximo del GIM a la altura máxima de la placa.



*Figuras 3 y 4. Grosor íntima-media (GIM) carotídeo (espacio delimitado entre las flechas) normal (3) y patológico (4) (engrosado), respectivamente.*

2. Placas de ateroma. Se definen como engrosamientos focales del GIM con una altura superior al 50% del GIM adyacente no engrosado o como engrosamientos difusos de 1,2 mm o más. Se analizan los siguientes parámetros: número de placas, localización, altura máxima de la placa carotídea y suma de las alturas máximas de las placas.

En los pacientes con placas muy calcificadas que impidan la evaluación de la luz permeable, el grado de estenosis se evaluará mediante la exploración con Doppler pulsado, cuantificando las velocidades pre y post-placa.

La ecografía carotídea tiene escasamente 20 años de historia (Pignoli P et al, 1986), por lo que aún no está suficientemente estandarizada y los distintos protocolos empleados dificultan la comparación de los resultados de los muchos estudios que utilizan esta técnica.

El uso de la ecografía carotídea en la detección y seguimiento de la aterosclerosis preclínica está en plena expansión.

*GIM carotídeo y eficacia del tratamiento hipolipemiante*

En la Tabla 1 se resumen los resultados de los principales estudios clínicos con hipolipemiantes que han utilizado los cambios temporales del GIM como variable sustitutiva principal de la eficacia terapéutica.

El estudio ACAPS (Asymptomatic Carotid Artery Prevention Study) (Furberg CD et al, 1994), el primero que utilizó la ecografía carotídea para valorar eficacia, se efectuó en individuos asintomáticos con hipercolesterolemia moderada y aterosclerosis carotídea; el tratamiento con lovastatina redujo el cLDL un 28% y se asoció a regresión del GIM carotídeo en comparación con el grupo placebo.

Estudio y referencia bibliográfica	Población	N	Intervención (dosis)	Duración (años)	Variable final	Efecto sobre GIM*
ACAPS <sup>14</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	919	Lovastatina (20-40 mg) frente a placebo	3	GIM carotídeo	Regresión
PLAC II <sup>15</sup>	ECC	151	Pravastatina (10-40 mg) frente a placebo	3	GIM carotídeo	↓ progresión
KAPS <sup>16</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	447	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	3	GIM carotídeo	↓ progresión
CAIUS <sup>17,18</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	305	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	3	GIM femoral GIM carotídeo	Sin efecto Regresión
MARS <sup>19,20</sup>	ECC	188	Lovastatina (80 mg) 4 frente a placebo	4	GIM carotídeo	Regresión
LIPID <sup>21</sup>	ECC	522	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	4	GIM carotídeo	Regresión
REGRESS <sup>22</sup>	ECC	225	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	2	GIM carotídeo GIM femoral	Regresión Regresión
BCAPS <sup>23</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo y metoprolol vs placebo	793	Fluvastatina (40 mg)	3	GIM carotídeo	↓ progresión
ASAP <sup>24</sup>	HC familiar	325	Atorvastatina (80 mg) frente a simvastatina (40 mg)	2	GIM carotídeo	Regresión (A)
ARBITER <sup>25</sup>	HC moderada (con y sin ECC)	161	Atorvastatina (80 mg) frente a pravastatina (40 mg)	1	GIM carotídeo	Progresión (S) Regresión (A) Estable (P)
Kent et al <sup>26</sup>	HC moderada	161	Atorvastatina (80 mg) frente a pravastatina (40 mg)	1	GIM carotídeo	↑ regresión con ↓ cLDL

GIM: grosor íntima-media; HC: hipercolesterolemia; ECC: enfermedad cardíaca coronaria; (A): atorvastatina; (S): simvastatina; (P): pravastatina; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

\*Excepto cuando se indica específicamente, el efecto indica el del fármaco activo sobre el del placebo.

*Tabla1 . Estudios clínicos aleatorizados y controlados con cambios del GIM carotídeo como variable sustitutiva principal.*

El efecto beneficioso del tratamiento con estatinas sobre la tasa de progresión del GIM carotídeo se asocia también a un mejor pronóstico clínico.

La modificación del estilo de vida, sea con dieta mediante reducción del consumo de ácidos grasos saturados, también ha demostrado su potencial para detener la progresión o inducir regresión de la aterosclerosis carotídea evaluada por ecografía.

La utilidad del GIM carotídeo como variable sustitutiva de eventos cardiovasculares hace que se utilice cada vez más en la evaluación de la eficacia de nuevos fármacos hipolipemiantes o antiateroscleróticos.

### **1.3.2. Ecografía carotídea frente a otras técnicas de imagen para la valoración de la aterosclerosis preclínica**

#### **1.3.2.1. Detección de calcio coronario por TC**

Es una técnica muy sensible (si se detecta calcio es porque hay placas; sensibilidad 95% (de Groot E et al, 1998), pero poco específica (muchas placas no están calcificadas; especificidad 45-50%), por lo que no se considera indicada por ahora para el cribado del riesgo (O'Rourke RA 2000). Asimismo, dado que no se ha establecido una correlación entre la calcificación arterial y el riesgo de rotura de la placa y que la mayoría de placas que desarrollarán eventos cardiovasculares (placas vulnerables) no están calcificadas, esta técnica es poco útil en la detección del paciente "vulnerable". Además, aunque varios estudios prospectivos señalan la puntuación del calcio coronario como un buen predictor de enfermedad cardiovascular futura (Akosah KO et al, 2003; Smith SC Jr et al, 2000; Greenland P et al, 2001) se trata de un tema debatible (Detrano RC et al, 1999). En todo caso, existe una buena correlación entre el volumen del calcio coronario y el GIM carotídeo (Oei HH et al, 2002). De lo anteriormente expuesto se intuye que, a pesar de los atractivos de ser una técnica incruenta que mide directamente la carga aterosclerótica coronaria, el volumen del

calcio coronario medido por TC sea aún un método emergente para determinar si su tasa de progresión puede utilizarse para evaluar la eficacia del tratamiento hipolipemiante.

### 1.3.2.2. RMN cardiovascular

A diferencia de la ecografía arterial externa, técnica de imagen aplicable primariamente a las carótidas, y del TC de haz de electrones para determinar el calcio coronario, que se usa prácticamente sólo en las arterias coronarias, la RMN de alta resolución permite visualizar de modo incruento la aterosclerosis en distintos lechos vasculares. La RMN tiene diversas aplicaciones en patología cardiovascular, la mayoría aún en fase experimental, que van desde la realización de una coronariografía incruenta para detectar lesiones oclusivas coronarias en pacientes sintomáticos al diagnóstico y, lo que es potencialmente más importante, la caracterización de la composición de las placas de ateroma en la aorta, las carótidas o las coronarias (Yuan C et al, 2002; Corti et al 2003). La estructura de las placas determina su vulnerabilidad a romperse y causar episodios isquémicos, por lo que la RMN, que está en continuos refinamientos técnicos, tiene un futuro muy prometedor, probablemente más en el campo de la cardiología intervencionista que en la detección de aterosclerosis preclínica.

La experiencia con la RMN en el seguimiento de la progresión de la aterosclerosis con tratamiento hipolipidemiante es escasa y se limita a pequeños estudios no controlados. En un pequeño subestudio del estudio FATS (Familial Atherosclerosis Treatment Study) en pacientes con ECC (Zhao XQ et al, 2001), se efectuó RMN de placas carotídeas en 8 pacientes que recibieron tratamiento hipolipemiante agresivo durante 10 años y en 8 pacientes control no tratados, demostrándose diferencias notables en el contenido lipídico de las placas. El grupo de Valentín Fuster, pionero en RMN vascular, ha objetivado regresión de ateroma aórtico y carotídeo en respuesta al tratamiento con simvastatina (Corti R et al, 2002). En resumen, la RMN es una técnica potencialmente muy útil porque permite evaluar no sólo el tamaño de las placas de ateroma, sino también su composición y el remodelado arterial en respuesta a la lesión aterosclerótica. La técnica es capaz de determinar cambios de morfología y composición de las placas carotídea y aórticas inducidos por el tratamiento hipolipemiante, pero por ahora su resolución deja mucho que desear a nivel de las arterias coronarias. De

todos modos, no existen suficientes evidencias científicas sobre la capacidad predictiva del riesgo cardiovascular de los hallazgos de la RMN vascular, una técnica por otra parte costosa y poco disponible.

### **1.3.2.3. Ecografía intravascular (IVUS)**

El IVUS es una técnica que ofrece imágenes precisas de la pared arterial y permite cuantificar el volumen de las placas de ateroma (Nissen SE et al, 2001). Sin embargo, se trata de una técnica cruenta en la misma medida que la angiografía. Además, en su aplicación habitual para visualizar la pared de las arterias coronarias, presenta limitaciones por su pequeño diámetro (3-4 mm) y trayecto tortuoso, junto con una difícil interpretación visual de las lesiones. Por estos motivos, el IVUS se relega a pacientes con ECC atendidos en centros académicos de cardiología intervencionista.

Por sus características de visualización precisa de las placas, el IVUS es una técnica muy atractiva en la evaluación de la eficacia de tratamientos que pueden modificar la evolución de la aterosclerosis, obviamente en pacientes seleccionados con ECC. De los estudios clínicos que han usado el IVUS con este objetivo, el más importante, tanto por el elevado número de participantes como por sus resultados, que apoyan una vez más la noción de que “el colesterol LDL cuanto más bajo mejor”, es el estudio REVERSAL (Nissen SE et al, 2004), que demostró regresión de ateroma coronario por ecografía en pacientes tratados con atorvastatina 80 mg durante 18 meses en comparación con progresión de lesiones en pacientes que recibieron pravastatina 40 mg.

Sin duda, esta técnica se aplicará cada vez más en los próximos años como sustituto de la angiografía en estudios de progresión de la aterosclerosis en pacientes con ECC.

## **1.4. ENFERMEDAD GRASA NO ALCOHÓLICA DEL HÍGADO**

### **1.4.1 Concepto**

El hígado graso o esteatosis hepática es un cuadro que se caracteriza por la acumulación de grasa en el hígado y, que en general, se diagnostica de forma casual durante rastreos ecográficos de abdomen (hígado hiperecogénico), realizados para la evaluación de diferentes patologías.

Normalmente el hígado contiene 5 g de contenido de grasa por cada 100 g de peso, por lo tanto el diagnóstico de hígado graso se establece cuando el órgano tiene más de un 5% de su peso total con contenido lipídico.

La acumulación de grasa mantenida en el hígado puede producir inflamación hepática y desencadenar cirrosis. La prevalencia del hígado graso es del 30% de la población. La esteatohepatitis, que forma parte de espectro del hígado graso, presenta un prevalencia entre el 5-17% (Cassidy FH et al, 2009; Bacon BR et al, 1994).

En la literatura, se hace una distinción entre la hepatopatía de origen no alcohólico (NAFLD) y la de origen alcohólico (ALD). Aunque ambas tengan mecanismo fisiopatológicos diferentes, la lesión final hepática es la misma (cirrosis).

En la fase inicial de la enfermedad, la acumulación de grasa en los hepatocitos lleva al desarrollo de hígado graso (esteatosis), que se caracteriza por un exceso en el depósito de triglicéridos. NAFLD se asocia a menudo con elementos del síndrome metabólico, es decir, una constelación clínica que incluye obesidad, hipertensión, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa e hiperlipidemias, y abarca un espectro de trastornos hepáticos

desde la esteatosis hepática simple a la más ominosa condición conocida como esteatohepatitis (NASH). Parecen existir mecanismos fisiopatológicos comunes entre la esteatosis no alcohólica (asociada a obesidad y síndrome metabólico) y el hígado graso alcohólico, de manera que, si se mantiene el consumo de alcohol, la esteatosis puede progresar a la hepatitis y fibrosis, lo que puede conducir a cirrosis hepática. Del mismo modo, NAFLD puede conducir a un daño hepático progresivo y desencadenar fibrosis y cirrosis.

La condición de hígado graso ha sido durante mucho tiempo considerada benigna, sin embargo, cada vez es más evidente que se trata de una condición potencialmente patológica y que precede al desarrollo de la esteatohepatitis alcohólica o no alcohólica y a la cirrosis (Yoneda M et al, 2010; Chen J et al, 2011).

#### **1.4.2. Diagnóstico y biomarcadores**

Un método no invasivo para el diagnóstico de factores de riesgo del hígado graso, son los biomarcadores, es decir, la utilización de sangre, orina, saliva o pelo. No obstante es preciso completar estos estudios con técnicas de imagen no invasivas que confirmen el diagnóstico y permitan un tratamiento precoz de la esteatosis y de la esteatohepatitis.

La evaluación bioquímica del hígado se realiza mediante pruebas de función hepática a través de muestras sanguíneas. Los parámetros que se evalúan de forma rutinaria son: GOT (aspartato aminotransferasa) y GPT (alanina aminotransferasa), proteínas totales, albúmina y las globulinas y ( $\gamma$ -glutamil transferasa o GGT), bilirrubina total, fosfatasa alcalina, y el tiempo de protrombina normalizado (INR).

El FibroMax (Biopredictive, Francia) es un procedimiento no invasivo que consta de un panel de marcadores capaces de predecir enfermedad hepática avanzada. Consta de cinco pruebas: FibroTest (para evaluar el grado de la fibrosis); ActiTest (para evaluar el grado de actividad, inflamación y necrosis); SteatoTest (para diagnosticar esteatosis hepática);

NashTest (para diagnosticar la esteatohepatitis no alcohólica) y el AshTest (para diagnosticar la esteatohepatitis no alcohólica grave) (Lassailly G et al, 2011).

FibroMax combina la medición de 10 parámetros indirectos ajustado por edad, sexo, peso y altura:  $\alpha$ 2-macroglobulina, la haptoglobina, la apolipoproteína A1, bilirrubina total, GGT, ALT, AST, glucosa en ayunas, triglicéridos y colesterol total.

Por otra parte, las leptinas y las adiponectinas han sido descritas como posibles herramientas de screening para el diagnóstico de NAFLD, de manera aislada o en combinación con otros factores de riesgo. Ambas hormonas son importantes reguladoras de la obesidad y la resistencia a la insulina y están implicadas en el desarrollo de esteatosis hepática, inflamación y fibrosis en pacientes con NAFLD. Los niveles séricos elevados de leptina y disminuidos de adiponectina son una constante en pacientes con NAFLD y NASH, comparados con pacientes controles (Zelber-Sagi S et al, 2012).

En cuanto a las técnicas de imagen, los US son la técnica de elección tras la anamnesis y exploración física, en pacientes con sospecha o evidencia de enfermedad hepática, simultáneamente a las pruebas analíticas dirigidas al establecimiento de la causa del proceso y antes de cualquier otra intervención diagnóstica o terapéutica. Esto es así por su inocuidad, bajo coste, accesibilidad y reconocida utilidad (Macías Rodríguez MA et al, 2003; 95:258-64, 251-7). La ecografía es rentable y está ampliamente disponible, pero está limitada por la variabilidad interobservador e intraobservador (Strauss S et al., 2007).

El diagnóstico de esteatosis es relativamente fácil de realizar a partir de una amplia semiología ecográfica bien definida. Por el contrario, la aportación de la US a la determinación del estadio histológico en pacientes con una enfermedad crónica sin los indicios habituales de disfunción hepática ni hipertensión portal es menos evidente, siendo ésta quizá la indicación más solicitada en el momento actual y de especial importancia, pues aproximadamente el 25% de los pacientes sometidos a biopsia hepática en el estudio de una hipertransaminasemia mantenida, en estas circunstancias, tienen ya una cirrosis hepática no sospechada.

Otras técnicas de imagen son la tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética (RM). Aunque la TC se considera una técnica fiable para evaluar la esteatosis, su uso es limitado por la exposición a la radiación. Además, es menos sensible que la ecografía y resonancia magnética (Bohte AE et al, 2011). Dentro de la RM, existe una modalidad llamada “elastografía de resonancia magnética (Elasto-RM)”, que produce imágenes codificadas a color conocidas como elastogramas que indican la elasticidad de los tejidos. La medición de manera directa de la grasa y el agua y, en general, las señales de protones, se considera la forma más inocua para la cuantificación de la grasa hepática (Chen J et al, 2011). El problema de esta técnica es que es costosa, poco disponible, mal tolerada por parte de algunos pacientes y proporciona una imagen estática, a diferencia de otras técnicas.

Por último, otra técnica no invasiva que puede ser utilizada para establecer de manera cuantitativa el grado de esteatosis hepática y su componente inflamatorio y/o fibrótico es el Fibroscan®. Esta técnica se basa en la adquisición de pulsos de eco, que recogen la propagación de una onda de corte a través de la porción del tejido a estudio y miden su velocidad, que está directamente relacionada con el la rigidez del tejido (o módulo de elasticidad). Los resultados se expresan en kilopascales (Sandrin L et al, 2003).

La sonda se aplica en la línea media axilar, entre las costillas y sobre la silueta hepática. El explorador debe mantener la posición de la sonda (perpendicular al plano cutáneo) y obtener 10 determinaciones válidas. La pantalla mostrará tres valores que debemos tener en cuenta. La ratio o relación entre el número de mediciones válidas y el número total de mediciones, el rango intercuartil (RIC) o variación del total de mediciones validas con respecto a su valor mediano y la rigidez o valor mediano de las 10 determinaciones válidas, expresado en kPa. Esta técnica, a diferencia de los US, no presenta correlación con una imagen y presenta limitaciones en pacientes obesos y/o con ascitis (Foucher J et al, 2006; Nightingale K et al, 2006).

En la actualidad, el diagnóstico de NAFLD requiere de los resultados de la histología hepática. De modo que la biopsia hepática se considera el estándar de referencia para detectar y poner de manifiesto las lesiones en las células hepáticas (Bravo AA et al, 2001).

Sin embargo, la biopsia hepática tiene varias desventajas, incluyendo el error de muestreo, la variabilidad intra e inter observador, la escasa aceptación del paciente y las complicaciones potenciales que incluyen la hemorragia y la muerte (Kleiner DE et al, 2005).

Por esto, se han ido desarrollando métodos no invasivos para la evaluación de la esteatosis y fibrosis hepática, como la fuerza de radiación acústica (ARFI). Esta técnica está integrada en los equipos de ecografía convencional, lo que es ventajoso ya que puede realizarse en un mismo examen y la región de interés puede elegirse bajo imagen.

Recientemente se ha demostrado que la técnica ARFI tiene mayor sensibilidad y especificidad (85% y 83,3% respectivamente), en la detección de hígados con fibrosis y/o esteatohepatitis, que la ecografía simple o los datos de laboratorio (F. Guzmán-Aroca et al, 2012)

#### **1.4.3 Enfermedad grasa no alcohólica del hígado (NAFLD) en niños**

La NAFLD es la enfermedad hepática más frecuente en la infancia debido al aumento de la prevalencia mundial de obesidad, a la que normalmente se asocia (Jian y Torok, 2008). Esta incluye tanto a la esteatosis hepática como a la NASH y en los estadios finales, la cirrosis hepática (Burgert et al, 2006).

Hasta 9.6 por ciento de los jóvenes estadounidenses y asiáticos en estudios de autopsias presentaron NAFLD, incrementándose hasta 12-80 por ciento en niños obesos. La prevalencia de NAFLD es variable de unos estudios a otros, porque el diagnóstico de certeza requiere una biopsia hepática, no realizada de forma rutinaria. Los niños con NAFLD pueden

presentar hipertransaminasemia, a expensas de la ALT, 2-3 veces por encima de los niveles considerados normales, y/o alteraciones en la ecogenicidad hepática (Dalmau et al, 2007).

Además de la obesidad, las principales causas de NAFLD son la RI y la hipertrigliceridemia. Tanto el incremento de AGL hepáticos, bien de la dieta, o de la lipólisis del tejido adiposo, fundamentalmente visceral, o por la hiperinsulinemia o hiperglucemia que favorece la síntesis hepática de AG, suponen situaciones que predisponen al acúmulo de lípidos hepáticos. Este constituye al primer paso de la NAFLD, que puede ser seguido del daño hepatocitario consiguiente a la disfunción mitocondrial, de perpetuarse estas condiciones adversas en un paciente con una susceptibilidad genética. En un estudio multivariante realizado en niños obesos, se objetivó que IMC z score, ALT y ácido úrico eran predictores independientes de NAFLD (Sartorio et al, 2007).

La esteatosis hepática supone un marcador independiente de las ECV (Brunt, 2010). Burgert y colaboradores (2007), hablan de la triada relacionada con la esteatosis hepática: RI, obesidad central e hipoadiponectinemia.

La NAFLD se asocia a un incremento de las ECV así como a mayor grosor del IMT (Sookoian y Pirola, 2008).

En cuanto al diagnóstico de NAFLD, la prueba “gold estándar” es la biopsia hepática, existiendo dos patrones diferenciales en función de la edad de presentación. En adultos, las lesiones hepáticas suelen ser perivenulares, a diferencia de los niños, que pueden presentar este patrón o más frecuentemente el tipo 2 o periportal. Además, en esta etapa de la vida raramente aparece degeneración hidrópica ni fibrosis perisinusoidal (Brunt, 2010). Por otro lado, las determinaciones bioquímicas presentan una baja sensibilidad y especificidad, siendo una de las más empleadas la ALT plasmática, cuyos niveles no se correlacionan con el daño hepático. Uno de los problemas, es qué nivel considerar “normal” y cuál diagnóstico de NAFLD.

## 1.5. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ACTIVIDAD FÍSICA EN NIÑOS

La actividad física abarca todos los movimientos realizados por el cuerpo humano que consumen energía. La actividad física no se limita al ejercicio que se planea, organiza y es regular, sino que incluye todos los movimientos diarios como las actividades en el trabajo, durante el tiempo de recreo, en casa o durante el traslado de un lado a otro. La valoración de la actividad física puede ser expresada en términos de frecuencia o duración y la intensidad como sedentaria, ligera, moderada, de moderada a vigorosa (MVPA) o vigorosa (VPA). La AF moderada puede incluir baile y caminar a paso ligero mientras la AF vigorosa implica mayor esfuerzo, como correr, montar en bicicleta rápido, nadar rápido y los deportes de competición (World Health Organization. Physical Activity. 2013; Corder, K., et al., 2008; Sirard, J.R. et al, 2001).

Se han utilizado varios métodos de medición de la AF. Medidas objetivas incluyen podómetros, acelerómetros y monitores de ritmo cardíaco; medidas subjetivas incluyen entrevistas o auto-informes.

La actividad física es difícil de medir en los niños debido a sus tendencias de movimiento variables, su desarrollo físico, problemas en la comprensión y transmisión de la información. Medidas subjetivas han sido ampliamente utilizadas en niños y adolescentes, ya que son fáciles de implementar y de bajo costo, pero a menudo son criticados como inexactas, ya que pueden ser emocionalmente sesgadas durante el proceso del cuestionario debido a la conveniencia social. Por otra parte, al describir la actividad a través de auto-informes, la intensidad real y la duración pueden ser inexactas (Corder, K., et al., 2008; Ekelund et al, 2001; Vanhees, L., et al, 2005; Sithole, F et al, 2008 ; Dencker, M. et al, 2008).

Las medidas objetivas, como acelerómetros, podómetros y monitores de ritmo cardíaco, por otro lado, proporcionan la intensidad, la frecuencia y la duración con mayor exactitud. Sin embargo estas medidas tienen limitaciones. Por ejemplo, actividades como la escalada y el ciclismo son difíciles de detectar por los acelerómetros y podómetros. Además, la AF normal no puede ser capturada si los niños cambian su comportamiento ya que son

conscientes de que están siendo vigilados. La información de la intensidad de la actividad física también es controvertida. Existe variabilidad en el punto de corte estándar para Moderada-Vigorosa AF y Vigorosa AF con gran variabilidad en las definiciones de intensidad en diversos estudios. Esto puede dar lugar a errores de clasificación de los individuos según el tipo de intensidad y puede poner en duda la comparabilidad de las variables de AF entre diferentes investigaciones (Corder, K et al, 2008 , 120, Trost, S.G, 2001; Warren, J.M., et al. 2010)

En general la medida de la AF en niños es compleja y difícil. Se han incluido varios métodos para medir la AF empleando tanto evaluaciones subjetivas como objetivas. Aunque las medidas subjetivas son más baratas en comparación con las medidas objetivas, los estudios han demostrado que las medidas subjetivas y objetivas no están altamente correlacionadas. Para la medición de la AF se recomiendan las mediciones objetivas y dentro de estas medidas, se destacan los acelerómetros como fiables, válidos y que proporcionan información válida de intensidad (Rowlands et al, 2007).

### **1.5.1. Prevalencia de la actividad física en niños**

Según la OMS, en el año 2004 el 5,5% de las muertes fueron causados por la inactividad física y en 2008, la inactividad física se estimó en el 31,3% de los mayores de 15 años. En 2004 en Canadá y Estados Unidos, aparece la inactividad física como la cuarta causa de muerte, y los datos del 2010 mostraron que al menos el 25% de la población no era suficientemente activa. La inactividad en los países desarrollados se cree que se deriva de la urbanización, el uso del coche y el mayor uso de la tecnología. Esta baja AF eventualmente puede conducir a condiciones perjudiciales para la salud, como la diabetes tipo 2, cáncer y enfermedades cardiovasculares (World Health Organization, World Heart Federation, World Stroke Organization. 2011; World Health Organization. 2009).

Además, estas enfermedades crónicas suponen un elevado coste en el sistema de salud. En Canadá se estimó un 3,7% del gasto total en 2009, debido a los costos directos e indirectos de enfermedades como la diabetes tipo 2, hipertensión arterial, osteoporosis,

cáncer de colon, cáncer de mama, accidente cerebrovascular y enfermedad coronaria. (Janssen, I, 2012).

Las recomendaciones de AF de la Sociedad Canadiense de Fisiología del Ejercicio de niños y adolescentes, son de un mínimo de una hora de MVPA cada día. Sin embargo, los datos de 2007-2011 mostraron que sólo 8,3% de los niños y adolescentes de 6 a 17 años alcanzaron esta actividad, según datos basados en acelerómetros. Por otra parte, los niños tenían niveles más altos de MVPA que en las niñas, y los grupos de mayor edad mostraron niveles de MVPA inferiores en comparación con los grupos más jóvenes, lo que sugiere que los niños se involucran en menos AF a medida que se hacen mayores. En suma, la prevalencia de la inactividad física es elevada y esto puede conducir a enfermedades crónicas con el consiguiente aumento del gasto (Statistics Canada. 2013; Colley R.C. et al., 2011).

#### **1.5.2. Asociación entre actividad física, enfermedades cardiovasculares y factores de riesgo**

Varios estudios han demostrado que la AF se asocia con las enfermedades cardiovasculares en los adultos. Se demostró que los adultos que realizaban mas actividad física y más intensa tenían un riesgo entre 30% a 40% menor de padecer enfermedades cardiovasculares que los que no. En un meta-análisis de 21 estudios de cohortes se demostró que los adultos sin enfermedad realizaban mas actividad física en duración, intensidad y frecuencia que los que no. Dando lugar a un riesgo 24% menor de ECV en los hombres y un riesgo 27% menor de enfermedad cardiovascular en mujeres (Shiroma, E.J. et al, 2010; Li, J. and J. Siegrist, , 2012).

En otro meta-análisis de 33 estudios de cohortes, hubo un 14% menos de riesgo de enfermedad coronaria en adultos que alcanzaron intensidad moderada de AF durante 150 minutos a la semana frente a los que no (Sattelmair, J., et al, 2011). Estos estudios muestran el impacto beneficioso que la AF tiene en la reducción de riesgo de ECV.

La actividad física también tiene un efecto sobre los factores de riesgo cardiovascular en niños y jóvenes. En los estudios en los que participaron niños y adolescentes en programas de intervención de ejercicio que duran de meses a dos años, la mitad de los estudios mostraron que las medidas de adiposidad como la grasa total, grasa abdominal o IMC se redujeron significativamente (Janssen, I. et al, 2010 ). Una revisión de la literatura reciente de la asociación entre los factores de riesgo cardiovascular y la AF en niños expuso que la presión arterial se redujo en hipertensos sometidos a programas de intervención de 30 minutos o más de ejercicio aeróbico, tri-semanal (Andersen, L.B., et al, 2011). En general, la literatura muestra que los niveles de AF más altos se asocian con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y que esta relación inversa también se ha demostrado entre los FRCV y la AF.

### **1.5.3. Asociación entre actividad física y GIM en adultos**

Aunque existe una clara asociación entre AF y ECV y entre los FRCV y AF, dos revisiones sistemáticas de estudios que investigan el efecto independiente de la AF y el GIM ambos llegaron a la conclusión de que la literatura no es concluyente con respecto a esta relación, en el escaso número de estudios que se han realizado hasta el momento (Kadoglou, N.P et al 2008; Ahmed, H.M., et al., 2012) Por ejemplo, los estudios transversales en adultos libres de enfermedad han demostrado que la percepción subjetiva de AF no se asoció significativamente con el GIM carotídeo en 800 adultos entre 56 y 77 años de edad (Ebrahim, S., et al, 1999) ni en 137 adultos de 18 a 77 años de edad que participaron en carreras comprometidos en el ejercicio vigoroso seis o siete veces a la semana (Tanaka, H., et al., , 2002 ). Por el contrario, otros estudios han mostrado asociaciones significativas entre la AF y el GIM carotídeo. En particular, en 500 adultos libres de enfermedad de 40 a 60 años de edad en el estudio *Los Angeles Atherosclerosis study* que realizaron AF de alta intensidad y fueron basados en auto-informes se demostró una disminución de la progresión del GIM carotídeo de manera que el aumento anual del GIM en los sujetos que participaron fue 0,0082 mm / año más bajos que los que fueron clasificados como sedentarios (Nordstrom, C.K., et al., 2003. El estudio de cohorte Troms de 3.128 adultos de mediana edad mostró que un mayor nivel de AF se asoció con un menor GIM (Stensland-Bugge, E., et al, 2000). Tomados en conjunto, estos resultados muestran que la literatura que examina la relación específica entre AF y GIM no es concluyente. Los autores de las dos revisiones sistemáticas señalaron que

posibles razones de las discrepancias en los resultados eran: el elevado número de estudios observacionales y pocos estudios de intervención, las diferencias de tamaño de las muestras, las herramientas de medición así como el protocolo para medir el GIM carotídeo (Kadoglou, N.P et al 2008; Ahmed, H.M., et al., 2012). Por lo tanto, la relación directa entre la AF y el GIM necesita de mayor investigación para determinar si los cambios en la AF pueden afectar a la progresión aterosclerótica.

#### **1.5.4. Asociación entre actividad física y GIM en niños y adolescentes**

Se han realizado pocos estudios que investiguen la asociación entre la AF y el GIM carotídeo en niños y adolescentes, y estos han sido predominantemente estudios de intervención para reducir el peso y mejorar los factores de riesgo CV en pequeñas muestras de individuos de alto riesgo.

Se han realizado estudios de intervención en niños y jóvenes con sobrepeso u obesidad, y en dos de estos estudios, los participantes también tenían el síndrome de ovario poliquístico o enfermedad del hígado graso no alcohólico. Estudios de intervención con tamaños de muestra de menos de 85 participantes mostraron que los programas de AF, que varió de 12 semanas a 1 año tuvieron un impacto beneficioso sobre el GIM, mediante la reducción de los valores medios entre 0.006 mm a 0.100 mm (Masquio, D.C., et al., 2012; Wunsch, R., et al, 2006; Poeta, L.S., et al., 2013; de Lima Sanches, P., et al, 2011; Woo, K.S., et al., 2004. Park, J.H., et al, 2012; Farpour-Lambert, N.J., et al., 2009. Meyer, A.A., et al., 2006; Maggio, A.B., et al, 2011).

En general, se han llevado a cabo pocos estudios de intervención y con muestras de pequeño tamaño para evaluar los cambios en el GIM en programas de ejercicio físico en los niños con sobrepeso y obesidad existiendo controversia en los resultados.

Se necesitan más estudios de este tipo con el fin de aclarar aún más la relación entre AF y GIM en muestras grandes de individuos libres de la enfermedad. Además, se demuestra

la importancia de la grasa y el ejercicio en esta relación. Esta tesis contribuye a este vacío en la literatura sobre AF y GIM en niños.

## 2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

---



- El incremento del GIM carotídeo se asocia con niños con sobrepeso y obesidad y es un parámetro de las manifestaciones tempranas de la aterosclerosis.
- La enfermedad grasa no alcohólica del hígado (NAFLD) se asocia con niños con sobrepeso y obesidad y es un parámetro de las manifestaciones tempranas de la aterosclerosis.
- La aplicación de un programa de ejercicio físico orientado a la mejora de la condición física y la salud, contribuirá a mejorar los valores antropométricos, bioquímicos, ecográficos y de condición física de aquellos niños con problemas de sobrepeso y obesidad.



## 3. OBJETIVOS

---



1. Establecer un protocolo de examen con US de la medida del GIM carotídeo que sea reproducible y seguro.
2. Verificar la reproducibilidad interobservador en la medida del GIM carotídeo mediante ecografía.
3. Describir el diseño y metodología utilizada en el Programa SALUD 5-10, programa de ejercicio físico diseñado con el objetivo de abordar el sobrepeso y obesidad en escolares de una franja de edad entre 5 a 10 años, mejorando su condición física y salud cardiovascular.
4. Evaluar el GIM mediante US en niños con sobrepeso y obesidad entre 5 y 10 años.
5. Evaluar la enfermedad grasa no alcohólica del hígado mediante US en niños con sobrepeso y obesidad entre 5 y 10 años.
6. Valorar la asociación entre el GIM y la enfermedad grasa no alcohólica del hígado en niños con sobrepeso y obesidad entre 5 y 10 años.
7. Verificar la reversibilidad del GIM y la disfunción endotelial después de la realización de un programa de ejercicio físico.
8. Verificar la reversibilidad de la enfermedad grasa no alcohólica del hígado después de la realización de un programa de ejercicio físico.

Esta tesis pretende seguir el “método científico”, sustentado en dos pilares fundamentales: el método hipotético deductivo experimental y la reproducibilidad.

De esta manera se pretende poner a prueba la fiabilidad de la técnica y establecer un método diagnóstico útil en la práctica clínica diaria.



## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

---



El presente estudio es parte del programa de salud “SALUD 5-10 “, programa de ejercicio físico diseñado con el objetivo de abordar el sobrepeso y obesidad en escolares de una franja de edad entre 5 a 10 años, mejorando su condición física y salud cardiovascular.

#### **4.1 Diseño del Programa SALUD 5-10 y organización**

El inicio de la investigación tuvo lugar a principios del año 2013, tras formarse el grupo de trabajo “Programa Salud 5-10” liderado por el Servicio de Radiodiagnóstico y el Servicio de Endocrinología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de la Región de Murcia. Desde esa fecha y tras incorporarse representantes del Ayuntamiento de Molina de Segura, del Hospital de Molina de Segura, de la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Murcia y de la Fundación para el Fomento y la Investigación Sanitaria de la Región de Murcia, se realizaron diversas reuniones en las que se fueron perfilando las características de la investigación.

##### *Diseño del trabajo de investigación y participantes del estudio*

Se diseñó un ensayo de campo con asignación aleatoria al grupo de intervención (GI) en el que se realiza el Programa SALUD 5-10 durante el curso académico 2013/2014, o al grupo control (GC).

A través de una campaña de captación se invitó a participar al programa a todos los niños de Molina de Segura, con edades comprendidas entre 5 y 10 años. La población diana estaba formada por 3.272 escolares distribuidos en 15 colegios (Figura 5). La elección de esta franja de edad se estableció teniendo en cuenta la recomendación de la OMS, ya que es la que precede a la pubertad, de manera que a la hora de poder hacer comparaciones entre estudios se reducen las posibles diferencias atribuibles a la edad de aparición de la pubertad (Estudio ALADINO, 2013). Además, teniendo en cuenta los datos de prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población infantil, cuanto antes se ataje, mayores serán los ahorros derivados de las medidas que se tomen y también el impacto en la calidad de vida. La obesidad infantil es

la mejor herramienta para predecir la obesidad en la edad adulta, y por ello es necesario dar solución al problema desde las primeras etapas (Fundación IDEAS, 2011).

La campaña de captación se realizó durante los meses de Julio y Septiembre (Tabla 2). Durante el mes de Julio de 2013 se realizaron diversas reuniones en los centros de atención primaria de Molina de Segura, para informar y sensibilizar tanto a los pediatras como a los médicos de atención primaria. Durante el mes de Septiembre de 2013 el equipo de investigación se trasladó a los centros educativos y se realizaron 10 reuniones en los diferentes centros. El objetivo de estas reuniones fue informar a los padres de la situación actual y las consecuencias de la obesidad infantil, así como del propósito del equipo de investigación con el diseño y puesta en marcha del Programa SALUD 5-10. Para optimizar la campaña de captación se utilizaron diversas estrategias que intentaron facilitar las inscripciones: 1) Se colocaron carteles y folletos informativos en los centros educativos, centros de salud, en las Concejalía de Sanidad y Educación del Ayuntamiento de Molina de Segura y en las farmacias; 2) Junto a las hojas de inscripción para participar en el programa se colocaron urnas para poder depositar la solicitud (Figura 6); 3) Se introdujeron cuñas publicitarias en los medios de comunicación locales.

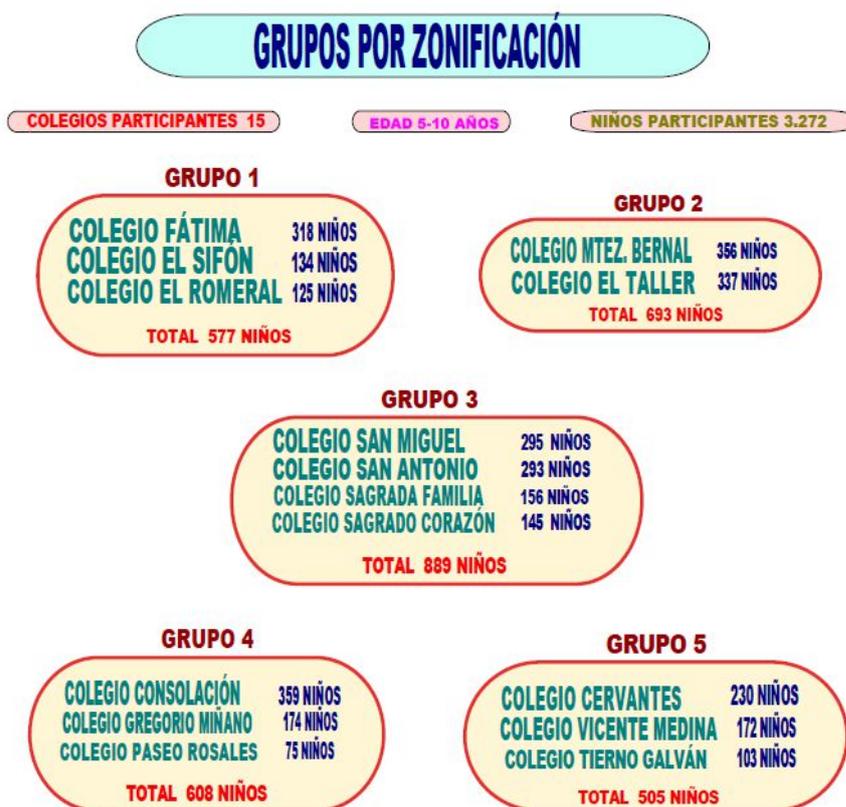


Figura 5. Población diana del Municipio de Molina de Segura ( $n=3.272$  escolares) clasificados por zonas

Objetivo de las reuniones	Fecha
Reuniones con los centros de salud	Julio 2013
Reunión con directores centros educativos	2-6 septiembre
Reuniones con los padres en septiembre	16-30 de septiembre
Inicio plazo de inscripción	16 septiembre
Fin del plazo de inscripción	30 septiembre

Tabla 2. Cronograma de las reuniones que se realizaron para la captación de la muestra.



*Figura 6. Urnas acompañadas de información en los centros de salud del municipio y en las farmacias.*

#### **4.2. Tamaño muestral**

Tras la campaña de captación se presentaron en la Concejalía de Sanidad 750 solicitudes, de las cuales 98 presentaron algún error de cumplimentación, por lo que quedaron 652 casos válidos. De los 652 casos válidos, 302 casos fueron eliminados por presentar un IMC dentro de las categorías de normopeso y bajo peso o delgadez, y 47 por presentar enfermedades crónicas, quedando por tanto 303 casos que cumplían los criterios de inclusión.

El tamaño de la muestra final estuvo condicionado por las pruebas ecográficas. Se realizó un pilotaje para estudiar la prevalencia de esteatosis hepática no alcohólica mediante ecografía en 10 niños (5 obesos y 5 con sobrepeso), que fue de 35%. Esta es similar a la prevalencia de esteatosis hepática no alcohólica en niños obesos de 30 a 40%. Con el Programa Salud 5-10, tras la intervención de actividad física, se esperaba reducir los niveles de esteatosis hepática al 6%. Por tanto, se necesitarían 23 niños por grupo, y ajustando un 10% de pérdidas, se necesitarían 25 niños por grupo. Debido a la capacidad de reclutamiento y disponibilidad de los centros escolares para llevar a cabo el programa, se incrementó el grupo intervención hasta 125 niños, para conseguir más potencia en el estudio pre-post intervención. Los escolares del grupo de intervención fueron seleccionados de forma aleatoria y estratificada en cuatro grupos, siguiendo criterios de cercanía con relación al centro escolar donde se iba a realizar el

programa de ejercicio físico y volumen de alumnos de cada centro participante. La figura 7 muestra el diagrama de flujo del estudio. La distribución de la muestra inicial en función de la edad se muestra en la tabla 3. El grupo de intervención quedó formado por 123 escolares (62 niños y 61 niñas) y el grupo control por 25 escolares (15 niños y 10 niñas).

Los criterios de inclusión fueron:

- a) Niños entre 5 y 10 años con sobrepeso u obesidad;
- b) No presentar enfermedades o limitaciones físicas que le impidiesen realizar actividad física;
- c) No realizar ningún tipo de dieta, o estar bajo tratamiento médico que pudiese condicionar su evolución en el programa de intervención.

Los criterios de exclusión fueron:

- a) Presentar enfermedades crónicas;
- b) No asistir a alguna de las valoraciones;
- c) No firmar el consentimiento informado.

Edad	Total	Niño	Niña
5	13	8	5
6	29	13	16
7	16	8	8
8	24	11	13
9	45	24	21
10	21	13	8
<b>Total</b>	<b>148</b>	<b>77</b>	<b>71</b>

*Tabla 3. Distribución de la muestra inicial en función de la edad.*

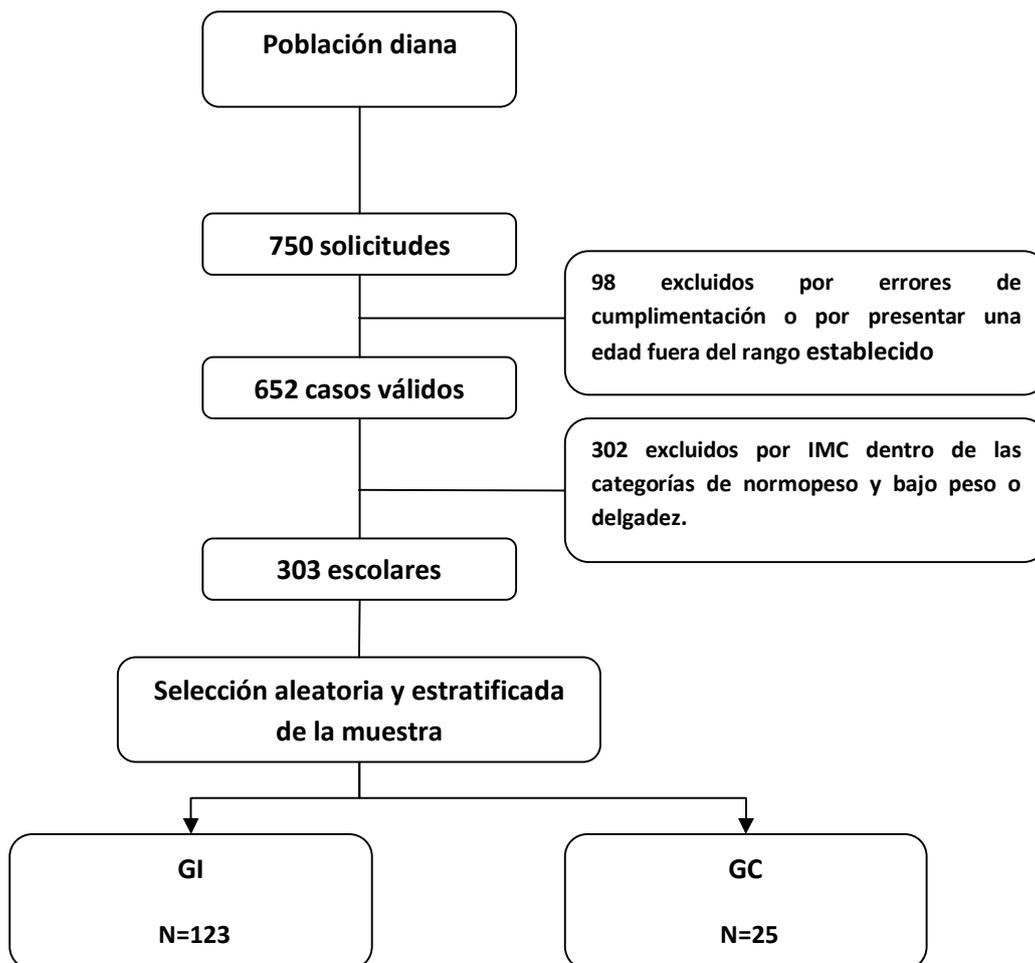


Figura 7. Diagrama de flujo de los participantes del programa. GC: Grupo Control; GI: Grupo Intervención.

### 4.3. Consideraciones éticas

El estudio se llevó a cabo siguiendo las normas deontológicas reconocidas en la Declaración de Helsinki (2000) y siguiendo las recomendaciones de Buena Práctica Clínica de la CEE (1990), así como la normativa española que regula la investigación clínica en humanos (RD 223/2004). Se informó, en detalle, a padres/tutores acerca del protocolo y objeto de estudio. La firma del consentimiento informado fue requisito indispensable para poder participar. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Humana de la Universidad de Murcia.

El contenido de las hojas de recogida de datos, así como los documentos generados durante todo el estudio, están protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a esta investigación, siendo la información generada estrictamente confidencial. A título informativo y de manera individual, a cada interesado se le facilitaron los principales resultados obtenidos, y en caso de detectar algún problema de salud, se informó a la familia.

#### **4.4. Procedimiento. Descripción del programa de intervención**

Una vez finalizado el proceso de selección de la muestra, se realizó la valoración inicial durante la primera quincena de octubre de 2013. El programa de intervención se desarrolló desde el mes de octubre hasta el mes de mayo de 2014. La valoración final se realizó la primera quincena de mayo de 2014.

La medición de las variables para evaluar la efectividad del Programa SALUD 5-10 se realizaron en ambos grupos. Los que realizaron las valoraciones desconocían la asignación de los participantes al GC o al GI.

El Programa SALUD 5-10 es un programa de ejercicio físico sobre la base de la mejora de la condición física de los escolares. El objetivo inmediato del programa es aumentar los niveles de actividad física semanal desarrollando los componentes de la condición física relacionados con la salud (resistencia aeróbica, fuerza muscular, velocidad-agilidad y flexibilidad). Las sesiones se desarrollaron atendiendo a las características de la muestra y se diseñaron en relación a las recomendaciones de actividad física y salud.

El grupo de intervención aumentó la cantidad de actividad física semanal en 3 horas, repartidas en 2 sesiones de 1 hora y 30 minutos en días alternativos (lunes y miércoles). En total se desarrollaron 68 sesiones. El programa se realizó en las instalaciones de los centros escolares en horario extraescolar. Por otro lado, el grupo control no cambió su rutina semanal.

Las sesiones se diseñaron para dar respuesta a 3 bloques de contenidos: 1) Un bloque donde se desarrollaban juegos y deportes; 2) Un segundo donde se desarrollaban los “objetivos” relacionados con la salud cardiovascular, la salud ósea y la salud de la espalda; 3) Un bloque denominado “Juego libre”, donde los escolares podían elegir las actividades, la distribución grupal y el material a utilizar. Además se llevó a cabo una organización de tareas y objetivos por temáticas, para trabajar con los escolares de un modo más motivante, acercándoles y afianzándoles hacia la práctica deportiva de una forma más lúdica.

De forma transversal, se utilizaron metodologías y estrategias didácticas para conseguir una intensidad de trabajo y compromiso motor elevado, intentando que el escolar acumulara el mayor número de minutos de intensidad de moderada a vigorosa.

#### *Plan actitudinal y de adherencia*

Para favorecer la adherencia al Programa SALUD 5-10, se organizaron tres fiestas, una al final de cada trimestre (Fiesta Salud 5-10 Navidad, Fiesta Salud 5-10 Semana Santa y Fiesta Salud 5-10 Final) con el objetivo de premiar a todos los escolares por su trabajo y asistencia al programa. Además, en todas las fiestas se les hizo un regalo para que durante los periodos vacacionales también realizaran actividad física. Así, en la fiesta de navidad se regaló a todos los participantes un balón de fútbol, en la fiesta de semana santa una comba y en la fiesta final, diferentes materiales que fomentaban la práctica deportiva.

También se organizó un concurso de dibujo para que los escolares plasmasen lo que el Programa SALUD 5-10 significaba para ellos.

#### *Evaluación y seguimiento*

Se puso un número de teléfono y una dirección de correo electrónico para que los padres realizaran consultas y resolviesen dudas. Los monitores del programa elaboraron un informe sobre la asistencia de los niños y, en su caso, de los motivos de abandono. Al final del programa de intervención se aplicó a los niños participantes un cuestionario sobre su satisfacción con el programa.

#### 4.5. Variables dependientes evaluadas pre y post intervención

Las mediciones basal y final se realizaron en las instalaciones de cada colegio. Los principales parámetros de salud medidos pre y post intervención fueron: indicadores antropométricos y de composición corporal, principales componentes de la condición física, análisis bioquímico (perfil lipídico-metabólico), tensión arterial y características ecográficas a nivel vascular (GIM carotídeo) y hepático (signos de enfermedad hepática grasa no alcohólica).

1) *Antropometría y composición corporal.* Para valorar los índices de obesidad y sobrepeso se valora el peso, la talla, el perímetro de cintura, el IMC y el IMC-z score. El IMC puede ser expresado en forma de z score para establecer comparaciones entre niños de diferentes edades y géneros. Su fórmula es: medición individual de IMC – mediana IMC según edad y género / desviación estándar según edad y género. El IMC z score se calculó utilizando la aplicación WHO AnthroPlus software. El estado nutricional se clasificó de la siguiente manera: sobrepeso (IMC z -score > 1 a 2) y obesidad (IMC z -score > 2) según la OMS.

El perímetro de la cintura, se mide para evaluar la grasa corporal abdominal, troncal o central. Del mismo modo a mayor perímetro más posibilidades se tienen de desarrollar un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. Además, se valora el porcentaje de grasa corporal mediante impedanciometría. La impedanciometría se basa en que los diferentes componentes del organismo tienen una resistencia distinta al paso de una corriente alterna. Siendo capaz de obtener el porcentaje de los diferentes componentes de forma directa o indirecta (masa grasa, masa magra y agua corporal).

2) *Condición física.* Para valorar la condición física de los participantes, se utilizaron 4 pruebas de la batería de test ALPHA- FITNESS.

- Test de Course-Navette o test de 20 metros de ida y vuelta, para mediar la capacidad aeróbica de los participantes.

- Test de fuerza de prensión manual, para medir la capacidad músculo-esquelética, valorando la fuerza isométrica del tren superior.

- Test de salto de longitud con pies juntos para evaluar la capacidad músculo-esquelética, mediante la valoración de la fuerza explosiva del tren inferior

- Test de velocidad/agilidad 4 x 10 m como indicador integrado de la velocidad de movimiento, la agilidad y la coordinación del sujeto. Todos los test se repitieron dos veces, y se registró el mejor resultado, excepto en el test de Course-Navette, que se realizó solo una vez.

3) *Análisis bioquímico.* Las muestras sanguíneas fueron recogidas por personal sanitario especializado a primera hora de la mañana y con el sujeto en ayunas. En el Hospital de Molina de Segura, y mediante métodos estándar de laboratorio clínico hospitalario, se determinaron los siguientes parámetros: Hemograma, Perfil lipídico, TG, Colesterol total, HDL-col, LDL-Col, Enzimas hepáticas (GOT, GPT, GGT), Glucemia e Insulina basal.

4) *Tensión arterial.* Se determinó con un tensiómetro modelo OMRON 907 (HEM-907-E) con el niño sentado en posición cómoda y tras 6 minutos de reposo absoluto. Se midió el brazo izquierdo durante un periodo de entre 10 y 16 minutos con un intervalo de 2 minutos entre cada medida hasta que la variación de la tensión arterial sistólica fuera menor de 5 mmHg entre una medida y la siguiente. Se registró la media de las tres últimas mediciones como medida válida de tensión arterial sistólica y diastólica.

5) *Evaluación ecográfica del grosor íntima-media carotídeo (GIM) y de la ecogenicidad hepática.* En los diferentes centros educativos fueron llevados a cabo los estudios ecográficos por seis radiólogos del servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, con experiencia en ecografía entre cuatro y diez años, de forma consensuada, usando un ecógrafo Acuson S2000 (Siemens, Germany), con sonda lineal de 14-4 MHz para la medición del GIM, y con sonda convex de 1-4 MHz para la evaluación de la EH.

Para el estudio del GIM, los pacientes se examinaron en decúbito supino con el cuello en hiperextensión y rotación de 45° hacia el lado contrario del lado explorado. Se obtuvo una imagen longitudinal óptima de la arteria carótida común derecha (ACCD) en escala de grises, modo B y aplicando el modo armónico, con el transductor paralelo a la pared arterial. La medición se realizó en la pared posterior del vaso a un 1 cm aproximado de distancia prebifurcación, incluyendo la capa íntima (línea ecogénica) y la media (línea ecogénica) (Figura 8 y 9). Se tomaron tres mediciones en el segmento de la carótida común derecha seleccionado y se escogió la mayor de ellas (F. Velázquez et al, 2008).

En cuanto a la optimización de la calidad de la imagen se tuvo en cuenta los siguientes aspectos técnicos para lograr una visión adecuada de la pared del vaso:

- a) Haz de ultrasonidos perpendicular al vaso sanguíneo.
- b) Foco ajustado en el área de interés (pared posterior del vaso sanguíneo).
- c) Ganancia ajustada en el nivel más bajo posible para evitar artefactos en la luz del vaso.
- d) Aumento (x2) de la imagen para discriminar mejor la pared del vaso.

La esteatosis fue subjetivamente clasificada acorde al incremento de la ecogenicidad en el parénquima hepático en comparación con la ecogenicidad de la cortical del riñón derecho y la menor visualización del diafragma y los vasos hepáticos, gradándola en normal-grado 0 (ecogenicidad del parénquima normal), leve- grado 1 (mínimo aumento difuso de la ecogenicidad hepática, con visualización normal del diafragma y del borde de los vasos intrahepáticos), moderada- grado 2 (aumento difuso moderado de la ecogenicidad hepática, con ligera pérdida de la visualización de los vasos intrahepáticos y del diafragma) (Figura 10) y severa-grado 3 (aumento acentuado de la ecogenicidad, con mala penetración del segmento posterior del lóbulo derecho y mala visualización o ninguna de los vasos hepáticos y diafragma).

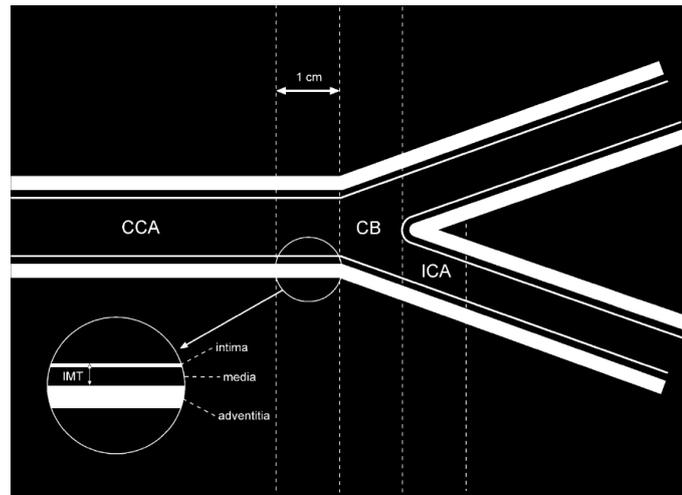


Figura 8. La ilustración muestra los segmentos carotídeos para la medida del GIM. CCA: common carotid artery; CB: carotid bifurcation; ICA: internal carotid artery.

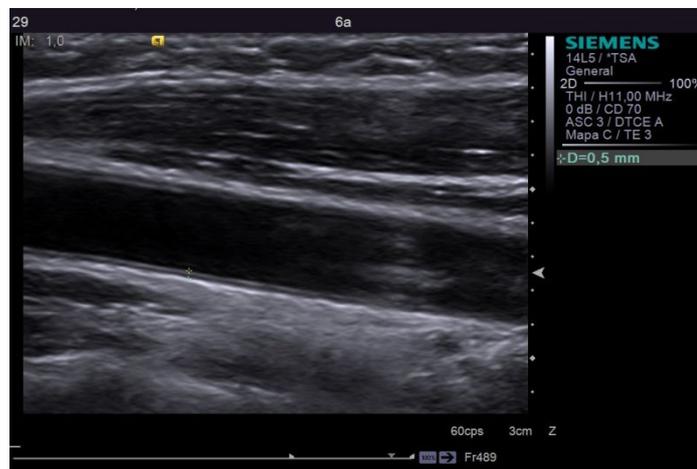


Figura 9. Imagen ecográfica de la arteria carótida común, con GIM de 0,5 mm.



Figura 10. Imagen ecográfica de un hígado con esteatosis hepática moderada.

#### 4.6. Análisis estadístico

Toda la información obtenida de las diferentes pruebas, es almacenada en una base de datos, para su posterior tratamiento estadístico por medio del programa informático SPSS 19.0.

En primer lugar se realiza una estadística descriptiva de cada una de las variables con la obtención de la distribución de frecuencias y, en las variables cuantitativas se calcularán los parámetros característicos: media, desviación típica e intervalo de confianza del 95%.

El estudio de las evoluciones intragrupo se efectúa mediante pruebas t-student para datos apareados, mientras que los contrastes intergrupo serán realizados mediante análisis de varianza de las diferencias en los incrementos de las medias para grupos control y experimental. En el caso de que exista significación, se utilizarán pruebas "post-hoc" para comparar los datos de manera pareada. Para el estudio de las relaciones entre las variables continuas se realizó un análisis de correlación, tanto para estudiar las asociaciones lineales (Pearson) como no lineales (Spearman).

El nivel de significación estadística será establecido en  $p < 0,05$ .



## 5. RESULTADOS

---



### 5.1. Características antropométricas y clínicas previas a la intervención

Las principales características antropométricas y clínicas de los sujetos incluidos en el análisis se presentan en la Tabla 4. De los 148 niños participantes, 95 (64,2%) eran obesos y 53 (35%) tenían sobrepeso. La obesidad y los grupos con sobrepeso no mostraron diferencias significativas en cuanto a edad, sexo, peso, altura, GVM, TAD, TAS, GLU, GOT, GPT, HDL, LDL, mientras que si se observaron diferencias significativas en términos de IMC, IMC z-score, PC, Grasa, Insulina, GGT, COL y TG.

Variable	Todos	Sobrepeso	Obesidad	P
Numero	148	53	95	0.436
Edad (años)	8.02±1.64	8.17 ±1.66	7.95 ± 1.54	0.126
Genero (M/F)	77M/71F	23M/30F	54M/51F	0.961
Altura (cm)	133±10.40	132.94±10.32	133.03± 10.49	0.001
Peso (kg)	39.65± 9.77	34.89±7.31	42.32±9.99	0.001
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22.11±3,10	19.55±1.60	23.54±2.80	0.001
IMCz-score	2.45±0.98	1.55±0.25	2.96±0.86	0.001
PC (cm)	75.61±9.34	69.64±6.50	78.98±9.02	0.066
Grasa	30,31±6,30	25.710±3.9670	32.887±5.9063	0.001
GVM	23,03±3,27	23.188±4.1614	22.942±2.6814	0.699
TA s (mmHg)	107.20±10.02	105.31 ± 8.02	108 ± 10.86	0.604
TA d (mmHg)	69.03±8.53	68.54±8.59	69.31±8.53	0.385
GLU (mg/dl)	85.85±5,95	84.91±6,286	86.38±5,730	0.150
Insulina (mg/dl)	8.67±7,81	5.987±2.4654	10.179±9.2605	0.001
CHOL (mg/dl)	153.95± 27.41	151.32±26.87	155.42±27.74	0.002
TG (mg/dl)	101±58.79	83.47±3837	110.78±65.73	0.041
HDL (mg/dl)	50.52±12.06	53.23±11.48	49.01±12.17	0.293
LDL (mg/dl)	84.29 ± 22.99	81.62±22.90	85.78±23.03	0.123
GOT (U/L)	33.06±8.90	31.55±7.36	33.91±9.58	0.169
GPT (U/L)	31.80±13.20	29.79±12.66	32.92±13.43	0.162
GGT (U/L)	16.07±5.25	14.58±4.70	16.89±5.38	0.010

*Los valores se expresan como media±desviación típica(rango).*

*Tabla 4. Características antropométricas y clínicas de los sujetos del estudio*

## 5.2. GIM y NAFLD previas a la intervención

Se demuestra un aumento de la media (0,48) y la mediana (0,50) del GIM en el 64,5 % de los niños con sobrepeso y obesidad. (GIM Normal < 0,42).

El valor del GIM fue de  $0,49 \pm 0,07$  en los niños con sobrepeso,  $0,475 \pm 0,07$  en los niños con obesidad y  $0,48 \pm 0,07$  en los niños obesos / con sobrepeso en general, sin diferencias significativas observadas entre los grupos.

El valor del GIM fue de  $0,47 \pm 0,06$  en las niñas y ligeramente superior ( $0,48 \pm 0,08$ ) en los niños. Se encontraron correlaciones significativas entre el GIM y la altura ( $r = 0,181$ ;  $p = 0,028$ ), CHOL ( $r = -0,214$ ,  $p = 0,009$ ) y el LDL ( $r = -0,223$ ,  $p = 0,006$ ).

Del número total de niños ( $n = 148$ ) no detectamos NAFLD en 98 (66,2%). Pero se observó NAFLD en 50 (33,8%) con un GIM  $0,49 \pm 0,07$ .

La distribución de la EH era de grado 0 en 98 (66,2%), grado 1 en 45 (30,4%), grado 2 en 4 (2,7%) y grado 3 en 1 (0,7%). La Tabla 5 muestra la relación entre el GIM y los grados de EH, sin diferencias significativas observadas. Sin embargo, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el GIM y la EH ( $p = 0,026$ ) cuando los grados de EH fueron divididos en dos grupos: 0-1 (143 niños [96,6%];  $0,47 \pm 0,07$  IMT); y 2-3 (5 niños [3,4%]; IMT  $0,56 \pm 0,05$ ).

EH grados	IMT
0	$0.47 \pm 0.07$
1	$0.48 \pm 0.07$
2-3	$0.55 \pm 0.05$

Tabla 5. Relación entre los grados de esteatosis y el IMT

### 5.3. Características antropométricas y clínicas post-intervención

El % de grasa disminuyó de manera significativa tanto en niños como en niñas en el grupo de intervención. Esto no ha sido así en el grupo control.

Se ha producido una mejora significativa en los IMC de los niños. Así según la clasificación de la OMS, 11 niños han dejado de ser obesos, pasando a tener sobrepeso y 5 niños han pasado de tener sobrepeso a tener normopeso. Tabla 6 y Tabla 7.

	Grupo Intervención	Octubre 2013	Mayo 2014	Grupo Control	Octubre 2013	Mayo 2014
<b>IMC</b>	Niño	22.3±3.3	22.2±3.3	Niño	21.4±2	21.3±2
	Niña	22.08±3.06	22.4±4	Niña	20.1±2	20.4±2
<b>% GRASA</b>	Niño	29.4±27.6*	27.6±6.8*	Niño	26.2±5	25.5±5
	Niña	32±5.4*	31.3±3.6*	Niña	28.5±3	27.1±4

\*Diferencias significativas para un nivel  $\alpha < 0.05$

Tabla 6. IMC y % grasa

Clasificación OMS	Octubre 2013	Mayo 2014
<b>Normopeso</b>	0 (0%)	5 (4.4%)
<b>Sobrepeso</b>	30 (26.6%)	36 (31.9%)
<b>Obesidad</b>	83 (73.5%)	72 (63.7%)

Sig. McNemar  $P < 0.056$

Tabla 7. Normopeso, sobrepeso y obesidad

### 5.4. GIM y NAFLD post-intervención

Se demuestra una disminución del GIM de  $0,475 \pm 0,07$  en Octubre 2013 a  $0,372 \pm 0,02635$   $p < 0,0001$  en Mayo 2014.

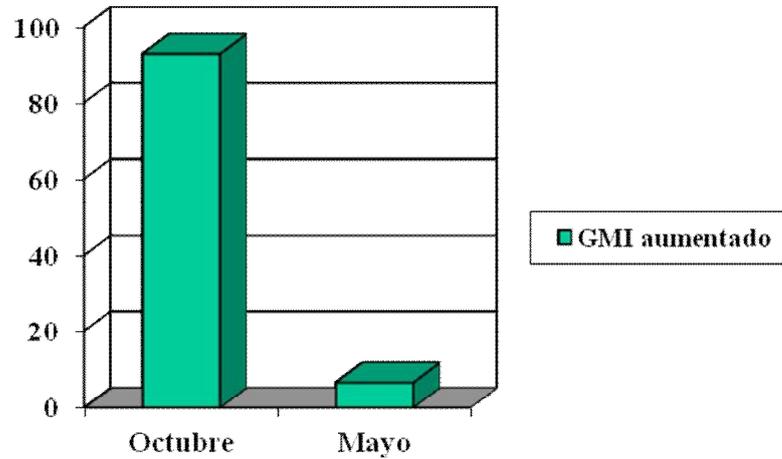


Gráfico 1. GIM de octubre a mayo

Tras el ejercicio el 93,4 % normaliza el GIM.

En Octubre, el 63 % de los niños tenían el GIM alterado y el 37 % tenía el GIM normal.

En Mayo, el 33 % de niños tenía el GIM alterado y el 67% tenía el GIM normal.

	Octubre	Mayo
GIM Máx	0.475±0.07	0.372±0.0635

Sig. T-Student p<0.0001

Tabla 8. GIM Máx

Tras el ejercicio el 84% de los niños normalizaron su ecogenicidad hepática.

En Octubre: 65.5% de niños con ecogenicidad normal y 33.8% de ecogenicidad alterada.

En Mayo: 87.8% de niños con ecogenicidad normal, 5.4% de ecogenicidad alterada y 6.8 % niños que no completaron el estudio.

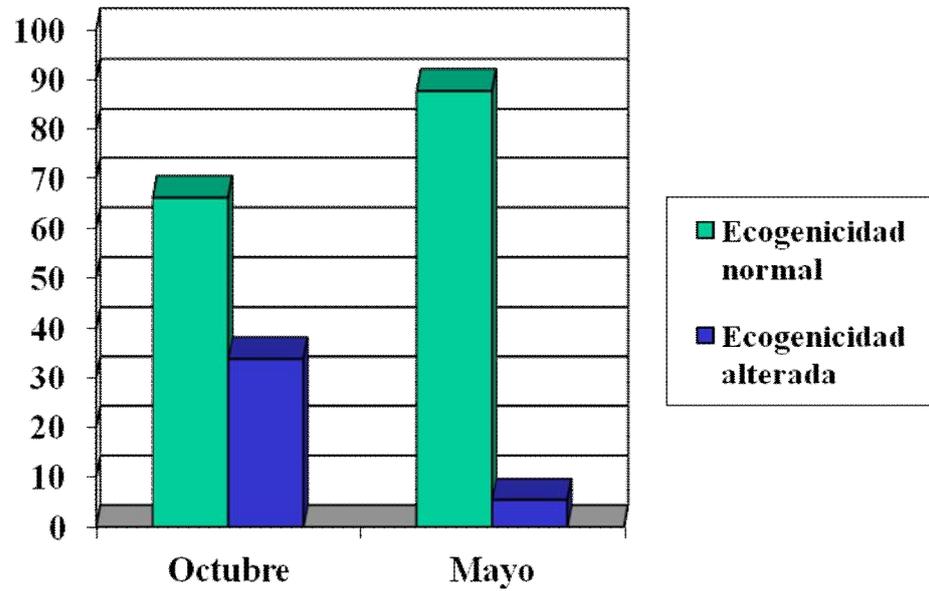


Gráfico 2. Variación de la ecogenicidad de octubre a mayo



## 6. DISCUSIÓN

---



La aterosclerosis es una enfermedad generalizada de la pared arterial, que puede progresar o regresar según algunos factores determinados. Este proceso dinámico se caracteriza por una remodelación de la pared arterial que puede pasar inadvertida durante toda la vida o presentarse como una enfermedad vascular aguda. Los primeros signos de aterosclerosis incluyen las estrías lipídicas, que se desarrollan no sólo desde los primeros años de vida, sino incluso en la época fetal, tal como se ha comprobado en hijos de madres con hipercolesterolemia. La progresión de las estrías lipídicas es mayor si hay factores de riesgo como hiperlipidemia, hipertensión, hábito tabáquico, obesidad y diabetes mellitus. La detección precoz de la lesión arterial y la eliminación de los factores de riesgo permiten identificar la progresión de la lesión e incluso revertirla. Las mejoras en la tecnología de imagen han permitido identificar los cambios vasculares precoces por medio de la ultrasonografía. Estos cambios incluyen el ensanchamiento de la pared arterial, la rigidez arterial y la disminución de la función vasodilatadora arterial. Algunos estudios realizados en adultos han demostrado que la medida del grosor del complejo íntima-media de la carótida representa un marcador excelente de aterosclerosis subclínica. Los niños afectados de sobrepeso y obesidad son un grupo con un riesgo importante de depósito de lípidos en la pared arterial. La medición del GIM puede ser un parámetro útil para valorar la detección precoz y progresión de la aterosclerosis en sujetos con sobrepeso y obesidad.

### **6.1. Protocolo de examen de la medida del GIM carotídeo mediante ultrasonidos**

La valoración ecográfica del GIM carotídeo es una técnica ampliamente utilizada para valorar cambios tempranos de la aterosclerosis, ya que es una técnica rápida y no invasiva.

Un aumento en el grosor del GIM se correlaciona con enfermedad cardiovascular y cerebrovascular (O'Leary DH et al, 1991; Potter K et al, 2007).

Muchos estudios epidemiológicos y ensayos clínicos han demostrado que el GIM juega un papel importante en el control, progresión, estabilización y la regresión de la aterosclerosis (Blankenhorn DH et al, 1993; Crouse JR 3rd et al, 2007). La progresión anual del GIM se estima en 0,01 a 0,02 mm (Crouse JR 3rd et al, 1995;/Salonen R et al, 1990;/

Salonen JT et al, 1993). Así mismo, una progresión o regresión de la aterosclerosis tratada farmacológicamente puede ser evaluada a través de cambios en el GIM (Bots ML et al, 2003).

Un tema controvertido es la variedad de protocolos de medida ecográfica para determinar los valores del GIM, que hacen tanto la interpretación como la comparación de resultados difícil. Hay varias maneras de obtener una medición del GIM carotídeo, que puede incluir uno, dos, o tres segmentos carotídeos: carótida común, bifurcación carótida y carótida interna. Además, podría medirse sólo la pared posterior o ambas paredes de uno o varios segmentos de la carótida (Simon A et al, 2002). En algunos estudios (Baldassarre D et al, 1994;/Csanyi A et al, 1996; Mukherjee D et al, 2002) la medición del GIM se hizo en la arteria carótida común, mientras que en otros (O'Leary DH et al, 1991, 6, Crouse JR 3rd et al, 1995; Bots ML et al, 1997) las mediciones se tomaron en diversos segmentos carotídeos. También hay estudios que toman mediciones tanto en el lado derecho como en el izquierdo, mientras que otros sólo utilizan la arteria carótida derecha.

La medición del GIM generalmente se realiza en la arteria carótida común porque su reproducibilidad es mayor que en la bifurcación o arteria carótida interna (O'Leary DH et al, 1991; Crouse JR 3rd et al, 1995). La visualización de la pared posterior es también mejor que la anterior. Sin embargo, todavía existe controversia en cuanto a si la valoración combinada del GIM en los tres segmentos de la carótida es más eficiente para evaluar el riesgo de enfermedad cardiovascular y accidente cerebrovascular que la valoración única de la ACC.

La medición del GIM en nuestro estudio (F. Velázquez et al, 2008) se tomó sobre la pared posterior de un segmento de la arteria carótida común (aproximadamente 1 cm prebifurcación) y en todos los casos fue realizado de manera satisfactoria.

Un valor del GIM de 1 mm, en adultos, por lo general se considera anormal (Bots ML et al, 1997, Ebrahim S et al, 1999; O'Leary DH et al, 2008, Salonen JT et al, 1993), aunque hay autores que proponer un valor del GIM de 0,8 mm (de Groot E et al, 2004).

Varios factores contribuyen a la fiabilidad de la medición, entre los que destacan los equipos ecográficos, la experiencia del observador, el ángulo del haz de US, el sitio y el método de medición, la calidad de la imagen y las características anatómicas de los sujetos (arterias tortuosas o la presencia de placas) (Mukherjee D et al, 2002)

Actualmente se emplea la ecografía en modo B para evaluar el GIM carotídeo. Sin embargo, un estudio (Willinek WA et al; 2000) informa que la ecografía en modo armónico (THI) es mejor que la ecografía convencional para la evaluación del GIM en la ACC. Este estudio se realizó en voluntarios sanos y el GIM fue valorado por radiólogos con experiencia en ecografía. Se tomaron tres mediciones del GIM en la pared posterior de la ACC y se obtuvo diferencia significativa entre los resultados obtenidos por THI y los obtenidos por imagen ecográfica convencional ( $P < 0.0001$ ); la variabilidad interobservador de las mediciones del GIM era significativamente reducida, de 8,1% a 5,2% ( $p < 0,001$ ).

Los resultados de nuestro estudio (F. Velázquez et al, 2008) concluyeron que la medición del GIM utilizando la ecografía en modo armónico es una técnica precisa y reproducible, utilizando un protocolo estandarizado. De hecho, no se observaron diferencias significativas entre un radiólogo con experiencia y un residente con poca experiencia en radiología. Por lo tanto, la precisión de las mediciones se pueden mejorar utilizando un método bien sistematizado y la elección de un sitio de medición adecuado.

En la práctica clínica, se utilizan diferentes métodos de medición para obtener el valor del GIM: algunos utilizan múltiples mediciones en varios sitios, otros una sola medición en varios sitios para estimar una media (O'Leary DH et al, 1991), mientras que otros toman tanto la media como la máxima de las medidas del GIM (Baldassarre D et al, 2000; Crouse JR 3rd, et al, 2007). Se debe tener en cuenta que los protocolos que incluyen la medición en distintos segmentos, ya sea en una o en ambas carótidas son complejos y suponen una considerable cantidad de tiempo. Los métodos automáticos (Bots ML et al, 2003) se han introducido para mejorar la precisión de las mediciones. Sin embargo, un mayor número de mediciones con los sistemas automáticos no mejoraron la reproducibilidad (Potter K et al, 2007).

Nuestro estudio (F. Velázquez et al) utilizó el valor máximo del GIM en un solo sitio (la pared posterior de la arteria carótida común derecha) y el procedimiento se realizó manualmente en unos pocos minutos. En conclusión, describimos un método preciso para medir el GIM utilizando un protocolo estandarizado con ecografía con modo armónico, obteniendo una calidad de imagen óptima. Verificamos la reproducibilidad, precisión o fiabilidad interobservador de la técnica ecográfica en la valoración del GIM, obteniendo un coeficiente de correlación intraclase de 0,97.

## **6.2. GIM y NAFLD en niños con sobrepeso y obesidad**

La obesidad infantil es un problema importante de salud pública en todos los países del mundo industrializado. La prevalencia de la obesidad infantil ha aumentado en muy pocos años (C.B. Ebbeling et al, 2002; S. Karnik S et al, 2012).

La obesidad infantil aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular en el adulto. El origen de la aterosclerosis en la infancia está ampliamente aceptado. Los estudios sobre los factores de riesgo cardiovascular en la infancia proporcionan evidencia de que los marcadores subclínicos de aterosclerosis en la niñez son predictores de aterosclerosis en la edad adulta (T. Reinehr and R. Wunsch, 2011). El grosor íntima-media carotídeo es una medida de la aterosclerosis subclínica y predictor de futuros eventos cardiovasculares. La medición del GIM carotídeo es un marcador no invasivo ampliamente aceptado de la aterosclerosis subclínica.

La esteatosis hepática o enfermedad grasa no alcohólica del hígado, ha surgido recientemente como la principal causa de enfermedad hepática crónica en niños. Se ha demostrado que la obesidad está asociada con un aumento de hígado graso no alcohólico entre los niños y adolescentes. Por otra parte, el hígado graso no alcohólico es un buen indicador del riesgo de aterosclerosis subclínica en niños y adolescentes obesos y de futuros eventos cardiovasculares adversos (J. Ampuero et al, 2015; S. Berardis and E. Sokal, 2014).

La prevalencia de NAFLD en la infancia se ha duplicado en 20 años. El 11% de los adolescentes tiene NAFLD (USA) y el 50% de los niños obesos (USA)

Se ha demostrado que los niños con esteatosis hepática tienen mayor incidencia de RI y mas alteraciones metabólicas. Así mismo, es conocido que la NAFLD pediátrica evoluciona y se complica más rápido que en la edad adulta

Hay muy pocos estudios publicados que hayan evaluado la asociación entre el GIM carotídeo y la NAFLD en niños.

En nuestro estudio, se demuestra un aumento de la media (0,48) y la mediana (0,50) del GIM en el 64,5 % de los niños con sobrepeso y obesidad. (GIM Normal < 0,42).

El valor del GIM fue de  $0,49 \pm 0,07$  en los niños con sobrepeso,  $0,475 \pm 0,07$  en los niños con obesidad y  $0,48 \pm 0,07$  en los niños obesos / con sobrepeso en general, sin diferencias significativas observadas entre los grupos.

El valor del GIM fue de  $0,47 \pm 0,06$  en las niñas y ligeramente superior ( $0,48 \pm 0,08$ ) en los niños. Se encontraron correlaciones significativas entre el GIM y la altura ( $r = 0,181$ ;  $p = 0,028$ ), el colesterol ( $r = -0,214$ ,  $p = 0,009$ ) y el LDL ( $r = -0,223$ ,  $p = 0,006$ ).

Del número total de niños ( $n = 148$ ) no detectamos NAFLD en 98 (66,2%). Pero se observó NAFLD en 50 (33,8%) con un GIM  $0,49 \pm 0,07$ .

Nuestro estudio demuestra una relación entre el GIM y la enfermedad grasa no alcohólica del hígado (NAFLD) en los niños con sobrepeso y obesidad cuando los grados de EH se agrupan en grado 0-1 (normal-leve) y grado 2-3 (moderada-severa).

Hasta el momento, hay muy pocos estudios publicados sobre la asociación entre el GIM y la NAFLD valoradas por ecografía en niños (L. Pacifico et al, 2008; F. Demircioğlu, et al, 2008).

Sin embargo, un estudio (M. Manco et al, 2010) informó que no existía asociación entre el GIM y la NAFLD en niños y adolescentes. Por lo tanto, hay informes controvertidos respecto a la asociación entre la enfermedad grasa no alcohólica y el GIM.

El GIM es un marcador bien conocido de aterosclerosis subclínica y un marcador temprano de futuros eventos cardiovasculares (M.W. Lorenz et al, 2007; M. Juonala et al, 2011. C.M. Toledo-Corral et al, 2011). Sin embargo, no existe una definición estándar de valores de GIM en los niños. Sobre la base de las mediciones del GIM en niños sanos publicados en diversos estudios (G. Anibal Espinoza et al, 2011; A. de Arriba Muñoz et al, 2013; A. Koçyiğit et al, 2014) un valor "normal" del GIM podría considerarse como  $<0,42$  mm para niños de  $<11$  años. En el presente estudio el valor del GIM de todos los niños fue de  $0,47 \pm 0,7$ , ligeramente mayor en los niños con sobrepeso que en los niños obesos. Esto puede explicarse por el hecho de que los niños con sobrepeso son más mayores que los niños obesos ( $8,17 \pm 1,66$  años frente a  $7,95 \pm 1,54$  años). Ya que el GIM, aumenta progresivamente con la edad (M. Juonala, J.S. et al, 2010; D.S. Freedman, D.A. et al, 2008).

Este estudio muestra que los niños obesos y con sobrepeso tienen un GIM superior a la considerada normal. Nuestro estudio también muestra que el GIM se correlaciona positivamente con el colesterol y el LDL.

La NAFLD está aumentando a un ritmo alarmante en los niños obesos. La prevalencia de hígado graso no alcohólico valorado por ecografía se estima en un 20% a 40% en los niños obesos (R. Loomba et al, 2009; G. Guzzaloni et al, 2000; A. Sartorio et al, 2007).

En nuestro estudio la prevalencia de hígado graso no alcohólico detectado ecográficamente era de 33.8%. Los niños obesos con NAFLD tienen un (H. Alp, S. Karaarslan, et al, 2013; L Akin et al, 2013) marcado aumento del GIM y un riesgo aumentado de cambios tempranos por aterosclerosis.

En el presente estudio observamos que el aumento del GIM se relaciona con el grado de EH y que la asociación entre el GIM y la NAFLD está estrechamente vinculada a la gravedad de la EH.

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que el GIM de la carótida común medido por ecografía se relaciona con los factores de riesgo cardiovascular clásicos. El estudio ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) (Chambless LE et al, 1987-1993), un estudio de seguimiento de una gran cohorte poblacional en Estados Unidos con 12.841 sujetos con edades comprendidas entre los 45 y 64 años, confirmó que los factores de riesgo clásicos y un simple parámetro de inflamación (el recuento de leucocitos) se relacionaban con la progresión del GIM carotídeo. Esto se comprobó de nuevo en otros dos grandes estudios poblacionales, el Cardiovascular Health Study (CHS) (O'Leary DH et al, 1999) y el estudio de Rotterdam (Van der Meer I et al, 2004) con más de 5.000 sujetos, con edades superiores a los 65 y 55 años, respectivamente. En ambos estudios, el GIM se correlacionaba con los factores clásicos de riesgo cardiovascular, con la presencia de diabetes en el CHS y con el índice de masa corporal en el estudio de Rotterdam. Otro gran estudio que confirmó la correlación del GIM con el índice de masa corporal aparte de los factores clásicos fue el Tromso Heart Study (Stensland-Bugge E et al, 2001) (6408 hombres entre los 25 y 84 años).

Finalmente, el estudio Kuopio Ischemic Heart Disease (KIHD) (Salonen R et al, 1993) con 1.224 hombres entre los 42 y 60 años, asoció el GIM con la presencia de diabetes, la concentración de cobre en plasma y factores sociales, como la educación o el poder adquisitivo, además de los factores clásicos de riesgo cardiovascular. En cambio, en el British Regional Heart Study (Ebrahim S et al, 1999) con 800 sujetos entre los 56 y 77 años, los factores sociales y el estilo de vida no se relacionaban con el GIM de la carótida común, pero sí con los factores típicos de riesgo cardiovascular.

La correlación del GIM con los factores de riesgo cardiovascular clásicos también se ha estudiado en poblaciones jóvenes, como en la del Bogalusa Heart Study (Urbina E et al, 2002) (518 sujetos de entre 20 y 38 años), en el que la presión arterial sistólica, la raza, la edad, el colesterol LDL y el colesterol HDL, por este orden, explicaban el 17% de la variabilidad del GIM carotídeo.

El GIM es considerado una herramienta diagnóstica útil y relativamente accesible, para la valoración de la arteriosclerosis en etapas subclínicas e in vivo (Urbina et al, 2009). La aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico arterial, desencadenada por diversos agentes metabólicos y/o infecciosos. Se inicia precozmente en la infancia pudiendo ser programado en la vida intrauterina (McTigue y Kuller, 2008). Los principales factores de riesgo asociados a la misma son la obesidad, fundamentalmente central, dislipemia, hiperglucemia, procesos infecciosos, hiperhomocisteinemia y estrés oxidativo. Además, la heredabilidad de la aterosclerosis se considera superior al 50 por ciento (Lusis, 2000). Estos factores de riesgo, actúan a través de biomarcadores inflamatorios que desencadenan el daño endotelial y conducen al inicio y progresión de la aterosclerosis (Wu y Wu, 2006). Así, el estudio de éstos en etapas subclínicas y reversibles, permitirían un diagnóstico precoz y un tratamiento individualizado (Skilton y Clermajer, 2006).

El GIM supone un indicador de la progresión de la aterosclerosis, presente ya desde la infancia, el cual es debido tanto al depósito lipídico como a la proliferación de la musculatura vascular.

El GIM se incrementa con la edad; Ishizu y colaboradores (2004), han elaborado una ecuación matemática lineal para predecir este incremento expresado en mm:  $0,009 \times \text{edad (años)} + 0,35$ . El valor medio de los niños obesos de este estudio, fue similar al de los datos publicados por Böhm y colaboradores (2009) en niños de edad similar, GIM medio fue de  $0,48 \pm 0,07$  mm frente al GIM de  $0,51$  mm (IC 95 por ciento  $0,48-0,54$  mm).

Se ha evidenciado en niños obesos una persistencia del RCV independiente al riesgo inherente que supone la persistencia de la obesidad en etapas futuras, explicable por los cambios fisiopatológicos cardiovasculares que provoca la obesidad (Skilton y Celemajer, 2006). La exposición a factores de RCV en la infancia, incrementa en 0.1 mm el GIM en la etapa adulta, asociándose por tanto a un incremento del RCV del 30 por ciento (Raitakari et al, 2003). Por tanto, es de vital importancia la actuación preventiva a edades precoces, sobre la futura aterosclerosis, pues la obesidad central en la infancia predice el GIM de la carótida en los adultos (Johnson et al, 2007).

### **6.3. GIM y NAFLD en niños con sobrepeso y obesidad tras la realización de un programa de actividad física**

Nuestro estudio demuestra una disminución del GIM de  $0,475 \pm 0,07$  en Octubre 2013 a  $0,372 \pm 0,02635$   $p < 0,0001$  en Mayo 2014 tras la realización de un programa de actividad física. Por lo tanto el 93,4 % de los participantes del grupo de intervención normalizaron el GIM.

Se han realizado pocos estudios que investiguen la asociación entre la AF y el GIM carotídeo en niños y adolescentes.

En cuanto a estudios observacionales que investigan la asociación entre la AF y el GIM, destaca una investigación europea de la EYHS (European Youth Heart Study) que muestra que la MVPA y la VPA no se asociaba con el GIM en 336 adolescentes evaluados en un estudio transversal. Otro estudio europeo muestra que en 254 niños de ocho a diez años, la MVPA y VPA no estaban asociados con el GIM medida seis años más tarde, en la adolescencia (Ried-Larsen, M., et al., 2014).

Se han realizado otros estudios de intervención en niños y jóvenes con sobrepeso u obesidad, donde se demostró que los programas de actividad física, que variaban en tiempo entre 12 semanas y un año tuvieron un impacto beneficioso sobre el GIM, mediante la

reducción de los valores medios entre 0.006 mm a 0.100 mm (Masquio, D.C., et al., 2012; Wunsch, R., et al, 2006; Poeta, L.S., et al., 2013; de Lima Sanches, P., et al, 2011; Woo, K.S., et al., 2004. Park, J.H., et al, 2012; Farpour-Lambert, N.J., et al., 2009. Meyer, A.A., et al., 2006; Maggio, A.B., et al, 2011).

En otros estudios, sólo aquellos cuyo IMC se redujo en 0,5 o más (IMC redujo 2,2 kg / m<sup>2</sup>), cuyo IMC se redujo en más de un 0,2 (IMC redujeron 3,9 kg / m<sup>2</sup>) (Lass, N., et al., 2011), o los que se agruparon en el tercer y cuarto cuartiles más altos de pérdida de peso (mayor de 10.90 kg) demostraron estas mejoras del GIM, destacando la influencia de la adiposidad en el GIM que se ha visto en la literatura (Masquio, D.C., et al., 2012; Wunsch, R., et al., , 2006). Cuatro estudios de intervención con programas de tres o seis meses de ejercicio únicamente, a diferencia de otros cambios de estilo de vida, como la dieta, informaron mejoras en el GIM (Park, J.H., et al, 2012; Farpour-Lambert, N.J., et al., 2009. Meyer, A.A., et al., 2006; Maggio, A.B., et al, 2011).

Este es un hallazgo importante ya que los programas de intervención integrales puede no ser capaces de poner de relieve el impacto específico de la AF en el GIM, sino sólo los efectos combinados de diferentes cambios de estilo de vida. En general, pocos estudios de intervención con pequeños tamaños de las muestras han evaluado los cambios en el GIM en programas de ejercicio en los niños con sobrepeso y obesidad, y la mayoría han encontrado que la media del GIM en el grupo de intervención disminuyó significativamente después de participar en los programas con mayores niveles de AF.

Además, nuestro estudio demuestra que tras el ejercicio el 84% de los niños normalizaron su ecogenicidad hepática.

Es ampliamente aceptado que el tratamiento de niños con sobrepeso y obesidad con NAFLD es fundamentalmente la actividad física. En nuestros pacientes la reducción de peso que produjo el ejercicio físico tuvo efecto favorable en la mejoría de la NAFLD, lo cual ha sido constatado por otros (Knobler H, et al. 1999; Daniel A. et al, 2012).

En cuanto a los valores antropométricos, nuestro estudio demuestra que el % de grasa ha disminuido de manera significativa tanto en niños como en niñas en el grupo de intervención. Esto no ha sido así en el grupo control.

Así mismo, se ha producido una mejora significativa en los IMC de los niños. Así según la clasificación de la OMS, 11 niños han dejado de ser obesos, pasando a tener sobrepeso y 5 niños han pasado de tener sobrepeso a tener normopeso.

La actividad física también tiene un efecto sobre los factores de riesgo cardiovascular en niños y jóvenes. En los estudios en los que participaron niños y adolescentes en programas de intervención de ejercicio que duran de meses a dos años, la mitad de los estudios mostraron que las medidas de adiposidad como la grasa total, grasa abdominal o IMC se redujeron significativamente (Janssen, I. et al, 2010 ). Una revisión de la literatura reciente de la asociación entre los factores de riesgo cardiovascular y la AF en niños expuso que la presión arterial se redujo en hipertensos sometidos a programas de intervención de 30 minutos o más de ejercicio aeróbico, tri-semanal (Andersen, L.B., et al, 2011). En general, la literatura muestra que los niveles de AF más altos se asocian con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y que esta relación inversa también se ha demostrado entre los FRCV y la AF.

#### **6.4. Programa SALUD 5-10**

El presente estudio es parte del programa “SALUD 5-10 “, programa de ejercicio físico diseñado con el objetivo de abordar el sobrepeso y obesidad en escolares de una franja de edad entre 5 a 10 años, mejorando su condición física y salud cardiovascular.

Este programa estaba destinado a una población escolar de 3º de infantil a 5º de primaria con un censo de 3.272 niños. Se puso en marcha el curso escolar (año 2013-2014) con

la solicitud de participación de 752 niños. De ellos se seleccionaron de forma aleatoria 150 niños que presentaban unos criterios (obesidad o sobrepeso, ausencia de enfermedades crónicas).

La parte de intervención incluía una actividad de ejercicio físico diseñado y ejecutado por la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Murcia y que se desarrolló durante 3 horas semanales en horario de tarde. Contaba con 12 monitores de dicha Facultad y se realizó en 4 colegios seleccionados por su ubicación geográfica dentro del municipio.

Ha sido el primer estudio internacional que ha valorado los efectos del ejercicio físico en niños mediante pruebas ecográficas, variables antropométricas, analíticas, nivel de condición física y hábitos de actividad física.

El programa SALUD 5-10 ha recibido el premio al Mérito Deportivo de la Región de Murcia y ha sido destacado en numerosos medios de comunicación.

La Dirección General de Deportes tiene previsto su desarrollo en otros municipios de la Región de Murcia. Se propone una continuidad del proyecto, añadiendo la variable de la introducción de una alimentación adecuada y se desarrollaran talleres para padres y niños impartidos por profesionales sanitarios (médicos endocrinólogos y nutricionistas).

## 7. CONCLUSIONES

---



El desarrollo de esta memoria ha conducido a los siguientes avances en el conocimiento:

1. Se ha verificado la reproducibilidad, precisión o fiabilidad interobservador de la técnica ecográfica en la valoración del GIM, obteniendo un coeficiente de correlación intraclase de 0,97.
2. Se han descrito las bases e interés científico, así como los principales aspectos metodológicos de un programa de intervención orientado a la mejora de la condición física y otros parámetros indicativos del estado de salud, en un grupo de escolares con sobrepeso y obesidad de 5 a 10 años.
3. Se ha demostrado un aumento del GIM en niños con sobrepeso y obesidad.
4. Se ha demostrado un aumento en la incidencia de la NAFLD en niños con sobrepeso y obesidad.
5. Se ha demostrado una asociación significativa entre el GIM y la enfermedad hepática grasa no alcohólica (agrupada en distintos grados) en niños con sobrepeso y obesidad. Además nuestros hallazgos sugieren que a mayor severidad de la esteatosis hepática mayor valor del GIM.
6. Se ha demostrado la reversibilidad del GIM tras la realización de un programa de ejercicio físico
7. Se ha demostrado la reversibilidad de la NAFLD tras la realización de un programa de ejercicio físico
8. Continuidad del proyecto. La Dirección General de Deportes tiene previsto su desarrollo en otros municipios de la Región de Murcia. Se propone una 2ª edición del proyecto, añadiendo la variable de la introducción de una alimentación adecuada para lo que se han diseñado unos menús saludables y se desarrollaran talleres para padres y niños impartidos por profesionales sanitarios (médicos endocrinólogos y nutricionistas).



## 8. BIBLIOGRAFÍA

---



A Koçyt , M. Doğan, I. Yilmaz et al., "Relation of age and sex with carotid intima media thickness in healthy children", Turkish Journal of Medical Sciences, vol. 44, no. 3, pp. 422-426, 2014.

A. de Arriba Muñoz, M.M. Domínguez Cajal, J.I. Labarta Aizpún et al., "Carotid intima-media thickness; normal values from 4 years", . Nutricion Hospitalaria, vol. 28, no. 4, pp. 1171-1176, 2013. 14

A. Sartorio, A. Del Col, F. Agosti et al., "Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in obese children", European Journal of Clinical Nutrition, vol. 61, no. 7, pp. 877-883, 2007

Acere DM. Tratamiento en gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica. Obesidad. Ed Ergon. 2008. 639-658.

Achenbach S, Daniel WG. Imaging of coronary atherosclerosis using computed tomography: current status and future directions. Curr Atheroscler Rep 2004;6:213-218.

Achenbach S, Ropers D, Pohle K, Leber A, Thilo C, Knez A, et al. Influence of lipid-lowering therapy on the progression of coronary artery calcification: a prospective evaluation. Circulation 2002; 106:1077-1082.

Adelman RD, Restaino IG, Alon US, Blowey DL. Proteinuria and focal segmental glomerulosclerosis in severely obese adolescents. J Pediatr. 2001; 138: 481-5.

Ahmed, H.M., et al., Effects of physical activity on cardiovascular disease. Am J Cardiol, 2012. 109(2): p. 288-95.

Akosah KO, Schaper A, Cogbill C, Schoenfeld P. Preventing myocardial infarction in the young adult in the first place: how do the National Cholesterol Education Panel III Guidelines perform? J Am Coll Cardiol 2003; 41:1475-1479. 33.

Allan P, Mowbray P, Lee A, Fowkes G. Relationship between carotid intima- media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery study. Stroke 1997;28:348-353.

Aminbakhsh A, Mancini GB. Carotid intima-media thickness measurements: what defines an abnormality? A systematic review. Clin Invest Med 1999;22:149-157.

Andersen, L.B., et al., Physical activity and cardiovascular risk factors in children. *Br J Sports Med*, 2011. 45(11): 871-6.

August GP, Caprio S, Fennoy I, Freemark M, Kaufman F R, Lusting RH, Silverstein JH, Speiser PW, Styne DM, Montori VM. Prevention and treatment of pediatric obesity: an Endocrine Society clinical practice guideline based on expert opinion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93: 4576-99.

Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-tetri BA. Non-alcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology*. 1994;107:1103-9.

Baldassarre D, Amato D, Bondioli A, Sirtori CR, Tremoli E. Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors. *Circulation* 2000;31:2426-2430.

Baldassarre D, Veglia F, Gobbi C, Gallus G, Ventura A, Crepaldi G, et al. Intima-media thickness after pravastatin stabilizes also in patients with moderate to no reduction in LDL-cholesterol levels: the Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study. *Atherosclerosis* 2000;151:575-583.

Baldassarre D, Werba JP, Tremoli E, Poli A, Pazzucconi F, Sirtori CR. Common carotid intima-media thickness measurement. A method to improve accuracy and precision. *Stroke* 1994;25:1588-92.

Bar RS. Interaction of insulin and insulin-like growth factors (IGF) with endothelial cells. *Ann N Y Acad Sci*. 1982;401:150-62.

Barnett AH. The importance of treating cardiometabolic risk factors in patients with type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2008; 5. 9-14.

Barth JD. Which tools are in your cardiac workshop? Carotid ultrasound, endothelial function and magnetic resonance imaging. *Am J Cardiol* 2001;87 (supl):8A-14A

Bauman, A., et al., Physical activity measurement--a primer for health promotion. *Promot Educ*, 2006. 13(2): p. 92-103.

Beeuwkes R III, Barger C, Silverman KJ, et al. Cinemicrographic studies of the vasa vasorum of human coronary arteries. IN: Glagov S, Newman WP, Schaffer SA eds. Pathobiology of the human atherosclerotic plaque. New York, NY: Springer-Verlag. 1990:425-32.

Bemelmans WJE, Lefrandt JD, Feskens EJM, Broer J, Tervaert JWC, May JF, et al. Change in saturated fat intake is associated with progression of carotid and femoral intima-media thickness, and with levels of soluble intercellular adhesion molecule-1. *Atherosclerosis* 2002;163:113-120.

Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N Engl J Med*. 1998; 338:1650-56.

Blankenhorn DH, Selzer RH, Crawford DW, Barth JD, Liu CR, Liu CH, et al. Beneficial effects of colestipolnicotin therapy on the common carotid artery. Two-and four-year reduction of intima-media thickness measured by ultrasound. *Circulation* 1993;88:20-8.

Bo S, Gambino R, Gentile L, Pagano G, Rosato R, Saracco GM, Cassader M, Durazzo M, Cavallo-Perin P. High-normal blood pressure is associated with a cluster of cardiovascular and metabolic risk factors: a population-based study. *J Hypertens*. 2009; 27: 102-8.

Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol*. 2011;21:87-97.

Böhm B, Hartmann K, Buck M, Oberhoffer R. Sex differences of carotid intima-media thickness in healthy children and adolescents. *Atherosclerosis*. 2009; 206: 458-63.

Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*. 2005; 115: 290-6.

Bots M, Evans G, Riley W, Grobbee D. Carotid intima-media thickness measurements in intervention studies. Design options, progression rates and sample size considerations: a point of view. *Stroke* 2003;23:2985-2994.

Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997;96:1432-7.

Bovet P, Pret F, Cornuz J, Quilindo J, Paccaud F. Improved smoking cessation in smokers given ultrasound photographs of their own atherosclerotic plaques. *Prev Med* 2002;34:215-220.

Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001; 344: 495-500.

Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004; 40: 1387-9595.

Brunt EM. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010; 7: 195- 203.

Burgert TS, Taksali SE, Dziura J, Goodman TR, Yeckel CW, Papademetris X, Constable RT, Weiss R, Tamborlane WV, Savoye M, Seyal AA, Caprio S. Alanine aminotransferase levels and fatty liver in childhood obesity: associations with insulin resistance, adiponectin, and visceral fat. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91: 4287-94.

C.B. Ebbeling, D.B. Pawlaw and D.S. Ludwig, "Childhood obesity: public health crisis, common sense cure, *Lancet*, vol. 360, no. 9331, pp. 473-482, 2002. 2003.

C.M. Toledo-Corral, J.N. Davis, T.L. Alderete et al., "Subclinical atherosclerosis in Latino youth: progression of carotid intima-media thickness and its relationship to cardiometabolic risk factors", *Journal of Pediatrics*, vol. 158, no. 6, pp. 935-940, 2011.

Calle EE y Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature Rev Cancer*. 2004; 4: 579-91.

Callister TQ, Raggi P, Cooil B, Lippolis NJ, Russo DJ. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med* 1998;339:1972-1978.

Cañete R, Gil-Campos M, Aguilera CM, Gil A. Development of insulin resistance and its relation to diet in the obese child. *Eur J Nutr*. 2007; 46: 181-7.

Cañete R, Gil-Campos M, Aguilera CM, Moya M. Diagnóstico, prevención y tratamiento de la obesidad infantil. En Gil A. *Tratado de Nutrición*. 2010.

Cassidy FH, Yokoo T, Aganovic L, Hanna RF, Bydder M, Middleton MS et al. Fatty liver disease: MR imaging techniques for the detection and quantification of liver steatosis. *Radiographics*. 2009;29:231-60.

Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 2000;151:478-487.

Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997;146:483-494.

Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO, Ehman RL. Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology*. 2011; 259:749-56.

Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO, Ehman RL. Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology*. 2011;259:749-56.

Cheng KS, Mikhailidis DB, Hamilton G, Seifalian AM. A review of the carotid and femoral intima-media thickness as an indicator of the presence of peripheral vascular disease and cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Res* 2002;54:528-538.

Chudek J y Wiecek A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. *Pharmacological Reports*. 2006; 58: 81-8.

Colley, R.C., et al., Physical activity of Canadian children and youth: accelerometer results from the 2007 to 2009 Canadian Health Measures Survey. *Health Rep*, 2011. 22(1): 15-23.

Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz WH. Prevalence of metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2003; 157: 821-7.

Corder, K., et al., Assessment of physical activity in youth. *J Appl Physiol*, 2008. 105(3):977-87.

Corti R, Fuster V, Fayad ZA, Worthley SG, Helft G, Smith D, et al. Lipid lowering by simvastatin induces regression of human atherosclerotic lesions. Two years' follow-up by high-resolution noninvasive magnetic resonance imaging. *Circulation* 2002;106:2884-2887.

Corti R, Fuster V. New understanding, diagnosis, and prognosis of atherothrombosis and the role of imaging. *Am J Cardiol* 2003;91:17A-26A.

Crouse III JR, Byington RP, Bond MG, Espeland MA, Craven TE, Sprinkle JW, et al. Pravastatin, Lipids, and Atherosclerosis in the Carotid arteries (PLAC- II). *Am J Cardiol* 1995;75:455-459.

Crouse JR 3rd, Craven TE, Hagaman AP, Bond MG. Association of coronary disease with segment-specific intimal-medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation* 1995;92:1141-7.

Crouse JR 3rd, Raichlen JS, Riley WA, Evans GW, Palmer MK, O'Leary DH, et al. Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in lowrisk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR trial. *JAMA* 2007;297:1344-53.

Crouse JR, III Tang R, Espeland MA, Terry JG, Morgan T, Mercuri M. Associations of extracranial carotid atherosclerosis progression with coronary status and risk factors in patients with and without coronary artery disease. *Circulation* 2002;106:2061-2066.

Cruz ML, Weigensberg MJ, Huang TT, Ball G, Shaibi GQ, Goran MI. The metabolic syndrome in overweight Hispanic youth and the role of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 108-13.

D.S. Freedman, D.A. Patel, S.R. Srinivasan et al., "The contribution of childhood obesity to adult carotid intima-media thickness: the Bogalusa Heart Study", *International Journal of Obesity (Lond)* 2008;32(5):749-756.

Dalmau J, Alonso M, Gómez L, Martínez C, Sierra C. Obesidad Infantil. Recomendaciones del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. Parte II. Diagnóstico. Comorbilidades. Tratamiento. *An Pediatr (Barc)*. 2007; 66: 294-304.

Daniel A. Hackett, Jacob George, Nathan A. Johnson Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology* 2012; 57 (1): 157-166.

de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:III33-8.

de Groot E, Jukema JW, Montauban van Swijndregt AD, Zwinderman AH, Akerstaff RG, van der Steen AF, et al. B-mode ultrasound assessment of pravastatin treatment effect on carotid and femoral artery walls and its correlations with coronary arteriographic findings: a report of the Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1561-1567.

de Lima Sanches, P., et al., Improvement in HOMA-IR is an independent predictor of reduced carotid intima-media thickness in obese adolescents participating in an interdisciplinary weight-loss program. *Hypertens Res*, 2011. 34(2): 232-8.

Dencker, M. and L.B. Andersen, Health-related aspects of objectively measured daily physical activity in children. *Clin Physiol Funct Imaging*, 2008. 28(3):133-44.

Detrano RC, Wong ND, Doherty TM, Shavelle RM, Tang W, Ginzton LE, et al. Coronary calcium does not accurately predict near-term future coronary events in high risk adults. *Circulation* 1999;99:2633-2638.

Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Nicolaides A, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. The British Regional Heart study. *Stroke* 1999;30:841-850.

Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Nicolaides AN, et al. Carotid plaque, intima-media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. *Stroke* 1999;30:841-50.

Ebrahim, S., et al., Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the British Regional Heart Study. *Stroke*, 1999. 30(4): 841-50.

Ekelund, U., G. Tomkinson, and N. Armstrong, What proportion of youth are physically active? Measurement issues, levels and recent time trends. *Br J Sports Med*, 2011. 45(11): 859-65.

Eriksson JG. Early growth, and coronary heart disease and type 2 diabetes: experiences from Helsinki Birth Cohort Studies. *Int J Obes (Lond)*. 2006; 30: S18-22.

F. Demircioğlu, A. Koçyiğit, N. Arslan, H. Cakmakçı, S. Hizli and A.T. Sedat, "Intima-media thickness of carotid artery and susceptibility to atherosclerosis in obese children with nonalcoholic fatty liver disease", *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2008;47(1):68-75.

F. Guzmán-Aroca, MD Frutos-Bernal, A. Bas, J. A. Luján-Mompeán, M. Reus, Juan de Dios Berná-Serna and P. Parrilla, Detection of non-alcoholic steatohepatitis in patients with morbid obesity before bariatric surgery: preliminary evaluation with acoustic radiation force impulse imaging, *European Radiology*, 2012; 22 (11): 2525-32

F. Velázquez F, J.D. Berná, J.L. Abellán, L. Serrano, A. Escribano and M. Canteras, "Reproducibility of sonographic measurements of carotid intima-media thickness", *Acta Radiologica*, vol. 49, no. 10, pp. 1162-1166, 2008.

Falagas ME y Kompoti M. Obesity and infection. *Lancet Infect Dis*. 2006; 6: 438-46.

Farpour-Lambert, N.J., et al., Physical activity reduces systemic blood pressure and improves early markers of atherosclerosis in pre-pubertal obese children. *J Am Coll Cardiol*, 2009. 54(25): 2396-406.

Fogelman AM, Berliner JA, Van Lenten BJ, et al. Lipoprotein receptors and endothelial cells. *Semin Thromb Hemost*. 1988;14:206-09.

Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut*. 2006;55:403-8.

Franks P W, Hanson RL, Knowler WC, Moffett C, Enos G, Infante AM, Krakoff J, Looker HC. Childhood predictors of young-onset type 2 diabetes. *Diabetes*. 2007; 56: 2964-72.

Fuentes D. Determinación de la composición corporal en pediatría. En *Manual práctico de nutrición en pediatría*. Ed. Ergon. 2007; 13-29.

Furberg CD, Adams HP, Applegate WB, Byington RP, Espeland MA, Hartwell T, et al. Effect of lovastatin on early carotid atherosclerosis and cardiovascular events. Asymptomatic Carotid Artery Progression Study (ACAPS) Research Group. *Circulation* 1994;90:1679-1687.

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.

G. Anibal Espinoza, M. Catalina Bages, O. Catalina Le Royand D. Carlos Castillo, "Arterial intima-media thickness in healthy Chilean children using an ultrasonographic computerized technique", *Revista Chilena de Pediatría* 2011; 82(1):29-34.

G. Guzzaloni, G. Grugni, A. Minocci, D. Moro and F. Morabito, "Liver steatosis in juvenile obesity: correlations with lipid profile, hepatic biochemical parameters and glycemic and insulinemic responses to an oral glucose tolerance test", *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 2000;24(6): 772-776.

Garaulet M y Pérez de Heredia F Oda E. The metabolic syndrome as a concept of adipose tissue disease. *Hypertens res.* 2008; 431: 1283-91.

Garaulet M y Pérez de Heredia F. Behavioural therapy in the treatment of obesity (II): role of the Mediterranean diet. *Nutr Hosp.* 2010; 25: 9-17.

Gerrity RG. The role of monocyte in atherogenesis, II: migration of foam cells from atherosclerotic lesions. *Am J Pathol.* 1981;103:191-200.

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: 611-7.

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1987;316:1371-5.

Greenland P, Smith SC Jr, Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people. The role of traditional risk factors and non-invasive cardiovascular tests. *Circulation* 2001;104:1863-1867.

H. Alp, S. Karaarslan, B Selver Eklioğlu, M.E. Atabek, H. Altın and T. Baysal, "Association between nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk in obese children and adolescents", *Canadian Journal of Cardiology* 2013;29(9):1118-1125.

Haffner SM. Abdominal adiposity and cardiometabolic risk: do we have all the answers? *Am J Med.* 2007; 120: 10-7.

Heilbronn LK, Noakes M, Clifton PM. Energy restriction and weight loss on very-low diets reduce C-reactive protein concentrations on obese, healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 968-70.

Heldblad B, Wikstrand J, Janzon L, Wedel H, Berglund G. Low dose metoprolol CR/XL and fluvastatin slow progression of carotid intima-media thickness: main results from the Beta-blocker Cholesterol-lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS). *Circulation* 2001;103:1721-1726.

Hirschler V, Roque MI, Calcagno ML, González C, Aranda C. Maternal waist circumference and the prediction of children's metabolic syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2007; 161: 1205-10.

Hodis H, Mack W, LaBree L, Setzer R, Chao-ran Liu, Ci-hua Liu, et al. The role of carotid intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med* 1998;128:262-269.

Hodis HN, Mack WJ, Dunn M, Liu C, Selzer RH, Krauss RM. Intermediate-density lipoproteins and progression of carotid arterial wall intima-media thickness. *Circulation* 1997;95:2022-2026.

Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu C, Alaupovic P, et al. Reduction in carotid arterial wall thickness using lovastatin and dietary therapy: a randomized controlled clinical trial. *Ann Intern Med* 1996;124:548-556.

Hollander M, Bots ML, Iglesias del Sol A, Koudstaal PJ, Witteman JCM, Grobbee DE, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly. The Rotterdam study. *Circulation* 2002;105:2872-2877.

Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JCM. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction. *Eur Heart J* 2002;23:934-940.

Ishizu T, Ishimitsu T, Yanagi H, Seo Y, Obara K, Moriyama N, Watanabe S, Yamaguchi I. Effect of age on carotid arterial intima-media thickness in childhood. *Heart Vessels*. 2004; 19: 189-95

J. Ampuero, R. Gallego-Durán and M. Romero-Gómez, "Association of NAFLD with subclinical atherosclerosis and coronary-artery disease: meta-analysis", *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 2015;107(1):10-16.

Janssen, I. and A.G. Leblanc, Systematic review of the health benefits of physical activity and fitness in school-aged children and youth. *Int J Behav Nutr Phys Act*, 2010; 7: p. 40.

Janssen, I., Health care costs of physical inactivity in Canadian adults. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2012. 37(4):803-6.

Jiang J y Torok N. Nonalcoholic Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008; 6: 1-8.

Johnson HM, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Li S, Chen W, Berenson GS, Stein JH. Predictors of carotid intima-media thickness progression in young adults. The Bogalusa heart study. *Stroke*. 2007; 38: 900-5.

Kadoglou, N.P., F. Iliadis, and C.D. Liapis, Exercise and carotid atherosclerosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2008. 35(3): 264-72.

Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979;241:2035-38.

Kastelein JJ, de Groot E, Sankatsing R. Atherosclerosis measured by B-mode ultrasonography: effects of statin therapy on disease progression. *Am J Med* 2004;116(6A):31S-36S.

Kent SM, Coyle LC, Flaherty PJ, Markwood TT, Taylor AJ. Marked low-density lipoprotein cholesterol reduction below current National Cholesterol Education Program targets provides the greatest reduction in carotid atherosclerosis. *Clin Cardiol* 2004;27:17-21.

Kitamura A, Iso H, Imano H, Ohira T, Okada T, Sato S, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004;35:2788-2794.

Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41:1313-21.

Knobler H, Schattner A, Zhornicki J, Malnick SD, Keier D, Sokoloslkaya, N, et al. Fatty liver in additional , treatable feature of insulin resistance syndrome. *QJM*. 1999; 92(2): 73-9.

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

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

Kristensen PL, Wedderkopp N, Moller NC. Tracking in the prevalence of cardiovascular disease risk factor across socio-economic classes: a longitudinal substudy of the European Youth Heart Study. *BMC Public Health*. 2006; 6: 20.

L Akin, S. Kurtoglu, A. Yikilmaz, M. Kendirci, F. Elmali and M. Mazicioglu, "Fatty liver is a good indicator of subclinical atherosclerosis risk in obese children and adolescents regardless of liver enzyme elevation", *Acta Paediatrica*, 2013;102(3):e107-113.

L. Pacifico, V. Cantisani, P. Ricci et al., "Nonalcoholic fatty liver disease and carotid atherosclerosis in children", *Pediatric Research*, 2008;63(4): 423-427.

Lass, N., et al., Effect of lifestyle intervention on features of polycystic ovarian syndrome, metabolic syndrome, and intima-media thickness in obese adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(11): 3533-40.

Lassailly G, Caiazzo R, Hollebecque A, Buob D, Leteurtre E, Arnalsteen L et al. Validation of noninvasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest, and NashTest) for prediction of liver injury in patients with morbid obesity. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:499-506.

Li, J. and J. Siegrist, Physical activity and risk of cardiovascular disease-- a meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Environ Res Public Health*, 2012. 9(2): 391-407.

Lorenz M, von Kegler S, Steinmetz H, Markus H, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range. Prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression study (CAPS). *Stroke* 2006;37:87-92.

Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature.* 2000; 407: 233-41.

M. Juonala, C.G. Magnussen, G.S. Berenson et al., "Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors", *New England Journal of Medicine*, vol. 365, no. 20, pp. 1876-1885, 2011. 12

M. Juonala, J.S. Viikari, M. Kähönen et al., "Life-time risk factors and progression of carotid atherosclerosis in young adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns study", *European Heart Journal*, 2010; 31(14):1745-1751.

M. Manco, G. Bedogni, L. Monti, G. Morino, G. Natali and V. Nobili, "Intima-media thickness and liver histology in obese children and adolescents with non-alcoholic fatty liver disease", *Atherosclerosis*, 2010;209(2): 463-468.

M.W. Lorenz, H.S. Markus, M.L. Bots, M. Rosvall and M. Sitzer, "Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis", *Circulation*, 2007;115(4): 459-467.

Macías Rodríguez MA, Rendón Unceta P, Navas Relinque C, Tejada Cabrera M, Infantes Hernández JM, Martín Herrera L. Ultrasonography in patients with chronic liver disease: its usefulness in the diagnosis of cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2003;95:258-64, 251-7.

Maclaren NK, Gujral S, Ten S, Motagheti R: Childhood obesity and insulin resistance. *Cel Biochem Biophys.* 2007; 48: 73-8.

MacMahon S, Sharpe N, Gamble G, Hart H, Scott J, Simes J, et al. Effects of lowering average or below-average cholesterol levels on the progression of carotid atherosclerosis. Results of the LIPID atherosclerosis substudy. LIPID Trial Research Group. *Circulation* 1998;97:1784-1790.

McTigue K y Kuller L. Cardiovascular risk factors, mortality, and overweight. *JAMA*. 2008; 299: 1260-3.

Maggio, A.B., et al., Long-term follow-up of cardiovascular risk factors after exercise training in obese children. *Int J Pediatr Obes*, 2011. 6(2-2): e603-10.

Mannami T, Konishi M, Baba S, Nishi N, Terao A. Prevalence of asymptomatic carotid atherosclerotic lesions detected by high-resolution ultrasonography and its relation to cardiovascular risk factors in the general population of a Japanese city. The Suita study. *Stroke* 1997;28:518-525.

Martínez A, Soto AM, Ramirez A, Oliver B, Lama C, Macarro C, Torró C, Birones E, Fernández E, Martín E, Caballero G, Muñoz J, Bejarano J, Naranjo J, Moreno JA, Rueda JR, López JP, Rabat JM, García L, Sánchez L, Rodríguez M, Gutierrez MC, Moreno MC, Vallino MF, López MJ, Cortés M, Amo M, García P, García R, Muriel R, Sánchez R, Gil RM, Pinzón SA. Plan integral de obesidad infantil de Andalucía 207- 2012. Junta de Andalucía, Consejería de Salud. 2006.

Martínez C y Pedrón C. Valoración del estado nutricional. 2009. En: <http://www.aeped.es/protocolos/nutricion/9.pdf>

Masquio, D.C., et al., The effect of weight loss magnitude on pro/anti-inflammatory adipokines and carotid intima-media thickness in obese adolescents engaged in interdisciplinary weight-loss therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2013; 79(1):55-64.

McGovern L, Johnson J N, Paulo R, Hettinger A, Singhal V, Kamath C C, Erwin P J, Montori V M. Treatment of pediatric obesity: a systematic review and metaanalyses of randomized trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93: 4600-5.

Mercuri M, Bond MG, Sirtori CR, Veglia F, Crepaldi G, Feruglio FS, et al. Pravastatin reduces carotid intima-media thickness progression in an asymptomatic hypercholesterolemic mediterranean population: the Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study. *Am J Med* 1996;101:627-634.

Meyer, A.A., et al., Improvement of early vascular changes and cardiovascular risk factors in obese children after a six-month exercise program. *J Am Coll Cardiol*, 2006. 48(9):1865-70.

Mondi JS, Lindner V, Miyashiro JS, et al. Platelet-derived growth factor ligand and receptor expression in response to altered flow in vivo. *Circ Res*. 1997;81:320-27.

Mukherjee D, Yadav JS. Carotid artery intimal-media thickness: indicator of atherosclerotic burden and response to risk factor modification. *Am Heart J* 2002;144:753-759.

Mukherjee D, Yadav JS. Carotid artery intimal-medial thickness: indicator of atherosclerotic burden and response to risk factor modification. *Am Heart J* 2002;144: 753-9.

Muñoz M, Mazure RA y Culebras JM. Obesidad y sistema inmune. *Nutr Hosp*. 2004; 19: 319-24.

Nagal Y, Matsumoto M, Metter EJ. The carotid artery as a non-invasive window for cardiovascular risk in apparently healthy individuals. *Ultrasound Med Biol* 2002;28:1231-1238.

Nicoletti G, Guigliano G, Pontillo A, Cioffi M, D'Andrea F, Guigliano D, Esposito K. Effect of a multidisciplinary program of weight reduction on endothelial functions in obese women. *J Endocrinol Invest*. 2003; 26: 5-8.

Nightingale K, Palmeri M, Trahey G. Analysis of contrast in images generated with transient acoustic radiation force. *Ultrasound Med Biol*. 2006;32:61-72.

Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel RA, et al. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis. A randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:1071-1080.

Nissen SE, Yock P. Intravascular ultrasound: novel pathophysiological insights and current clinical applications. *Circulation* 2001;103:604-616.

Nordstrom, C.K., et al., Leisure time physical activity and early atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. *Am J Med*, 2003. 115(1): 19-25.

O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults: Cardiovascular Health Study. *N Engl J Med* 1999;340:14-22.

O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;7;340(1):14-22.

O'Leary DH, Polak JF, Wolfson SK Jr, Bond MG, Bommer W, Sheth S, et al. Use of sonography to evaluate carotid atherosclerosis in the elderly. The Cardiovascular Health Study. CHS Collaborative Research Group. *Stroke* 1991;22:1155-63.

O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol* 2002;90 (supl.10C):18L-21L.

O'Rourke RA, Brundage BH, Froelicher VG. American College of Cardiology. American Heart Association Expert Consensus Document on electron-beam computed tomography for the diagnosis and prognosis of coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:126-40.

Oei HH, Vliedenthart R, Hak AE, Iglesias del Sol A, Hofman A, Oudkerk M, et al. The association between coronary calcification assessed by electron beam computed tomography and measures of extracoronary atherosclerosis. The Rotterdam Coronary Calcification Study. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1745-1751.

Okada K, Maeda N, Tatsukawa M, Shimizu C, Sawayama Y, Hayashi J. The influence of lifestyle modification on carotid artery intima-media thickness in a suburban Japanese population. *Atherosclerosis* 2004;173:329-337.

Ong KK, Ahmed ML, Emmett PM, Preece MA, Dunger DB. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *BMJ* .2000; 320: 967-71.

Parikh, T. and G. Stratton, Influence of intensity of physical activity on adiposity and cardiorespiratory fitness in 5-18 year olds. *Sports Med*, 2011. 41(6): 477-88.

Park, J.H., et al., A 12-week after-school physical activity programme improves endothelial cell function in overweight and obese children: a randomised controlled study. *BMC Pediatr*, 2012. 12: p. 111.

Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986;74:1399-14.

Poeta, L.S., et al., Effects of physical exercises and nutritional guidance on the cardiovascular risk profile of obese children. *Rev Assoc Med Bras*, 2013. 59(1): 56-63.

Potter K, Green DJ, Reed CJ, Woodman RJ, Watts GF, McQuillan BM, et al. Carotid intima-medial thickness measured on multiple ultrasound frames: evaluation of a DICOM-based software system. *Cardiovasc Ultrasound* 2007;5:29.

Prati P, Vanuzzo D, Casaroli M, Di Chiara A, De Biasi F, Feruglio GA, et al. Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke* 1992;23:1705-1711.

Prokop M. Multislice CT angiography. *Eur J Radiol* 2000;36:86-96.

Quak SH, Turnes R, Lavine J, Baur LA. Obesity in children and adolescents. *JPGN*. 2008; 47: 254-9.

R. Loomba, C.B. Sirlin, J.B. Schwimmer and JE Lavine, "Advances in pediatric nonalcoholic fatty liver disease", *Hepatology*, vol. 50, no. 4, pp. 1282–1293, 2009.

Raggi P, Callister TQ, Davidson M, Welty FK, Bachmann GA, Laskey R, et al. Aggressive versus moderate lipid-lowering therapy in postmenopausal women with hypercholesterolemia: rationale and design of the Beyond Endorsed Lipid Lowering with EBT Scanning (BELLES) trial. *Am Heart J* 2001;141:722-726.

Raggi P, Callister TQ, Shaw LJ. Progression of coronary artery calcium and risk of first myocardial infarction in patients receiving cholesterol-lowering therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1272-1277.

Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M, Taittonen L, Laitinen T, Mäki-Torkko N, Järvisalo MJ, Uhari M, Jokinen E, Rönnemaa T, Akerblom HK, Viikari JSA. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood. The cardiovascular risk in young Finns Study. *JAMA*. 2003; 290: 2277-83

Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, et al. Induction of endotelial cell expresión of granulocyte and macrophage colony- stimulating factors by modified low-density lipoproteins. *Nature*. 1990;344:254-57.

Rankinen T, Zuberi A, Chagnon Y C, Weisnagel SJ, Argyropoulus G, Walts B, Perusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obes Res*. 2006; 14: 529-644.

Rector RS, Warner SO, Liu Y, hinton PS, Sun GY, Cox RH, Stump CS, Laughlin MH, Dellsperger KC, Thomas TR. Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidatives stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome *Am J Physiol EndocrinolMetab*. 2007; 293: 500-6.

Ried-Larsen, M., et al., Associations between objectively measured physical activity intensity in childhood and measures of subclinical cardiovascular disease in adolescence: prospective observations from the European Youth Heart Study. *Br J Sports Med*, 2014; 48(20):1502-7.

Ried-Larsen, M., et al., Physical activity intensity and subclinical atherosclerosis in Danish adolescents: The European Youth Heart Study. *Scand J Med Sci Sports*, 2013. 23(3):e168-77.

Ros E, Zambón D, Gilabert R. Técnicas de diagnóstico de aterosclerosis preclínica y su utilización para mejorar la predicción de riesgo cardiovascular. *Clin Invest Arterioscler* 2002;14:187-197.

Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and arterial smooth muscle cell.Proliferation of Smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*. 1973; 180:1332-39.

Ross R. Atherosclerosis. An inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340: 115-26.

Rowlands, A.V. and R.G. Eston. The measurement and interpretation of children's physical activity. *Journal of Sports Science and Medicine* 2007; Available from: <http://www.jssm.org/vol6/n3/1/v6n3-1pdf.pdf>.

Ruiz, J.R. and F.B. Ortega, Physical Activity and Cardiovascular Disease Risk Factors in Children and Adolescents. *Current Cardiovascular Risk Reports*, 2009. 3: 281-287.

S. Berardis and E. Sokal, "Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: an increasing public health issue", *European Journal of Pediatric*, vol. 173, no. 2, pp. 131-139, 2014.

S. Karnik S and A. Kanekar, "Childhood obesity: a global public health crisis", *International Journal of Preventive Medicine*, 2012;(3)1:1-7.

Salas-Salvado J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B y Grupo Colaborativo de la SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)* 2007; 128: 184-96.

Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1245-1249.

Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993;87:II56-65.

Salonen R, Nyyssonen K, Porkkala E, Rummukainen J, Belder R, Park JS, et al. Kuopio Atherosclerosis Prevention Study (KAPS): A population-based primary preventive trial of the effect of LDL lowering on atherosclerotic progression in carotid and femoral arteries. *Circulation* 1995;92:1758-1764.

Salonen R, Salonen JT. Progression of carotid atherosclerosis and its determinants: a population-based ultrasonography study. *Atherosclerosis* 1990;81:33-40.

Salonen R, Salonen JT. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993;87:56-65.

Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003;29:1705-13.

Sarah E, Barlow y the Expert Committee. Expert committee recommendations, regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: summary report. *Pediatrics*. 2007; 120: 164-92.

Sartorio A, Del Col A, Agosti F, Mazzilli G, Bellentani S, Tiribelli C, Bedogni G. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in obese children. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61: 877-83.

Sattelmair, J., et al., Dose response between physical activity and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Circulation*, 2011. 124(7): 789-95.

Schaefer-Graf UM, Pawliczak J, Passow D, Hartmann R, Rossi R, Bühner C, Harder T, Plagemann A, Vetter K, Kordonouri O. Birth weight and parental BMI predict overweight in children from mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28: 1745-50.

Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Saavedra Santana P. Epidemiología de la obesidad infantil en España. Resultados del estudio enKid (1998-200). *Ed Masson*, 2001: 81-108.

Shiroma, E.J. and I.M. Lee, Physical activity and cardiovascular health: lessons learned from epidemiological studies across age, gender, and race/ethnicity. *Circulation*, 2010. 122(7):743-52.

Simionescu N, Heltianu C, Antohe F, et al. Endothelial cell receptors for histamine. *Ann N Y Acad Sci.* 1982;401:132-49.

Simon A, Garipey J, Chironi C, Megnien JL, Levenson J. Intima-media thickness : a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002;20:159-169.

Sirard, J.R. and R.R. Pate, Physical activity assessment in children and adolescents. *Sports Med*, 2001. 31(6): 439-54.

Sithole, F. and P.J. Veugelers, Parent and child reports of children's activity. *Health Rep*, 2008. 19(3): p. 19-24.

Skilton MR y Celermajer DS. Endothelial dysfunction and arterial abnormalities in childhood obesity. *Int J Obes.* 2006; 30: 1041-9.

Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef F. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet* 2001;357:577-581.

Smith SC Jr, Greenland P, Grundy SM. AHA Conference Proceedings. Prevention Conference V. Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patients for primary prevention: executive summary. *Circulation* 2000;101:111-116.

Smith U, Andersson Ch, Gustafson B, Hammarstedt A, Isakson P, Wallerstedt E. Adipokines, systemic inflammation and inflamed adipose tissue in obesity and insulin resistance. *International Congress Series*. 2007; 1303: 31-4.

Smyth S y Heron A. Diabetes and obesity: the twin epidemics. *Nat Med*. 2005; 12: 75-80.

Sookoian S y Pirola CJ. Non-alcoholic fatty disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: A systematic review. *J Hepatology*. 2008; 49: 600-7.

Soriano L y Muñoz MT. Obesidad. *Manual práctico de Nutrición en Pediatría*. Ed Ergon. 2007.

Strydom HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1992;85:391-405.

Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Rosselli MS, Gianotti TF, Mallardi P, Martino JS, Pirola CJ. Circulating levels and hepatic expression of molecular mediators of atherosclerosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*. 2010; 209: 585-91.

Strydom HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1512-31.

Statistics Canada. Directly measured physical activity of Canadian children and youth, 2007 to 2011. 2013; Available from: <http://www.statcan.gc.ca/pub/82-625-x/2013001/article/11817-eng.pdf>.

Stensland-Bugge E, Bonna K, Joakimsen O. Age and sex differences in the relationship between inherited and lifestyle risk factors and subclinical carotid atherosclerosis: the Tromso study. *Atherosclerosis* 2001;154:437-448.

Steven M y Haffner MD. Abdominal adiposity and cardiometabolic risk: Do we have all the answers? *T Am J Med.* 2007; 120: 10-17.

Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *Am J Roentgenol.* 2007; 189:1449. 320-3.

Sweeting HN. Measurement and definitions of obesity in childhood and 226 adolescence: a field guide for the uninitiated. *Nutr J.* 2007. 26; 6: 32.

T. Reinehr and R. Wunsch, "Intima media thickness-related risk factors in childhood obesity", *International Journal of Pediatric Obesity*, 2011; supplement 1:46-52.

Tanaka, H., et al., Regular aerobic exercise and the age-related increase in carotid artery intima-media thickness in healthy men. *J Appl Physiol*, 2002. 92(4):1458-64.

Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, Coyle LC, Markwood TT, Vernalis MN. ARBITER: Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol. A randomized trial comparing the effects of atorvastatin and pravastatin on carotid intima medial thickness. *Circulation* 2002;106:2055-

Tensland-Bugge, E., et al., Sex differences in the relationship of risk factors to subclinical carotid atherosclerosis measured 15 years later : the Tromso study. *Stroke*, 2000. 31(3): 574-81.

Trost, S.G., Objective measurement of physical activity in youth: current issues, future directions. *Exerc Sport Sci Rev*, 2001. 29(1): 32-6.

Urbina E, Srinivasan S, Tang R, Bond G, Kieltyka L, Berenson G. Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (The Bogalusa Heart study). *Am J Cardiol* 2002;90:953-958.

Urbina EM, Williams RV, Alpert BS, Collins RT, Daniels SR, Hayman L, Jacobson M, Mahoney L, Mietus-Snyder M, Rocchini A, Steinberger J, McCrindle B; American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young. Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in children and adolescents: recommendations for standard assessment for clinical research: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension.* 2009; 54: 919-50.

Valabhji J, Elkeles RS. Non-invasive measurement of coronary heart disease using electron beam computed tomography. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:409-414.

Van der Meer I, Bots M, Hofman A, Iglesias del Sol A, Van der Kuip D, Witterman J. Predictive value of non-invasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction. The Rotterdam study. *Circulation* 2004;109;30:841-850.

Van Gaal LC, Mertens IL y De Block Ch E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006; 444: 875-80.

Van Kruijsdijk RC, van der Wall E, Visseren FL. Obesity and cancer: the role of dysfunctional adipose tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009; 18: 2569-78.

Vanhees, L., et al., How to assess physical activity? How to assess physical fitness? *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2005. 12(2): 102-14.

Vinner RM, Segal TY, Lichtarowicz- Krynska E, hidmarsh P. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child*. 2005; 90: 10- 4.

Wang Y. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls. *Pediatrics*. 2002; 110: 903-10.

Warren, J.M., et al., Assessment of physical activity - a review of methodologies with reference to epidemiological research: a report of the exercise physiology section of the European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2010. 17(2): 127-39.

Willershausen B, Moschos D, Azrak B, Blettner M. Correlation between oral health and body mass index (BMI) in 2071 primary school pupils. *Eur J Med Res* 2007;12(7):295-9.

Willinek WA, von Falkenhausen M, Strunk H, Schild HH. Tissue harmonic imaging in comparison with conventional sonography: effect on image quality and observer variability in the measurement of the intima-media thickness in the common carotid artery. *Rofo* 2000;172:/641-5.

Woo, K.S., et al., Effects of diet and exercise on obesity-related vascular dysfunction in children. *Circulation*, 2004. 109(16): 1981-6.

World Health Organization, World Heart Federation, World Stroke Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. 2011; Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf).

World Health Organization. Global Health Risks: Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. 2009; Available from: [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/GlobalHealthRisks\\_report\\_full.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf).

World Health Organization. Physical Activity. 2013; Available from: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/pa/en/index.html>.

Wu TC y Chen PH. Health consequences of nutrition in childhood and early infancy. *Pediatr Neonatol*. 2009; 50: 135-42.

Wunsch, R., et al., Intima-media thickness in obese children before and after weight loss. *Pediatrics*, 2006. 118(6): 2334-40.

Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K et al. Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography. *Radiology*. 2010;256:640-7.

Young KM, Northern JJ, Lister KM, Drummond JA, O'Brien WH. A metaanalysis of family-behavioral weightloss treatments for children. *Clin Psychol Rev*. 2007, 27: 240-9.

Yuan C, Zhao XQ, Hatsukami TS. Quantitative evaluation of carotid atherosclerotic plaques by magnetic resonance imaging. *Curr Atheroscler Rep* 2002;4:351-357.

Zelber-Sagi S, Ratziu V, Zvibel I, Goldiner I, Blendis L, Morali G et al. The association between adipocytokines and biomarkers for nonalcoholic fatty liver disease-induced liver injury: a study in the general population. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012;24:262-9.

Zhao XQ, Yuan C, Hatsukami TS, Frechette EH, Kang XJ, Maravilla KR, et al. Effects of prolonged intensive lipid-lowering therapy on the characteristics of carotid atherosclerotic plaques in vivo by MRI. A case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1623-1629.

Zureik M, Touboul PJ, Bonithon-Kopp C, Courbon D, Berr C, Leroux C, et al. Cross-sectional and 4-year longitudinal associations between brachial pulse pressure and common carotid intima-media thickness in a general population. The EVA study. *Stroke* 1999;30:550-555.