

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]



**DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA,
OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA (POG)
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA**
Programa de Doctorado: 30/42

TESIS DOCTORAL

**“IDENTIFICACIÓN PRECOZ DE COMPLICACIONES
MICROVASCULARES EN LA OBESIDAD INFANTIL.
RELACIÓN INTERDISCIPLINARIA Y CONFECCIÓN DE
NUEVOS PROTOCOLOS BASADOS EN EL ANÁLISIS DE
MEDIADORES CELULARES Y MOLECULARES
Y EN EL ESTUDIO DE FONDO DEL OJO”**

Jana Pacheco Cervera

Dirigida por:

Prof. Pilar Codoñer Franch

Prof. Maria Dolores Pinazo Durán

Prof. Sheila Pons Vázquez

JULIO 2016

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

TESIS DOCTORAL

Identificación precoz de complicaciones microvasculares en la obesidad infantil.

Relación interdisciplinaria y confección de nuevos protocolos basados en el análisis de mediadores celulares y moleculares y en el estudio de fondo del ojo.

Tesis presentada para optar al Grado de Doctor por Jana Pacheco Cervera,
licenciada en Medicina, con DNI: 44883423-G

Firmado: Jana Pacheco Cervera

Valencia, 2016-07-10

Directoras:

Dra Pilar Codoñer Franch

Dra Maria Dolores Pinazo Durán

Dra Sheila Pons Vázquez

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

Dra Pilar Codoñer Franch, Doctora en Medicina y Cirugía y Profesora Titular del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia.

Dra Maria Dolores Pinazo, Doctora en Medicina y Cirugía y Profesora Asociada (Profesora Acreditada Titular ANECA) del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia.

Dra Sheila Pons Vázquez, Doctora en Biología y Profesora Titular del Departamento de Ciencias de Florida Universitaria, centro asociado a la Universidad de Valencia.

INFORMAN que: Jana Pacheco Cervera, licenciada en Medicina por la Universidad de Valencia ha realizado bajo nuestra dirección, en el Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la facultad de Medicina y Odontología de Valencia el presente trabajo titulado: "Identificación precoz de complicaciones microvasculares en la obesidad infantil. Relación interdisciplinaria y confección de nuevos protocolos basados en el análisis de mediadores celulares y moleculares y en el estudio de fondo del ojo", y autorizamos su presentación como Tesis Doctoral para optar al grado de Doctora.

Y para que así conste a todos los efectos oportunos, expedimos y firmamos el presente informe, en Valencia, a 10 de Julio de 2016.

Dra Pilar Codoñer Franch

Dra Maria Dolores Pinazo Durán

Dra Sheila Pons Vázquez

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

**A mis padres,
por su apoyo incondicional**

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

AGRADECIMIENTOS:

Ya desde antes de empezar la residencia sabía que quería realizar la tesis doctoral. Me gustaba el trabajo académico y científico que implicaba y a su vez la parte creativa de elaborar un proyecto único y novedoso. También lo veía como el primer paso que tienes que dar para iniciar una carrera investigadora y, de hecho, sigo considerando la investigación, en general, como una actividad necesaria y clave para ser un buen profesional.

Ya en los primeros días como residente de oftalmología pude contar con la ayuda de Maria Dolores Pinazo para cumplir mi ilusión. Muchas gracias porque lo hiciste fácil, por tus ánimos y por tu fascinación por el mundo de la investigación.

A la Dra Pilar Codoñer, el núcleo del proyecto. Gracias por darme la oportunidad de adentrarme en el mundo de la obesidad, por tu visión del conjunto, por todo tu interés y por tu perfeccionismo.

A Sheila por tu cariño y perseverancia.

Al Dr Vicente Vila, por tus lecciones magistrales de anatomía y las horas dedicadas. Te lo agradezco de corazón.

A Cristina Dualde, por esas palabras que necesitaba escuchar en los momentos más bajos, que también los ha habido, y por tus valiosas sugerencias.

A mis codoctorandos Mai y Manolo Porcar porque habéis sido para mi un ejemplo de constancia y esfuerzo.

A toda la Unidad de Investigación "Santiago Grisolia", especialmente a Oskar Álvarez, por vuestro apoyo.

A todo el servicio de Oftalmología del Dr Peset, por vuestra ayuda desinteresada, por vuestra paciencia y por todas las facilidades que me habéis dado para que pudiera visitar a todos los niños.

A mi familia, que siempre me ha animado en las decisiones que he ido tomando.

Y a todos los niños, niñas y sus familias que han participado en el estudio, por haberme dedicado ese tiempo para que pueda aprender, estudiar y sacar conclusiones sobre la obesidad. Gracias por haberlo hecho posible.

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

ÍNDICE GENERAL

I.- INTRODUCCIÓN

1. OBESIDAD

- 1.1. PREVALENCIA E IMPACTO DE LA OBESIDAD INFANTIL
- 1.2. ESTADO INFLAMATORIO Y ESTRÉS OXIDATIVO
- 1.3. CAMBIOS EN LA MICROCIRCULACIÓN

2. EL OJO

- 2.1 GENERALIDADES SOBRE LA FUNCIÓN VISUAL
- 2.2 ANATOMIA DE LA RETINA Y DEL NERVIÓ ÓPTICO
 - 2.2.1 Elementos neuronales
 - 2.2.2 Elementos vasculares
 - 2.2.3 Nervio óptico

2.3 LA RETINA. VASCULARIZACIÓN RETINIANA

- 2.3.1 El examen morfológico de la retina. La retinografía
- 2.3.2 El examen morfométrico de la retina. Desarrollo de fórmulas para calcular el calibre vascular retiniano. Estudios en niños y en adultos sanos.
- 2.3.3 El examen morfológico y morfométrico de la microvascularización retiniana en la obesidad
 - 2.3.3.1 Características del estudio en niños
 - 2.3.3.2 Protocolos para la interpretación de las mediciones de los calibres vasculares retinianos. CRAE, CRVE y AVR

2.4 NERVIÓ ÓPTICO.

- 2.4.1 El examen morfológico del nervio óptico. La tomografía de coherencia óptica (OCT)
- 2.4.2 El examen morfométrico del nervio óptico.
 - 2.4.2.1 Características del estudio en niños.
 - 2.4.2.2. Protocolos para medición de parámetros de la cabeza y de la capa de fibras nerviosas

3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

4. HIPÓTESIS

5. OBJETIVOS

- 5.1 OBJETIVO PRINCIPAL
- 5.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

II.- METODOLOGÍA

1. DISEÑO

- 1.1. TIPO DE ESTUDIO. NORMATIVA VIGENTE. PERMISOS INSTITUCIONALES.
- 1.2 SUJETOS DEL ESTUDIO
 - 1.2.1 Descripción de los participantes. Criterios de selección. Conformación de grupos
 - 1.2.2 Tamaño muestral
 - 1.2.3 Consentimiento informado
 - 1.2.4 Ley de protección de datos

2. DEFINICIÓN OPERACIONAL

- 2.1 VARIABLES DEL ESTUDIO
 - 2.1.1 Datos antropométricos
 - 2.1.2. Exploración oftalmológica
 - 2.1.2.1 Examen sistematizado
 - 2.1.2.2 Retinografía y estudio de la circulación retiniana
 - 2.1.2.3 Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT)

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

2.1.3. Parámetros bioquímicos

2.1.3.1 Marcadores de riesgo cardiovascular

2.1.3.2 Marcadores de estrés oxidativo y daño endotelial

2.1.3.3 Parámetros emergentes de riesgo cardiovascular

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.1 ANALÍTICA DESCRIPTIVA

3.2 ESTUDIO COMPARATIVO

3.3 ESTUDIO DE CORRELACIONES Y REGRESIONES

III. RESULTADOS:

1.- RESULTADOS

A.-ESTUDIO CALIBRE ARTERIOVENOSO

1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE CASOS Y CONTROLES

2. ESTUDIO DESTUDIO DE LOS PARÁMETROS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS DE LOS DOS GRUPOS

3. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS CALIBRES RETINIANOS DE LOS 2 GRUPOS:

3.1 RESPECTO CRAE

3.2.RESPECTO CRVE

3.3 RESPECTO AVR

4. PRUEBAS DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LAS DIFERENTES MEDICIONES DE LOS CALIBRES ARTERIOVENOSOS Y LOS MARCADORES CARDIOMETABÓLICOS:

4.1 CORRELACIÓN CON AVR

4.2 CORRELACIÓN CON CRAE

4.3 CORRELACIÓN CON CRVE

B.- ESTUDIO NERVIÓ ÓPTICO

1.-ESTUDIO DESCRIPTIVO DE GRUPOS

2.-ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, ANTROPOMÉTRICAS Y ANALÍTICAS DE LOS GRUPOS

3.-ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESPESOR DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DEL NERVIÓ ÓPTICO EN LOS GRUPOS

4.- CORRELACIÓN PARCIAL ENTRE LA RNFL Y LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y ANALÍTICAS DE LOS GRUPOS SP,O Y SO

2.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

A.- CALIBRES ARTERIOVENOSOS:

1.- IMC Y PORCENTAJE DE MASA GRASA

2.- PRESIÓN ARTERIAL

3.- PARÁMETROS DE RIESGO METABÓLICO CLÁSICOS

4.- PARÁMETROS EMERGENTES DE RIESGO METABÓLICO

1. La leptina

2. La adiponectina

3. La Apo A1

4. La RBP4

5. La IL-6

5.- PARÁMETROS ESTRÉS OXIDATIVO Y MARCADORES INFLAMATORIOS

1. La PCR

2. LA IL-6

3. Papel inflamatorio en los cambios microvasculares

B. NERVIÓ ÓPTICO

IV. CONCLUSIONES FINALES

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXO I COMITÉ ÉTICO

ANEXO II. CERTIFICADO DE PERMISO DE UTILIZACIÓN DE INSTALACIONES DR PESET

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

ANEXO III. CONSENTIMIENTO INFORMADO

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

INDICE DE ABREVIATURAS:

Apo A1: Apolipoproteína 1

ApoB: Apolipoproteína B

AVR: Cociente arteria/vena

CFNR: Capa de fibras nerviosas de la retina

CGR: Células ganglionares de la retina

CRVE: Equivalente de la vena central de la retina

CRAE: Equivalente de la arteria central de la retina

ECV: Enfermedad cardiovascular

DE: Desviación estándar

DM: Diabetes mellitus

GGT: Gamma glutamil transpeptidasa

GSH: Glutation

HDL: Colesterol unido a proteínas de alta densidad

HOMA-IR: Índice de resistencia insulínica

Hs-CRP: Proteína C reactiva ultrasensible

HTA: Hipertensión arterial

IL-6: Inteleucina 6

IMC: Índice de masa corporal

IOTF: International Obesity Task Force

OCT: Tomografía de coherencia óptica

OMS: Organización mundial de la salud

RBP4: Proteína ligadora del retinol

RNFL: "Retinal nerve fiber layer". Capa de fibras nerviosas de la retina

ROS: "Reactive oxygen species". Especies reactivas del oxígeno

TA: Tensión arterial

TAS: Tensión arterial sistólica

TAD: Tensión arterial diastólica

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

TNF- α : Factos de necrosis tumoral alpha

sVCAM: Molécula de adhesión celular vascular-1

z.IMC: puntuación z-IMC

8-OHsG: 8-hidroxideoxiguanosina

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS:

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1: Fotografía de la retina centrada en fóvea.

Figura 2: Esquema anatómico de la mácula.

Figura 3: Sección transversal esquemática de la retina que muestra las capas de la retina.

Figura 4: Microfotografía de la mácula.

Figura 5: Diagrama esquemático de los tipos celulares y las capas histológicas de la retina humana.

Figura 6: Dibujo de células fotorreceptoras: bastones y conos.

Figura 7: Dibujo tridimensional de la cabeza del nervio óptico.

Figura 8: Anatomía de la distribución de las fibras nerviosas retinianas.

Figura 9: Distribución de los axones de las CGR.

Figura 10: Retinografía que muestra simetría en la excavación papilar.

Figura 11: Análisis de la capa de fibras nerviosas retinianas mediante tomografía de coherencia óptica.

Figura 12: Retinógrafo TOPCON ImageNet.

Figura 13: Retinografía que muestra la zona A (a 0.5 diámetros de disco óptico) y la zona B (a 1 diámetro de disco óptico).

Figura 14: Esquema de realización de la medición manual de los diámetros vasculares.

Figura 15: Tomografía de coherencia óptica. Cirrus-HD.

Figura 16: Análisis de la RNFL del nervio óptico mediante el protocolo 200x200 de Cirrus-HD.

Figura 17: Gráfico comparando el calibre en el CRAE en los dos grupos.

Figura 18: Gráfico comparando calibre del CRVE en los dos grupos.

Figura 19: Gráfico comparando calibre del CRAE en los dos grupos.

Figura 20: Gráfico comparando espesor de la RNFL en los participantes del estudio.

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1: Datos clínicos de los niños incluidos en el estudio agrupados por la puntuación z del índice de masa corporal (z-IMC).

Tabla 2: Parámetros clínicos y bioquímicos de los niños incluidos en el estudio.

Tabla 3: Calibre vascular retiniano de los niños del estudio

Tabla 4: Coeficientes de correlación parcial de Pearson entre CRAE y marcadores cardiometabólicos.

Tabla 5: Coeficientes de correlación parcial de Pearson entre CRVE y marcadores cardiometabólicos.

Tabla 6: Coeficientes de correlación parcial de Pearson entre AVR y marcadores cardiometabólicos.

Tabla 7: Datos clínicos de los niños incluidos en el estudio agrupados por la puntuación z del índice de masa corporal (z-IMC).

Tabla 8: Datos clínicos, antropométricos y analíticos de los niños incluidos en el estudio en función de z-IMC.

Tabla 9: Espesor de la capa de fibras nerviosas (RNFL) en los niños del estudio en función de su z-IMC.

Tabla 10: Correlación parcial de Pearson (r) ajustado por edad, sexo y estadio Tanner entre la media del log de la RNFL y datos clínicos y bioquímicos de todos los niños.

[Escriba aquí]

[Escriba aquí]

I.- INTRODUCCIÓN:

I.- INTRODUCCIÓN:

1.- OBESIDAD

1.1.- PREVALENCIA E IMPACTO DE LA OBESIDAD INFANTIL.

La obesidad se ha convertido en una pandemia, alcanzando niveles alarmantes tanto en países industrializados (donde aumenta constantemente) como en los países en vías de desarrollo (1) (2). Según el estudio NHANES III "National health and nutrition examination survey" (3) la obesidad aumentó en 30% en los adultos mayores de 20 años en los Estados Unidos. En los países en desarrollo con economías emergentes (clasificados por el Banco Mundial como países de ingresos bajos y medianos) la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil entre los niños en edad preescolar supera el 30%. Si se mantienen las tendencias actuales, el número de lactantes y niños pequeños con sobrepeso aumentará a 70 millones para 2025. (4).

En Europa se ha apreciado un incremento mayor en los países de la cuenca mediterránea. (5). Así, en la población española, la prevalencia de la obesidad infantil ha aumentado considerablemente. Se ha estimado en un 16,8% de niños obesos, superando las cifras de niños estadounidenses de misma edad (6).

Está ampliamente demostrado que la obesidad es un factor de riesgo de morbilidad y mortalidad a nivel cardiovascular, con una gran morbi-mortalidad intrínseca, que incluye enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial (HTA), osteoarticulares, respiratorias, neurológicas, gastrointestinales, endocrinológicas y metabólicas, apnea del sueño, alteración del estado emocional, baja autoestima, bajo rendimiento laboral-escolar, cáncer y otros muchos procesos secundarios, lo que la ha situado como la segunda causa de muerte prematura, con la particular característica de que "es potencialmente evitable" (7). Además la obesidad afecta a la calidad de vida de la población. El gasto económico derivado de la obesidad asciende al 7% del total del coste sanitario español, con cifras anuales aproximadas a los 2.500 millones de euros.

Hay que considerar que el organismo, tanto en estadios precoces "in utero" como durante la infancia y adolescencia, es particularmente vulnerable tanto a noxas de origen exógeno como endógeno. De hecho, muchos de los trastornos que se generan en la infancia, permanecen silentes durante años y se manifiestan en la edad adulta, pero la evidencia clínica apoya el hecho de que los factores de riesgo comienzan a actuar en edades tempranas de la vida, por lo que es esencial su identificación precoz.

De esta forma, las actuaciones en la infancia presentan la importancia de evitar problemas que pueden aparecer en la vida adulta, y esta característica en la situación de obesidad adquiere una gran importancia. Así, podemos establecer actuaciones especiales en los niños más susceptibles a las complicaciones, y evitar los efectos deletéreos de este problema de forma sistémica.

1.2 ESTADO INFLAMATORIO Y ESTRÉS OXIDATIVO.

La importancia y evolución de la obesidad va a depender principalmente del porcentaje de grasa acumulada, y sobre todo, de su distribución, siendo la grasa intra-abdominal o visceral la que conlleva mayor posibilidad de riesgo metabólico, con el desarrollo de trastornos tales como intolerancia a la glucosa, la resistencia a la insulina, y la arteriosclerosis. Está firmemente establecido el papel de la obesidad como factor influyente en la enfermedad cardiovascular, en el hígado graso, y en la patogenia de la dislipemia (8) y de la diabetes mellitus (9).

Recientemente, ha resurgido el interés por las alteraciones microvasculares en la obesidad, como factores determinantes de la génesis de complicaciones mayores (10). Los mecanismos involucrados en el desarrollo de la disfunción microvascular asociada a obesidad son básicamente los siguientes: Por una parte la microinflamación, con la consecuente liberación de diversas citoquinas proinflamatorias, que actuando a nivel del endotelio vascular, favorecen la aparición de radicales libres que disminuyen la disponibilidad de óxido nítrico (NO) y por lo tanto alteran su función vasodilatadora (11), y por otra parte por el estrés oxidativo. Éste es un factor primordial en la activación endotelial, con el paso de células endoteliales relativamente quiescentes a un estado en el que reclutan ávidamente a los leucocitos, promoviendo su adhesión y su penetración en el endotelio (12).

La noción de que la obesidad está asociada con un estado de estrés oxidativo proviene tanto de estudios clínicos como experimentales. En su génesis está implicada una alteración en la regulación de las adipocitoquinas (adiponectina, leptina, resistina), moléculas biológicamente activas, producidas y secretadas por el tejido adiposo, a consecuencia de una modificación en la masa grasa. Otras adipocitoquinas (factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleukina 6 (IL-6), pueden también actuar como mediadores inflamatorios a nivel endotelial, y favorecer a su vez la producción de estrés oxidativo a nivel celular. La RBP4 es una adipoquina que se asocia con el depósito de grasa visceral y el estado inflamatorio propio de la obesidad y ha demostrado recientemente asociarse con el estrés oxidativo (13) (14).

Respecto al estrés oxidativo, es consecuencia del desequilibrio entre la producción de especies reactivas (ROS) y la defensa antioxidante. Los lípidos constituyen la primera línea del ataque del ROS, y la demostración de la alteración lipídica "in vivo" puede efectuarse con la medición de lipoperóxidos, o de sus productos derivados, principalmente aldehídos como el malondialdehído-MDA, y alkanos como el 4OH-nonenal (15). Así mismo, la medida de los isoprostanos, que son productos de la lipoperoxidación del ácido araquidónico a través de un mecanismo mediado por los radicales libres, ha sido validada como marcador in vivo de estrés oxidativo, demostrándose que su elevación constituye un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (16).

Junto a la oxidación de los lípidos, las proteínas también son muy vulnerables al ROS, ya que generan una alteración en sus propiedades, y podrían incluso llegar a

modificar su antigenicidad, dificultando su reconocimiento por parte de los receptores celulares. Además, la oxidación del DNA, que se puede determinar a través de la determinación de las bases modificadas, como la 8-OH-deoxiguanosina (8 OHdG), puede alterar la expresión de los genes e influir en una mayor facilitación para la respuesta inflamatoria (17). Por tanto, la determinación de estos marcadores en conjunto puede proporcionar una aproximación básica a la valoración de estrés oxidativo en el sujeto.

Por otro lado, la determinación de las defensas antioxidantes endógenas, como los eliminadores de radicales libres tipo glutatión y su precursora la cisteína, nos pueden indicar la capacidad de reacción frente a la lesión oxidativa y constituir otra alternativa de aproximación al problema ya que ayudan a la metabolización y eliminación de peróxidos y sus metabolitos, así como de otros oxidantes (18).

Por tanto, se ha sugerido que los efectos pro-inflamatorios y pro-oxidantes del aumento de la adiposidad representan un vínculo potencial entre la obesidad y riesgo cardiovascular (19)

1.3.- CAMBIOS EN LA MICROCIRCULACIÓN.

Se ha planteado la hipótesis de que alteraciones en la microcirculación pueden conducir al desarrollo de lesiones en vasos de mediano y gran calibre (20). La disfunción microvascular en la obesidad puede contribuir a la génesis de distintas lesiones en órganos diana como el cerebro, corazón, ojos y riñones.

Los procesos microvasculares contribuyen a la patogenia de la diabetes mellitus (DM) y HTA, y se han relacionado con la resistencia insulínica y el síndrome metabólico (21). La detección precoz de la lesión microvascular constituye un objetivo para la prevención y tratamiento de las consecuencias a largo plazo de la obesidad (22).

La obesidad infantil presenta además el agravante de que las alteraciones van a estar presentes de forma precoz, con lo que sus efectos serán patentes en edades tempranas de la vida y se prolongarán a lo largo de la misma. La relación entre la obesidad y los cambios estructurales y funcionales a nivel de los pequeños vasos no ha sido esclarecida en la edad pediátrica, ya que las conclusiones de los distintos autores son contradictorias. Para valorar al paciente obeso, debemos partir del desarrollo de los tres parámetros clásicos e incluir aquellos más sobresalientes entre los emergentes, es decir: los antropométricos, los clínicos y los moleculares, ya que la integración de los resultados aportados por ellos probablemente nos depare información esencial para el futuro del niño.

Consideramos, por tanto, que para investigar adecuadamente las consecuencias de la obesidad infantil y su repercusión en la morbi-mortalidad del adulto, es fundamental un examen multidisciplinario, incluyendo exámenes pediátricos,

oftalmológicos y bioquímicos mediante los métodos más modernos y asequibles para la edad del paciente.

2.- EL OJO

2.1.- GENERALIDADES SOBRE LA FUNCIÓN VISUAL

El ojo humano es un órgano de características especiales que le confieren la posibilidad de visualización de forma incruenta de todos los cambios que ocurren en su interior mediante examen "in vivo", reflejando tanto procesos locales como sistémicos (23). Dichos cambios poseen un valor intrínseco fundamentalmente predictivo y pronóstico para evaluar no solo enfermedades oftalmológicas sino los efectos de enfermedades sistémicas con repercusión ocular como en el caso de las complicaciones de la diabetes mellitus (DM), la hipertensión arterial (HTA), enfermedad cardiovascular (ECV), así como de encefalopatías, enfermedades neurodegenerativas, conectivopatías, tumores intracraneales, y otros procesos (24) (25)

Además, los nuevos sistemas de exploración computerizada, los modernos programas de perimetría automática, las retinografías y análisis de imágenes de fondo de ojo, la tomografía óptica de coherencia y las nuevas tecnologías que permiten el análisis de imágenes multimodal, ayudan a los oftalmólogos a realizar un diagnóstico precoz y determinante de cambios morfológicos en fases anteriores a la aparición de la alteración funcional (26) (27) (28).

Esas nuevas estrategias diagnósticas son esenciales para identificar factores de riesgo modificables o evitables, y aportan información pronóstica para la estratificación de riesgo cardiovascular y la progresión de la enfermedad subyacente (24).

La retina es una estructura que permite la aproximación directa y no invasiva para su estudio y dichos hallazgos se correlacionan como hemos dicho anteriormente no solo con la alteración neurológica local y sistémica, sino también con las anomalías microvasculares locales y sistémicas (29).

2.2.- ANATOMÍA DE LA RETINA Y DEL NERVIO ÓPTICO.

2.2.1 Elementos vasculares

Respecto a la vascularización de la retina, su parte interna está perfundida por ramas de la arteria central de la retina, cuyo origen es la primera rama de la arteria oftálmica. Ésta entra en el ojo y se divide en cuatro ramas: la arteria temporal superior, la temporal inferior, nasal superior y nasal inferior. Estas ramas están localizadas en la retina interna y divergen en ramas cada vez menores para

vascularizar cada cuadrante de la retina. Además, en el 30% de los ojos existe una arteria ciliarretiniana, que se ramifica desde la circulación ciliar, y que también vasculariza parte de la retina interna. Esta arteria ciliarretiniana, cuando está presente, contribuye a parte de la circulación macular, aunque puede vascularizar cualquier porción de la retina. De la misma manera el retorno venoso está a cargo de las vénulas que se agrupan en la vena temporal superior, la temporal inferior, la nasal superior y la nasal inferior agrupándose finalmente en la vena central de la retina (Figura 1).

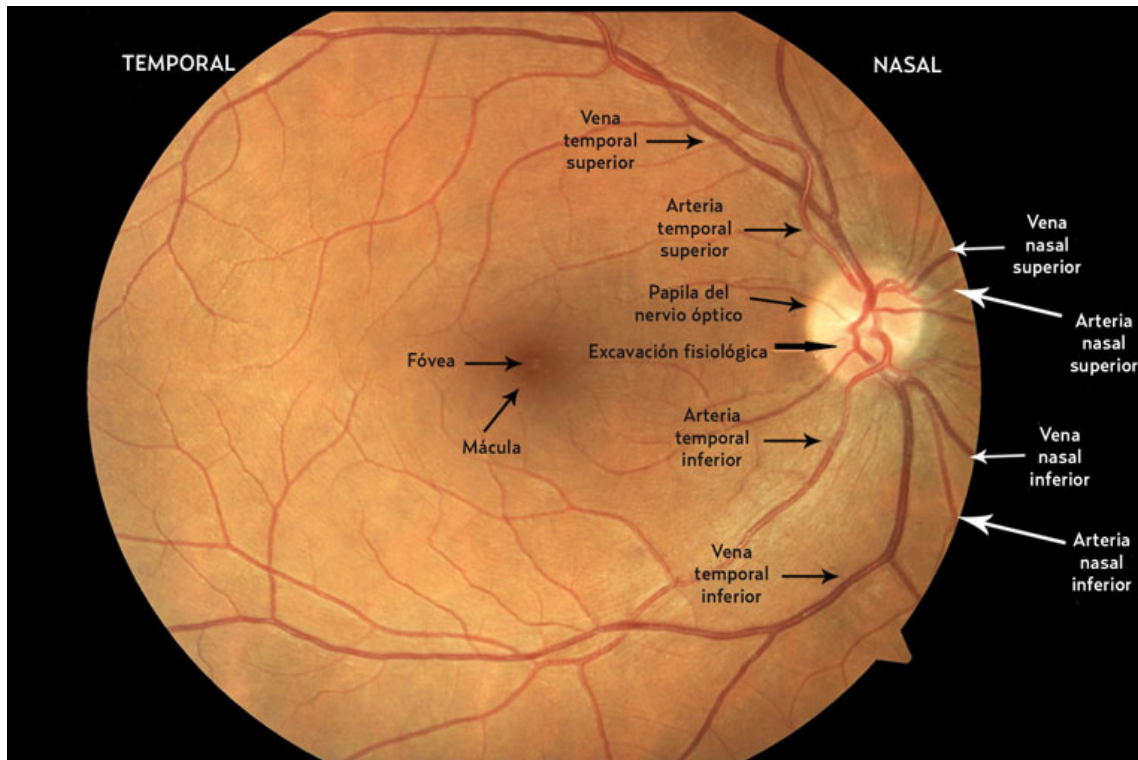


Figura 1: Fotografía centrada en fóvea. Muestra la disposición de las arterias y venas en la retina y su distribución en los cuatro cuadrantes. *Cortesía de Dra Fernández Revuelta*

A nivel histológico, la retina está vascularizada por dos capas capilares, una superficial entre la capa de células ganglionares y la CGN, y una más profunda en la capa nuclear interna. Las necesidades metabólicas de la retina externa, desde la porción externa de la capa nuclear interna hasta el epitelio pigmentario de la retina, son satisfechas por la coriocapilar, un sistema capilar de las arterias coroideas que se ramifica desde las arterias ciliares.

2.2.2. Elementos neuronales

La retina se encarga de recibir los estímulos luminosos del exterior y mediante el proceso conocido como fototransducción, los transforma en un impulso eléctrico que viaja desde los fotorreceptores a través de todas las capas retinianas y que

abandona el globo ocular por las fibras del nervio óptico para viajar a través de la vía óptica hasta llegar a la corteza occipital, donde se procesan las imágenes.

La mácula es la porción de la retina posterior que desempeña una función esencial para la visión cuando enfocamos los objetos en un punto concreto. Es la visión más perfecta, discriminativa y completa.. El límite convencional de la mácula, definido histológicamente, es la zona que tiene dos o más capas de células ganglionares, que mide de 5 a 6 mm de diámetro y está centrada verticalmente entre las arcadas vasculares temporales (Figura 2). En su composición bioquímica destaca la presencia de pigmentos xantófilos de un color pardo-amarillento, los carotenoides, en particular la luteína y la zeaxantina, se acumulan dentro de la mácula central.

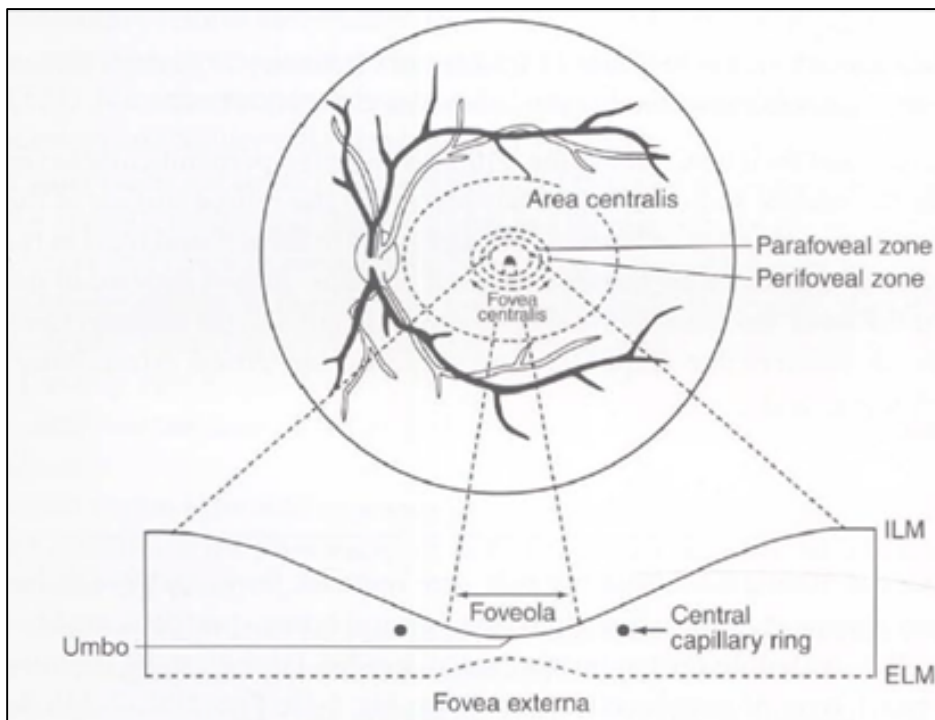


Figura 2: Mácula anatómica, también denominada área central. Fóvea anatómica y foveola situadas dentro del centro de la mácula. Extraído de American Academy of Ophthalmology 2010-2011.

La porción central de 1,5 mm de diámetro de la mácula está formada por la fovea que, por su anatomía y composición en fotorreceptores, está especializada para la máxima agudeza visual y la visión del color (Figura 3).

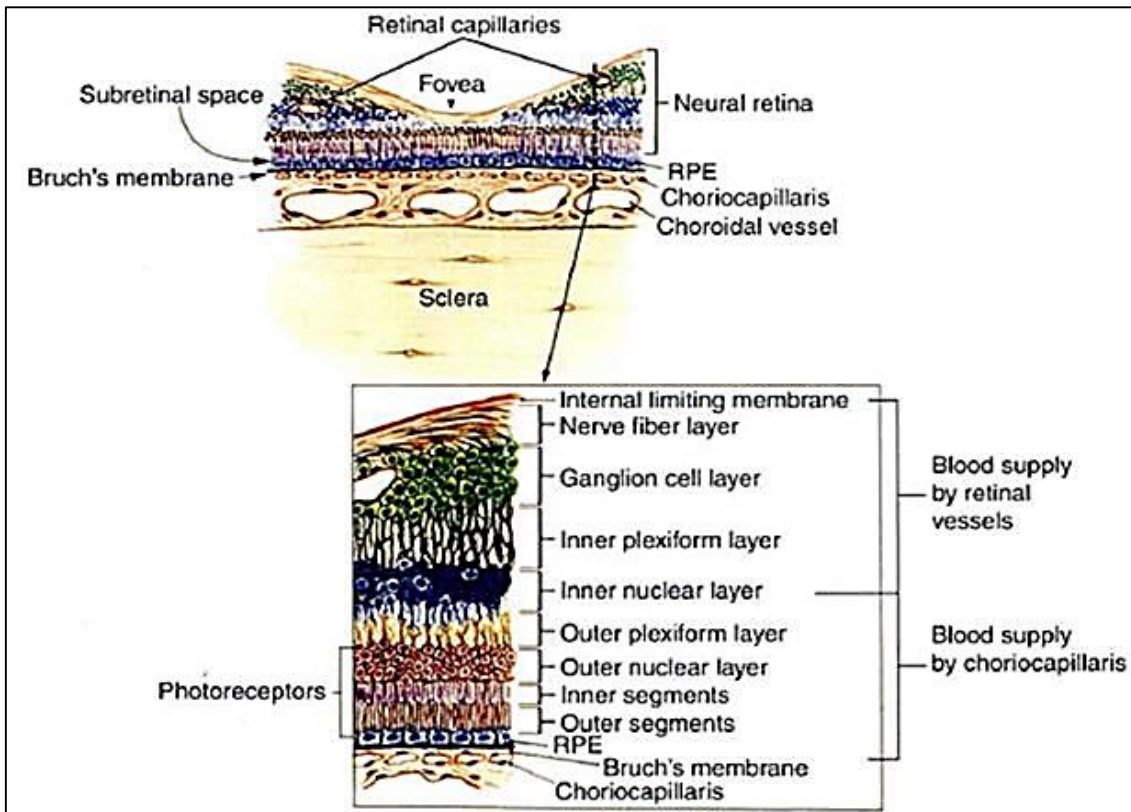


Figura 3: Sección transversal esquemática de la retina que muestra las capas de la retina con la localización aproximada de la vascularización de estas capas. *Extraído de Academy of Ophthalmology 2010-2011.*

Las capas de la retina se observan claramente diferenciadas en preparaciones histológicas de corte transversal (Figura 4)

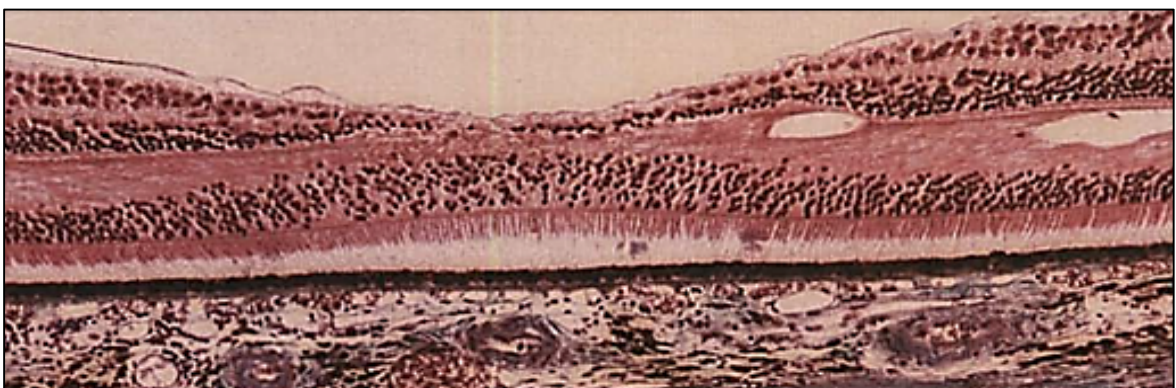


Figura 4: Microfotografía de la mácula. *Extraído de American Academy of Ophthalmology 2010-2011 (Fotografía por cortesía de Thomas A. Weingeist, PhD, MD)*

La retina neurosensorial se subdivide en varias capas. Con orientación desde la retina externa hacia la interna se pueden apreciar tal y como se refleja en la figura 5:

- **Los segmentos de los fotorreceptores: conos y bastones.** Cada célula fotorreceptora consta de un segmento externo y uno interno como se ve en detalle en la figura .6 y el conjunto de los mismos da lugar a la capa de los segmentos externos e internos de los fotorreceptores (SEF/SIF).
- **La membrana limitante externa.** Se encuentra inmediatamente después de los segmentos externos (conos y bastones). No es una verdadera membrana porque es la unión de los pseudópodos de las células de Müller
- **La capa nuclear externa,** que está formada por los núcleos de las células fotorreceptoras, conos y bastones.
- **La capa plexiforme externa.** Son las sinapsis de los fotorreceptores con las células horizontales y bipolares. En la región macular, esta capa es más gruesa y contiene más fibras, debido a que los axones de los conos y bastones se hacen más largos y más oblicuos, ya que se desvían de la fóvea. Esta región, es conocida como la capa de fibras de Henle.
- **La capa nuclear interna.** Contiene núcleos de células horizontales, amacrinas y bipolares. Habitualmente los vasos sanguíneos de la retina no se suelen extender más allá de este punto.
- **La capa plexiforme interna.** Membrana sináptica formada por los axones de las células bipolares y amacrinas y dendritas de las células ganglionares y sus sinapsis.
- **La capa de células ganglionares.** Compuesta por células ganglionares que se encuentran cerca de la superficie interna de la retina.
- **La capa de fibras nerviosas:** Formada por los axones de las células ganglionares que se localizan en la retina en esta capa de fibras nerviosas retinianas (CFNR). Dichos axones se rodean de la vaina de mielina, convirtiéndose en mielinizados tras su paso por la lámina cribosa del nervio óptico, en el que se ubican y a través del que se distribuyen por la vía óptica.

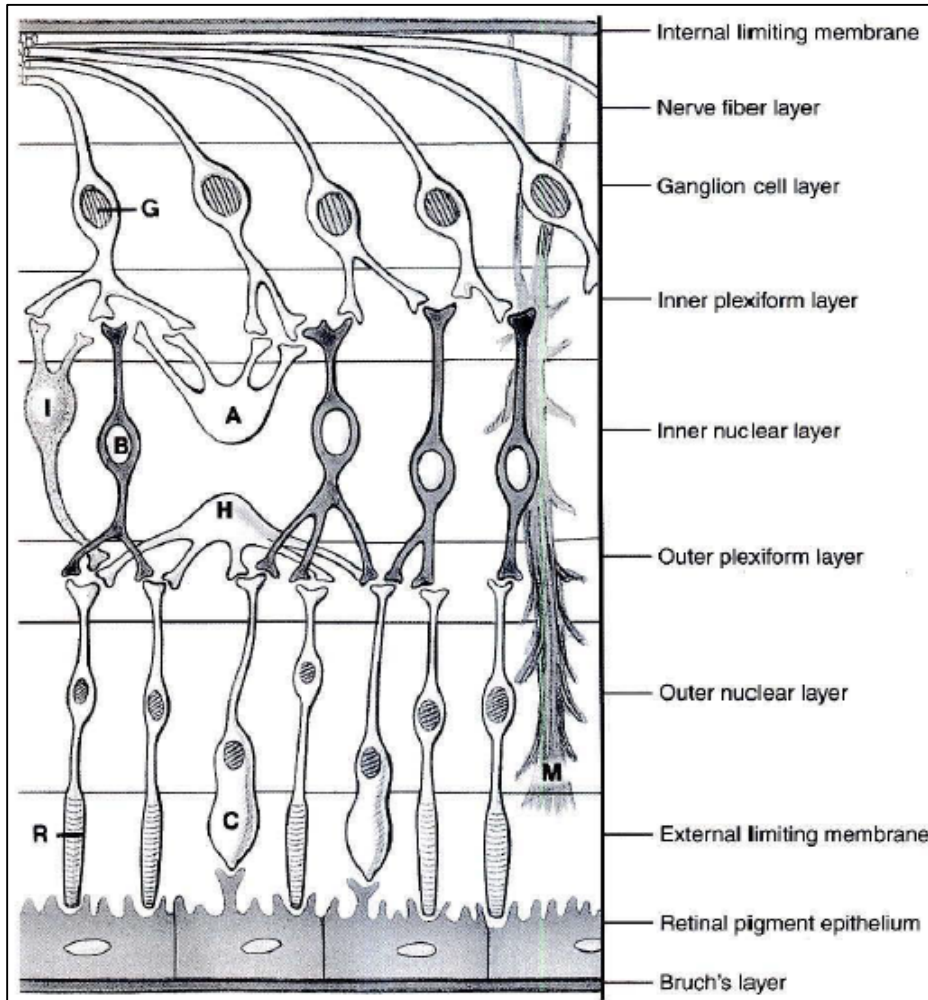


Figura 5: Diagrama esquemático de los tipos celulares y las capas histológicas de la retina humana. Se representa la relación básica entre los fotorreceptores bastones (R) y conos (C) así como las neuronas bipolares (B), horizontales (H), amacrinas (A), plexiformes internas (I), y ganglionares (G). Fuente: American Academy of Ophthalmology 2010-2011

Como vemos en el esquema anterior, la luz que incide sobre la retina debe atravesar toda la retina para llegar a los fotorreceptores.

En la mayoría de las células nerviosas, una despolarización transitoria genera un “pico” de potencial de acción; sin embargo, los fotorreceptores presentan una respuesta gradual, de modo que los cambios de la polarización de la membrana son proporcionales a la cantidad de luz estimulante. La respuesta se modifica en cierta medida por las células horizontales, que establecen sinapsis con los fotorreceptores adyacentes, e inhiben o facilitan el proceso. Las conexiones neuronales retinianas son muy complejas debido a las diferentes sinapsis que establecen las células entre sí. En líneas generales podríamos decir que existen diferentes tipos de células: las bipolares, amacrinas, ganglionares y los fotorreceptores, más de 120 millones de bastones y 6 millones de conos que se encuentran interconectados para que la respuesta de la retina neurosensorial sea significativa.

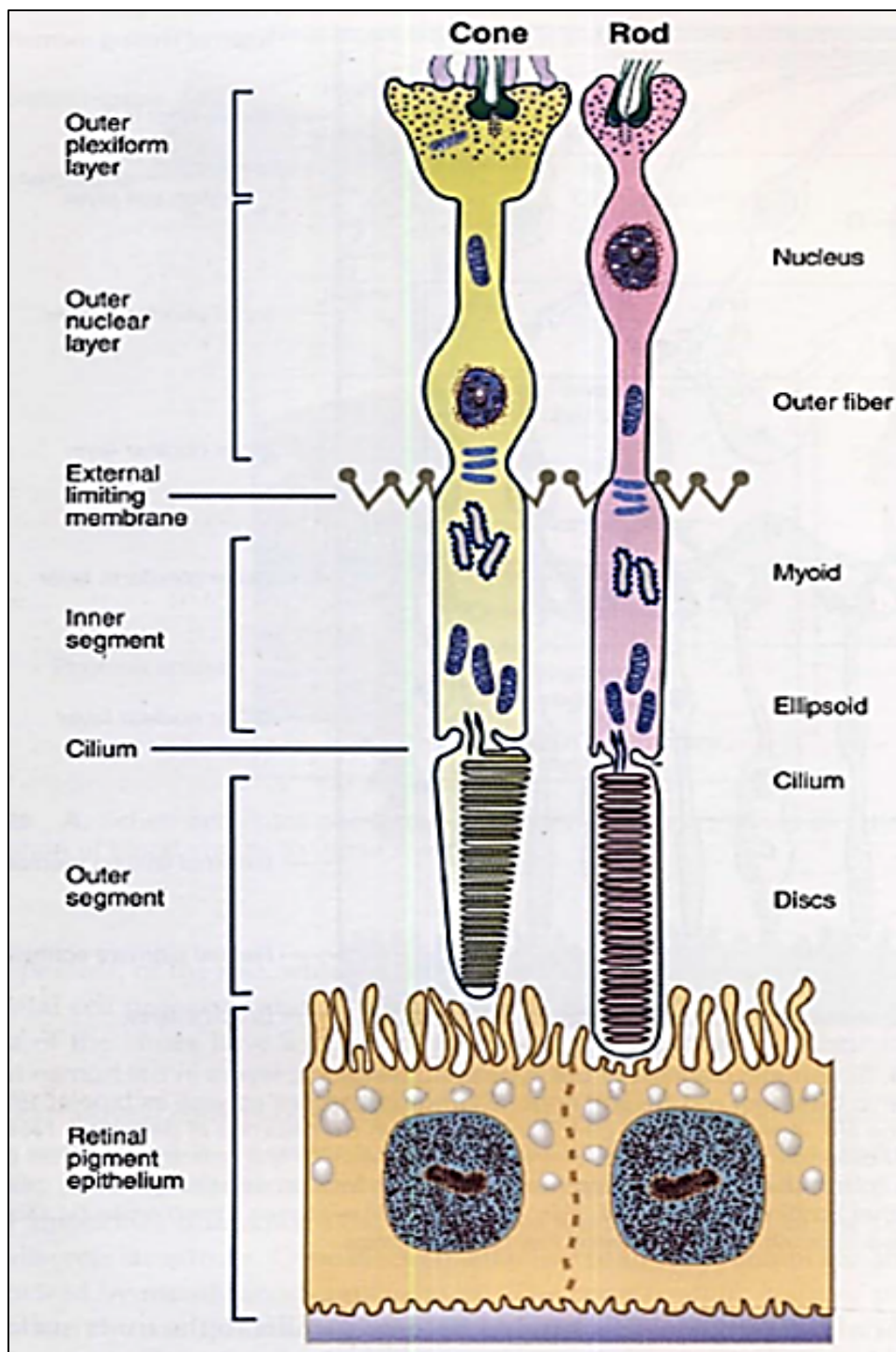


Figura 6: Células fotorreceptoras: bastones y conos. Fuente: American Academy of Ophthalmology 2010-2011.

Los axones de las células ganglionares realizan un cambio de dirección brusco, doblándose en un ángulo de 90° , para situarse en paralelo a la superficie interna de la retina donde forman la CFNR que como hemos comentado constituirán los axones del nervio óptico (Figura 7). La conformación de los axones nerviosos y el área de información de la retina que recoge cada uno de ellos es muy importante para

garantizar un campo visual adecuado. De esta manera, mientras que las fibras nerviosas de la retina temporal siguen su curso en forma de arco alrededor de la mácula para entrar en el polo superior e inferior de la papila óptica, las fibras papilomaculares viajan directamente al nervio óptico haciendo un trayecto muy corto, y los axones nasales siguen un curso radial hasta la cabeza del nervio, como se observa en la figura 7.

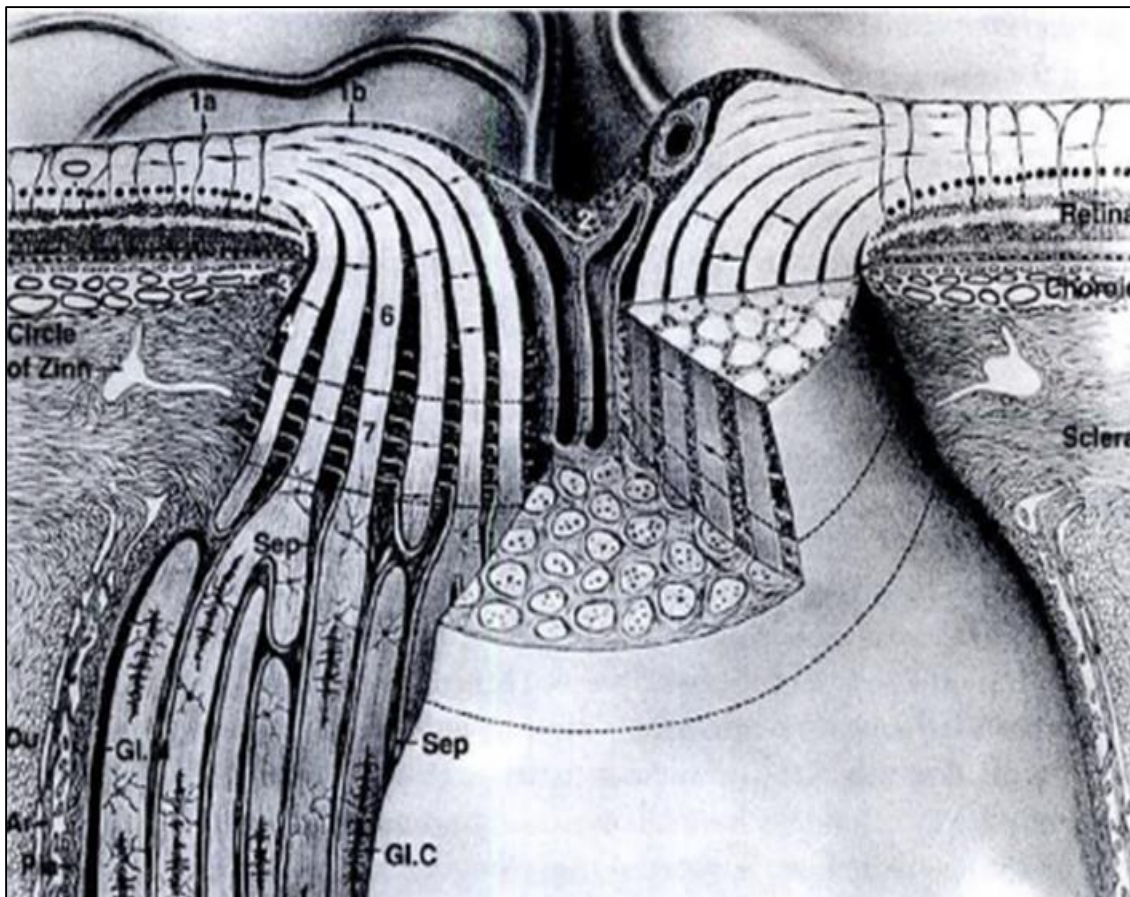


Figura 7. Dibujo tridimensional de la cabeza del nervio óptico. Se observa cómo se unen los axones de las células ganglionares de la retina para constituir fascículos del nervio óptico. Éstos se milinizan tras su paso por la lámina cribosa, aumentando considerablemente el diámetro del nervio óptico. Fuente: American Academy of Ophthalmology. (Reproducido con autoización de Anderson DR, Hoyt WF.)

2.2.3 Nervio óptico

El nervio óptico constituye la conexión nerviosa entre la retina neurosensorial y el ganglio geniculado lateral del tálamo (en la vía óptica intracraneal). El nervio óptico está formado por neuronas, células gliales, matriz extracelular, y vasos sanguíneos. Posee entre 1.2 a 1.5 millones de axones de las células ganglionares retinianas (CGR). Los cuerpos neuronales o somas de las CGR residen en la capa denominada como de las células ganglionares de la retina, como se puede apreciar en la figura 5.

El nervio óptico se subdivide anatómicamente en dos secciones: el nervio óptico anterior y el nervio óptico posterior. El nervio óptico anterior se extiende desde la superficie de la retina hasta la región retrolaminar, justo por donde sale el nervio del globo ocular. El diámetro de la cabeza del nervio óptico y su porción intraocular del nervio óptico es de aproximadamente 1,5mm; se expande para aproximadamente 3-4mm inmediatamente después de salir del globo. Este aumento de tamaño se debe a la mielinización axonal, tejido glial, y el comienzo de las leptomeninges, la vaina del nervio óptico (Figura 8).

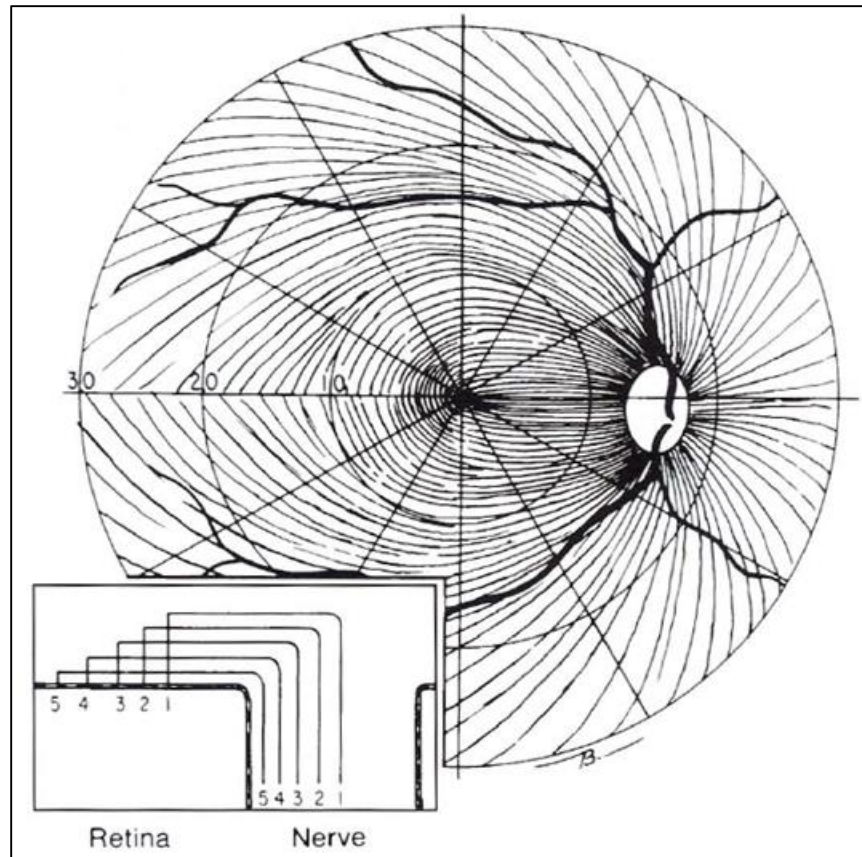


Figura 8. Anatomía de la distribución de las fibras nerviosas retinianas. El cuadro muestra un corte de la disposición de los axones. Las fibras periféricas discurren más cerca de la coroides y discurren por la periferia del nervio óptico, mientras que las fibras que se originan cerca de la papila están más próximas al vítreo y ocupan una porción más central del nervio.

Esta figura muestra la distribución de las fibras nerviosas a medida que entran en la cabeza del nervio óptico y como podemos ver, las fibras nerviosas arciformes que penetran en los polos superior e inferior del disco parecen ser más susceptibles al daño glaucomatoso. La disposición de los axones en la cabeza del nervio óptico y su susceptibilidad diferencial a la lesión hace que la pérdida campimétrica sea diferente.

Así pues debido a esta distribución anatómica de los axones de las células ganglionares de la retina, una disminución en la capa de fibras nerviosas de la retina, en inglés "retinal nerve fiber layer" (RNFL), en un sector de la papila tendrá una repercusión específica en el área afectada del campo visual. Tal y como muestra la Figura 9.

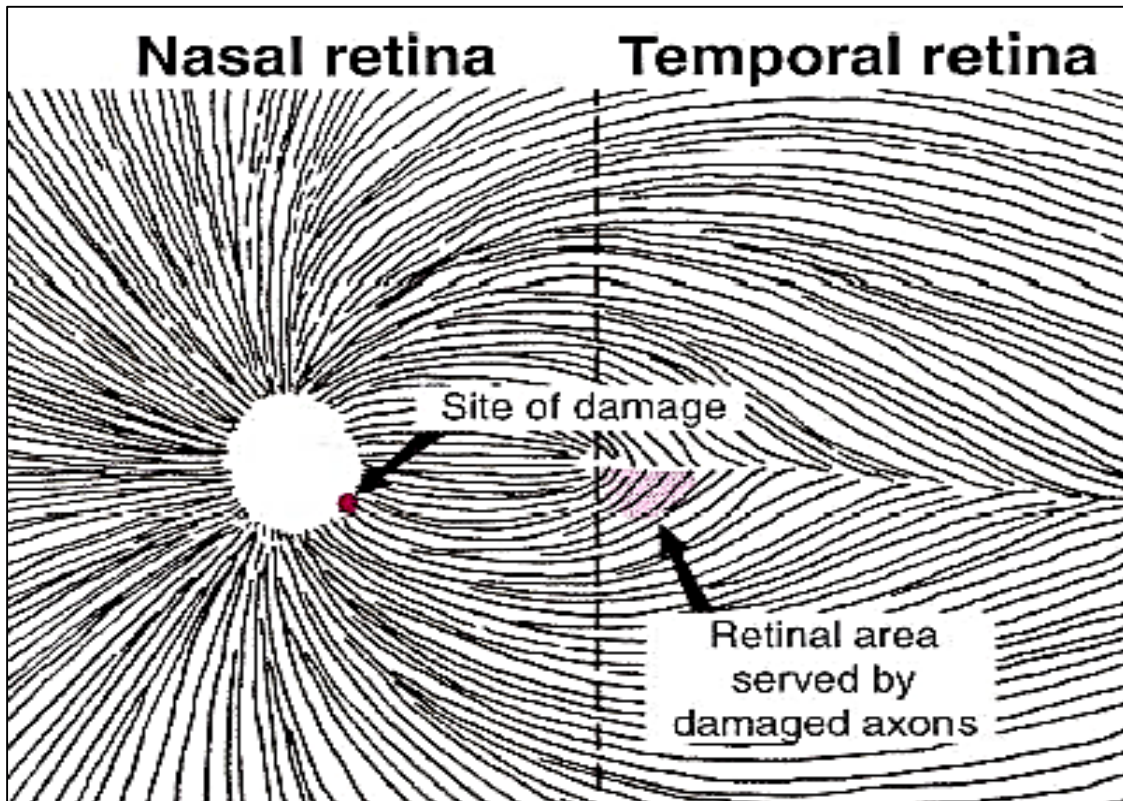


Figura 9: Distribución de los axones de las CGR. Esta imagen es un ejemplo de la importancia del sector de disminución de la RNFL en la papila. El sector temporal está constituido por los axones de células ganglionares provenientes de la región parafoveal, mientras que una disminución en la RNFL en cuadrante nasal correspondería a un área menos importante desde el punto de vista funcional para la visión. American Academy of Ophthalmology 2010-2011.

2.3. LA RETINA. VASCULARIZACIÓN RETINIANA

2.3.1 El examen morfológico de la retina. La retinografía

Desde que surgieron las primeras lentes de amplificación, se puede observar la red vascular de la retina in vivo y de manera no invasiva.

Durante una exploración del fondo de ojo los rayos luminosos que emergen de la lámpara de hendidura, atraviesan la lente de magnificación y la pupila para iluminar la retina. De esta manera podemos observar con grandes aumentos y con claridad la retina, la vascularización retiniana y la cabeza del nervio óptico.

Las características de las arteriolas y de las vénulas retinianas nos ofrecen información muy valiosa para el estudio del sistema vascular, y es una exploración imprescindible en el estudio de diferentes vasculopatías de pequeño calibre, como la HTA o la retinopatía diabética. Su importancia radica no solo en la valoración de la enfermedad oftalmológica sino sobre todo en la extrapolación de los hallazgos funduscópicos en el resto de la microvascularización. Así, mediante un examen de fondo de ojo nos puede alertar de los cambios que existen en la microvascularización cerebral o renal.

No obstante, resulta muy difícil cuantificar a simple vista los cambios precoces en la microvascularización retiniana únicamente con la oftalmoscopia, debido a las sutiles diferencias es estadios incipientes, a la apreciación inter-individual de los examinadores y a los distintos sistemas de comparación de resultados lo que hace que sea difícil establecer cambios o progresión.

El avance tecnológico de los últimas dos décadas en fotografía digital, ordenadores y procesadores de imagen ha llegado a todos los campos de la medicina pero es especialmente relevante en la oftalmología. La microvascularización retiniana es inigualable puesto que es la única parte de la circulación humana que puede ser observada directamente y fotografiada, y permitiendo un análisis digital de la imagen. A pesar de que las imágenes digitales todavía no ofrecen la resolución de las fotografías convencionales, actualmente existen sistemas de imagen digital que ofrecen una resolución suficientemente alta para su estudio. Además, la imagen digital tiene la ventaja de poder almacenarse sin deterioro por el tiempo, ser enviada a largas distancias, ser procesada para mejorar la calidad etc. Pese a todas estas ventajas, la más relevante es que permite realizar un análisis objetivo de la imagen del fondo de ojo sin que influya el cansancio del observador (30), lo que puede ser utilizado en programas de diagnóstico automatizado tal y como se han realizado durante los últimos 15 años para el screening de retinopatía diabética, degeneración macular asociada a la edad, y retinopatía del prematuro (31) (32) (33).

Además, las medidas de la vascularización retiniana a partir de un análisis de imagen digital de una retinografía han sido utilizados en investigación para comprender mejor la relación entre la microvascularización retiniana y la enfermedad cardiovascular. De hecho, gracias a los avances en transmisión de

datos en la red se pueden utilizar los procesadores de imagen en “teleoftalmología”, sobre todo en áreas rurales, como ayuda para orientar la decisión clínica (34) (35).

La adquisición de imágenes se realiza mediante una cámara de fondo de ojo (midriática o no midriática) que incorpora una cámara digital. La cámara digital trabaja igual que una convencional excepto que en vez de tener una película utiliza una tarjeta de memoria como sensor de imagen. Al capturar la fotografía, éste convierte la imagen de luz análoga en una imagen pixelada (30). Con esta fotografía digital de la retina (retinografía) podemos trabajar para hacer diferentes mediciones.

2.3.2 El examen morfométrico de la retina. Desarrollo de fórmulas para calcular el calibre vascular retiniano. Estudios en niños y adultos sanos.

Para poder investigar la geometría vascular retiniana, era necesario cuantificarla en datos objetivos y de una manera reproducible. Así, ya en 1966 Stokoe y Turner (36) sugirieron que el cociente arteria/vena (AVR) era un buen parámetro. Se trataba de un cociente entre la media de los diámetros arteriulares retinianos respecto a los de las vénulas. Pero, seguía siendo necesario encontrar una fórmula que calculara la anchura de todos las arteriolas en un único dato, y la de las vénulas en otro único dato, ya que debido a la variación individual en el número de bifurcaciones vasculares de los troncos arteriales y venosos (37), resultaba complicado expresar el calibre general de los vasos retinianos.

Hasta que ya en 1974 Parr y Spears (37) (38) desarrollaron un método para cuantificar el calibre equivalente arterial central (CRAE) de la retina y más tarde, en 1992 Hubbard *et al.* (39) continuaron con el abordaje de Parr y Spears para cuantificar el calibre venular equivalente central (CRVE) .Sus métodos tenían en cuenta la relación entre los troncos vasculares y sus ramas principales.

La fórmula de Parr y Spears (1974) se basaba en realizar una estimación de los troncos arteriulares y de sus ramas en una zona concéntrica definida a partir del disco óptico. Cada vaso individual se medía, y los vasos apareados se combinaban para estimar el tronco del vaso, y después los troncos apareados se combinaban, y este proceso repetitivo se continuaba hasta que todos los vasos habían sido combinados en una media que era el CRAE. La fórmula que ellos utilizaban es la siguiente:

<p>Para el cálculo del CRAE:</p> $W_c = \sqrt{0.87W_a^2 + 1.01W_b^2 - 0.22W_aW_b - 10.76}$
--

Donde W_c es el calibre del tronco arteriolar, W_a el calibre de la rama arteriolar más estrecha y W_b el calibre de la rama arteriolar más gruesa. .

La fórmula de Hubbard para el cálculo del CRVE:

$$W_c = v(0.72W_a^2 + 0.91 W_b^2 + 450.05)$$

Donde W_c es el calibre del tronco venular, W_a el calibre de la vénula más estrecha y W_b el calibre de vénula más gruesa.

Sin embargo, estos métodos para calcular el CRAE y el CRVE dependían del rastreado cuidadoso de las ramas de los troncos, eran muy laboriosos y consumían demasiado tiempo

Así, en 1999 Hubbard desarrolló una fórmula, a partir de los resultados de Parr en 1974 y los suyos propios en 1992, en la que se permitía aparear los vasos de manera arbitraria, así el vaso arteriolar más grueso se combinaba con el más estrecho, el segundo más grueso con el segundo más estrecho, etc. Ésto continuaba hasta que todos los vasos habían sido combinados, y con los diámetros venulares lo mismo. Esta técnica ofrecía claras ventajas ya que se empleaba menos tiempo.

Las fórmulas de Parr-Hubbard fueron utilizadas en diferentes estudios (40) (41) para medir el diámetro arterial retiniano y el diámetro venular retiniano en fotografías de fondo de ojo con resultados consistentes y reproducibles.

En cambio, en estudios posteriores (42) se ha observado que existen ciertas limitaciones en la fórmula, sobretodo dos. La primera es que su cálculo permite la medición de un número variable de diámetros vasculares en cada ojo para hallar el calibre vascular equivalente. De modo que, por ejemplo, al aumentar el número de vasos incluido en el cálculo aumenta el calibre vascular retiniano equivalente y disminuye potencialmente la capacidad de encontrar diferencias significativas. La otra limitación es que la fórmula incluye términos constantes en las ecuaciones, y ésto hace que el resultado sea dependiente de las unidades de medida (micrones, pixels...).

De modo que en 2003 Knudson *et al.* (42) desarrollaron una nueva fórmula para calcular el CRAE y el CRVE libre de esas dos limitaciones y, comparó su fórmula revisada con la desarrollada por Parr-Hubbard obteniendo que no existen diferencias significativas entre ambas y validando su fórmula como reproducible.

La fórmula revisada utiliza únicamente las mediciones de los diámetros de las 6 arteriolas y vénulas de mayor calibre de la retina para calcular el equivalente retiniano arterial y venular, medidos a través de fotografías del fondo de ojo.

Para compensar la variabilidad en el número de bifurcaciones en cada ojo, la relación entre los troncos y las ramas se calcula de manera empírica mediante el Coeficiente Braquial:

$$\text{[Coeficiente Braquial} = (w_1^2 + w_2^2)/W^2 \text{]} \text{ } ^{-}$$

Donde w_1 , w_2 , y W son respectivamente, el calibres de la rama más estrecha, el de la rama más gruesa y el tronco.

Se estimó en Coeficiente Braquial de manera separada para arteriolas y vénulas respectivamente utilizando los datos de los 44 ojos de adultos normotensivos que Hubbard *et al.* habían utilizado para desarrollar su fórmula venular, obteniendo un Coeficiente Braquial = 1,28, comparable al Coeficiente Braquial teórico=1,26 (43).

Al insertar estas estimaciones en la fórmula anterior y resolver la W nos lleva a dos fórmulas para calcular el equivalente vascular aproximado.

Para arteriolas:	$W = 0,88 * (w_1^2 + w_2^2)^{1/2}$
Para vénulas:	$W = 0,95 * (w_1^2 + w_2^2)^{1/2}$

Donde w_1 y w_2 son las mismas que las descritas, y W es el tronco arterial o venular estimado,

Las llamaron CRAE-6 y CRVE-6 y se demostraron comparables a la fórmula clásica de Parr-Hubbard y no dependientes ni de número de vasos medidos ni de unidad de medición. Como resultad, obtenemos una fórmula más sencilla y más fácilmente aplicable.

Una limitación importante a la hora de efectuar mediciones en la vascularización retiniana es el estrecho calibre de las arteriolas lo que dificulta observar fiablemente cambios precoces en éstas. Éste hecho es de vital importancia ya que, se sabe que el estrechamiento generalizado de las arteriolas es un hallazgo precoz de retinopatía hipertensiva pudiendo predecir enfermedades cardiovasculares y mortalidad asociada (40).

Para evitar esta dificultad y sirviéndose de los hallazgos funduscópicos en la vascularización retiniana que había observado en 1945 Wagener *et al.* (44) Stokoe y Turner (1966) sugieren la utilización del cociente AVR como un índice sobre la severidad del estrechamiento arteriolar generalizado. El uso de este ratio implícitamente asume que, en la mayoría de los casos, el diámetro venular es relativamente constante y que no cambia con la tensión arterial (TA), edad, y otros factores. De modo que un cociente AVR bajo refleja el estrechamiento de las arteriolas presumiendo que el calibre venoso es estable.

Existen estudios recientes en los que, a pesar de que se miden los calibres arteriales y venosos en fotografías del fondo de ojo de manera separada, el cociente AVR se sigue utilizando como índice que refleja la severidad del estrechamiento arteriolar generalizado. (45) (46) El AVR tiene además una gran ventaja respecto a otras mediciones y es que es una medida relativa que combina la información de los dos brazos del sistema circulatorio (arterial y venoso) de modo que se controla las diferencias de magnificación de las lentes de la cámara fotográfica así como los errores refractivos. (47).

Además de los calibres arteriovenosos, también se ha estudiado la tortuosidad arteriolar retiniana, ya que en adultos se ha sugerido que ésta podría ser un marcador de riesgo cardiovascular (48). Sin embargo Owen et al en 2011 (49) demostraron que la tortuosidad arteriolar en niños de diferentes razas (caucásicos, negros africanos y caribeños y asiáticos,) no se asociaba a un aumento de la adiposidad.

Otro aspecto que se podría haber valorado para evaluar la vascularización retiniana es tener en cuenta la dimensión fractal (50). Este proceso describe cómo los vasos retinianos se ramifican en vasos más pequeños para rellenar un espacio bidimensional. A pesar de que se ha demostrado una asociación significativa entre factores de riesgo cardiovascular, por ejemplo HTA (51), y morbilidades, por ejemplo infarto agudo de miocardio (52), no se ha observado esta asociación entre la obesidad y la dimensión fractal, tal como muestra en sus resultados Gopinath (53) demostrando que a pesar de que el aumento de IMC en niños influye en el grosor calibre vascular retiniano, no influye en los patrones de ramificación vascular.

Así pues las únicas mediciones en las retinografías que han demostrado de manera consistente asociarse a la obesidad son las medidas del grosor de los calibres arteriales y venosos retinianos.

2.2.3 El examen morfológico y morfométrico de la microvascularización retiniana en la obesidad

2.2.3.1. Características del estudio en niños

Se sabe que la obesidad comienza a ejercer sus efectos a nivel sistémico en edades precoces de la vida (54), en periodos asintomáticos. Predispone a enfermedades crónicas en la edad pediátrica, como diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión (55), y a enfermedades cardiovasculares en la etapa adulta (56) (57) (58). No hay duda de su efecto nocivo en grandes vasos: el aumento del IMC en niños se relaciona de manera independiente con una mayor rigidez de la arteria carótida (59) así como un aumento en el grosor de su capa íntima y media, ambos hallazgos marcadores subclínicos de enfermedad arterioesclerótica de grandes vasos (60) (61) (62) (63). Sin embargo la asociación de obesidad y enfermedad microvascular ha sido menos estudiada en niños.

Como hemos descrito la vascularización retiniana puede ser observada directamente, así como medidos los calibres arteriovenosos retinianos para investigar los efectos de la obesidad en la microcirculación.

En adultos, existen estudios que relacionan el estrechamiento del calibre arterial retiniano con hipertensión (64), infarto (65), enfermedad coronaria (66) y diabetes (67), mientras que el engrosamiento de las vénulas se ha relacionado más con la inflamación (68), el síndrome metabólico (69) y la obesidad (70).

Recientemente se han realizado 3 estudios en personas mayores de 40 años que mostraban cómo la obesidad se asociaba con un mayor calibre venular retiniano, sugiriendo que la obesidad puede tener un efecto en la microvascularización retiniana en adultos (69) (70) (71). No obstante, la validez de esos resultados puede ser incierta debido a la dificultad de controlar factores de confusión (como la hipertensión arterial, diabetes, medicación, tabaco). De modo que la asociación independiente entre la obesidad y el calibre venoso retiniano es menos clara.

Con la premisa de que el efecto de la obesidad a nivel macrovascular se inicia en etapas precoces de la vida ya en periodos asintomáticos, estudiar la microvascularización retiniana en pacientes pediátricos aporta ventajas con respecto a los estudios realizados en adultos, de manera que podemos valorar el efecto de la obesidad “per se”, sin factores de riesgo cardiovascular asociados.

Los pacientes pediátricos habitualmente no presentan de factores de confusión y comorbilidades que se encuentran en los pacientes adultos como son la o la dislipemia. Por lo tanto, constituyen una población idónea para valorar los efectos de la obesidad por sí misma en la aparición de las alteraciones de la obesidad en la microvascularización.

2.3.3.2 Protocolos para la interpretación de las mediciones de los calibres vasculares retinianos. CRAE, CRVE y AVR

Sabemos que un cociente AVR bajo, así como una disminución en la CRAE refleja el estrechamiento generalizado de las arteriolas causado por HTA crónica, y éstos se han relacionado un aumento de las enfermedades cardiovasculares que, a su vez, favorecen las enfermedades cardiovasculares, incluyendo la enfermedad coronaria y el infarto agudo de miocardio. (72) (73) (74).

El CRVE, no obstante, refleja un estado inflamatorio de bajo grado. Varios estudios (Rotterdam, Beaver Dam Eye Study y el Multhi-Ethnic Study of Atherosclerosis) han demostrado la asociación entre altos niveles de la proteína C reactiva ultra sensible (hsPCR) y otros marcadores inflamatorios no específicos con un mayor calibre venular. De hecho se ha sugerido que el calibre venular retiniano podría ser un posible marcador de la inflamación sistémica. (75) (68).

Desde hace años se sabe que el estado inflamatorio está implicado en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares. (76) (77) y cerebrovasculares (78).

Además, se ha demostrado la utilidad de la hs-PCR como biomarcador específico de la inflamación y como predictor de las enfermedades cardiovasculares (79).

Estos hallazgos, sin embargo han sido observados en personas mayores de 45 años, mientras que en niños esta asociación está poco estudiada

Recientemente, en un estudio llevado a cabo por Hansen et al. en 2012 (80) en la población infantil encontraron que el marcador inflamatorio hs-CRP estaba asociado con un aumento del grosor del calibre venoso en niños, independientemente del IMC y de la TA. En dicho estudio los niños obesos mostraron un aumento de la hs-CRP así como un mayor grosor de los diámetros venulares. Incluso, los niños con síndrome metabólico tenían también un mayor grosor del calibre venular, ajustado por edad y sexo, mayor que los niños con sobrepeso que no presentaban síndrome metabólico. Todos estos hallazgos sugieren que el aumento de la inflamación sistémica parece ser un mecanismo en la patogénesis de la disfunción microvascular en la infancia, al igual que ocurre en los adultos.

Otro dato que apoya la influencia del daño metabólico en el grosor del calibre venoso lo presentan Klein et al en una población de niños con DM tipo 1 donde concluyen que un aumento de 10 micras en el CRVE se asocia con una mayor incidencia o progresión de la retinopatía diabética a 6 años vista. Sin embargo, no demuestran esta asociación con el CRAE. (81).

2.4 EL NERVIÓ ÓPTICO:

2.4.1 El examen morfológico del nervio óptico.

La papila óptica puede examinarse clínicamente con un oftalmoscopio directo, un oftalmoscopio indirecto, o un biomicroscopio de lámpara de hendidura con una lente de polo posterior. El oftalmoscopio directo proporciona una vista del disco óptico a través de una pupila pequeña. Sin embargo, el oftalmoscopio directo no proporciona suficiente detalle estereoscópico ni permite detectar cambios sutiles en la topografía del disco óptico. El oftalmoscopio indirecto se utiliza para el examen de la papila óptica en niños y pacientes que no cooperan. Con el oftalmoscopio indirecto se pueden detectar cambios en la excavación del nervio óptico y en la palidez de éste pero parecen menos pronunciados que con los métodos lámpara de hendidura, y el aumento es a menudo insuficiente para detectar detalles sutiles. Por lo tanto, el oftalmoscopio indirecto no se recomienda para uso rutinario en el examen el disco óptico. El mejor método de examen para el examen de la papila es la lámpara de hendidura con una lente 60, 78, o 90 dioptrías. El haz de la hendidura, es útil para determinar cambios sutiles en el contorno de la cabeza del nervio. Este sistema ofrece una gran ampliación, excelente iluminación, y una vista estereoscópica del disco.

Las técnicas con lámpara de hendidura requieren cierta colaboración del paciente y un tamaño pupilar moderado para visualizar correctamente la papila.

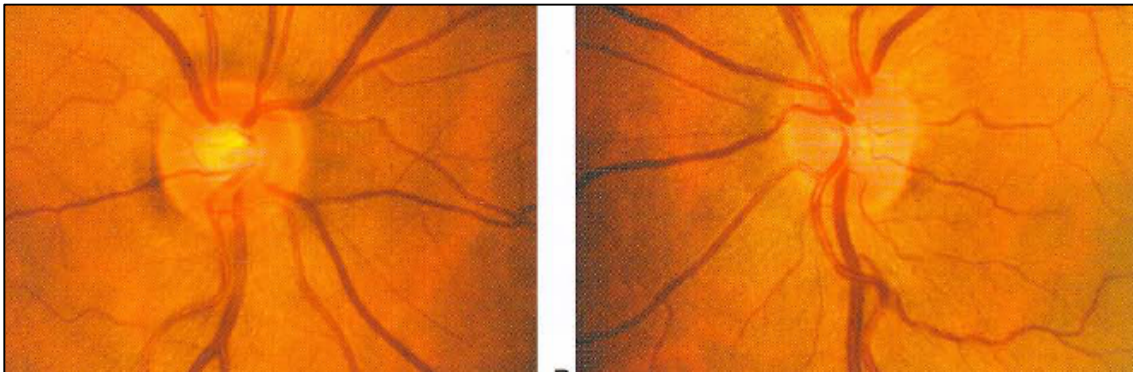


Figura 10. Retinografía que muestra simetría en la excavación papilar. Se puede observar fácilmente con el examen del fondo de ojo con lámpara de hendidura y lente de 90D.

2.4.2 El examen morfométrico del nervio óptico. La tomografía de coherencia óptica (OCT)

Desde 1850, se sabe que el aspecto de la cabeza del nervio óptico es crítico en la evaluación del fondo de ojo. Sin embargo, la valoración de la papila puede ser muy subjetiva y la variación ínter e intraobservador es mayor de lo deseable, dada la

importancia de una valoración correcta. Por lo tanto, está clara la necesidad de disponer de medidas fiables y objetivas de la papila y de la morfología capa de fibras nerviosas. En los últimos años se han desarrollado diversos sistemas sofisticados de análisis de imágenes para evaluar el disco óptico y la capa de fibras nerviosas retiniana. Estos instrumentos obtienen mediciones cuantitativas de varios parámetros anatómicos. (82)

Una manera de realizar una exploración minuciosa de la arquitectura del nervio óptico es con la tomografía de coherencia óptica (OCT) primera vez descrita por Huang et al (83), es un escáner que consigue imágenes de alta resolución utilizando el láser para captar imágenes in vivo de la retina. La tomografía de coherencia óptica aplica el principio de interferometría para interpretar la información reflectada mediante un análisis múltiple de escáner lineal-A combinado con cortes transversales. Un algoritmo automatizado basado en los cambios de reflexión entre líneas adyacentes en la retina calcula el grosor de fibras nerviosas alrededor del nervio óptico, la RNFL. Éste ha demostrado ser un método reproducible y que se correlaciona positivamente con las mediciones de la retina realizadas en autopsias.

La OCT permite el estudio tanto de la cabeza del nervio óptico como de la capa de fibras nerviosas. Además, dichas medidas no se ven afectadas por la refracción del sujeto, la longitud axial del ojo o la presencia de cataratas nucleares incipientes a moderadas (84).

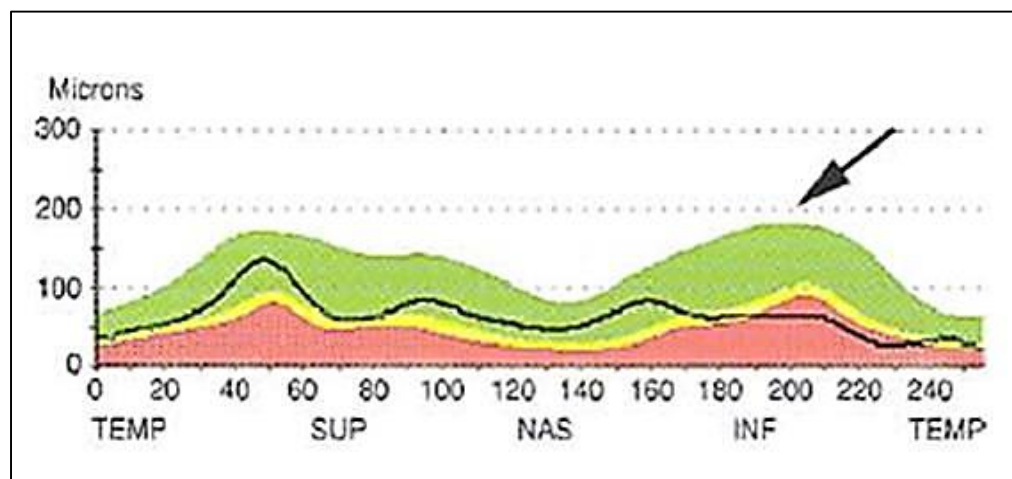


Figura 11 Análisis de la capa de fibras nerviosas retinianas mediante tomografía de coherencia óptica. Se observa el adelgazamiento del haz inferior.

2.4.2.1 Características del estudio en niños

A los niños les puede resultar complicado comunicar un problema de visión a los demás, sobretodo si tienen asociados otros problemas de desarrollo neurológico (85). Además, en ellos las pruebas objetivas de función visual pueden ser difíciles de evaluar con precisión y fiabilidad, y con frecuencia sólo son capaces de identificar deterioros de la visión graves. 2016. Puesto que casi todas las enfermedades que afectan al nervio óptico alteran su apariencia y producen cambios en el espesor de la RNFL (86) (87), resulta muy interesante la exploración del aspecto del nervio óptico y la medición de la RNFL mediante OCT. Podría ser útil como una medida objetiva de los niños en situación de riesgo, tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de las enfermedades que afectan al nervio óptico. Sin embargo, el disco óptico y la morfología de la RNFL están pobremente caracterizados en los niños (88).

El espesor de fibras nerviosas va a disminuir con la edad (89) por lo que los valores de la base de datos actual de la OCT no son aplicables a niños. No existe actualmente ninguna referencia normalizada para los parámetros normales del disco óptico y RNFL en personas menores de 18 años. Sin embargo, hay un gran número de pequeños estudios individuales (90) (91) (92), que se han elaborado bases de datos de la RNFL medidas por OCT en niños,) para poder realizar comparaciones entre RNFL en niños, al igual que se realiza en los adultos.

El interés para los oftalmólogos por tener una base de datos normalizada en niños es enorme, tal como demuestra la reciente revisión de Abril de 2016 (88), en la que recogen todos los estudios sobre mediciones de la RNFL en niños.

2.4.2.2 Protocolos para medición de parámetros de la cabeza y de la capa de fibras nerviosas

El espesor de la CFNR puede ser evaluado de manera objetiva y cuantitativa., Desde que se introdujo por primera vez la tomografía de coherencia óptica (OCT), en 1991 (93), ha demostrado ser capaz de calcular de manera fiable el espesor de la capa de fibras nerviosas.

Con el desarrollo tecnológico han aparecido las nuevas OCTs, con un dominio espectral (SD-OCT) que tienen una velocidad de barrido más rápida (24.000 a 55.000 A-scan /seg) lo que permite un menor tiempo de adquisición de imagen y la hace idónea para exploraciones en niños (94).

El protocolo 200 x 200 del nervio óptico de la Cirrus OCT permite calcular de modo reproducible tanto la media del espesor de fibras nerviosas del nervio óptico como el de cada uno de los cuadrantes, con un índice intraclase del 0,98 y una variabilidad 3.81 μm (95).

3.- JUSTIFICACIÓN:

La obesidad infantil está aumentando de manera exponencial durante las últimas décadas en los países desarrollados (96)

La obesidad es un factor de riesgo independiente para las enfermedades cardiovasculares. Además, la obesidad se caracteriza por un estado inflamatorio de bajo grado que produce alteraciones metabólicas a nivel sistémico, y que contribuyen al denominado síndrome metabólico. (97). Éste a su vez es también un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular en el adulto (72) (41) y por ende, un claro inductor de la afectación visual. No hay que olvidar que también la obesidad está relacionada con el aumento del riesgo de padecer procesos neurodegenerativos oftalmológicos o sistémicos, como la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) o las enfermedades de Alzheimer o Parkinson (98) (99) (100) (101).

Ha sido ampliamente descrito que el mecanismo más implicado en el desarrollo de las comorbilidades relacionadas con la obesidad es el estrés oxidativo (102).

Además, (103) han demostrado que las CGRs son particularmente vulnerables al estrés metabólico y oxidativo.

Por otra parte, entre los mecanismos patogénicos a nivel celular y molecular implicados en la lesión vascular destacan la disfunción endotelial, mediada por la disponibilidad del óxido nítrico, la microinflamación y el estrés oxidativo.

Además, diversos autores han descrito los cambios en el fondo de ojo debidos a la obesidad y a la microinflamación generada por ella. Estos cambios se caracterizan por una dilatación de las vénulas retinianas así como un estrechamiento de las arteriolas retinianas. Y hay que tener en cuenta que los hallazgos descritos en el fondo de ojo están firmemente establecidos en adultos (64) (65) (74) (64), pero no en niños. Por ejemplo, se ha publicado que los cambios en el fondo de ojo podían predecir accidentes cardiovasculares en adultos (72). No obstante los grupos seleccionados de obesos adultos también presentaban otras características que pueden alterar la microvascularización de la retina como la HTA, el síndrome metabólico o la edad. Así, los estudios en niños representan una gran ventaja porque es una población generalmente libre de comorbilidades y por tanto de factores de confusión (104).

Los avances en la captación y procesamiento de imágenes de fondo de ojo, permiten estudiar la vascularización retiniana de manera no invasiva, ofreciendo una oportunidad única para investigar el efecto de la obesidad en la microcirculación, y relacionarla con las alteraciones microvasculares sistémicas, que son de gran valor pronóstico para la afectación cardiovascular en el colectivo infantil.

No hay que olvidar que nos encontramos ante un organismo en desarrollo que por sus características es especialmente vulnerable a modificaciones de cualquier tipo,

debido a los múltiples cambios que acontecen en los tejidos, órganos y sistemas durante este período evolutivo. De forma adicional, la obesidad es un factor de riesgo relevante para la aparición de complicaciones en diversos órganos y sistemas. De hecho, la evidencia clínica apoya que estos factores de riesgo comienzan a actuar ya en edad temprana, por lo que es esencial su identificación precoz. Puesto que el ojo actúa como sensor y marcador de los cambios celulares y moleculares que acontecen el sistema nervioso central, en la circulación y en la mayoría de órganos y sistemas de nuestro organismo, la exploración oftalmológica sistematizada con carácter diagnóstico y pronóstico, ayudaría a prevenir las complicaciones asociadas a la obesidad, incluyendo las oculares, donde el nervio óptico es especialmente vulnerable a la inflamación y a la malnutrición (105) (106).

Algunas condiciones pueden alterar la morfogénesis del nervio óptico, produciendo desde un daño leve a una atrofia del nervio óptico con un impacto directo en la agudeza visual. Además, el daño en el nervio óptico suele ser silente e insidioso. Las enfermedades del nervio óptico se relacionan con una disminución del espesor de fibras nerviosas de éste, produciéndose un deterioro visual progresivo. Por esta razón, tener un espesor adecuado de fibras nerviosas en el nervio óptico es especialmente importante en niños, ya que por su esperable vida más larga, los hace más vulnerables a estos cambios (107) (108) (109).

El adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas que ocurre con la edad, implica una disminución de las células ganglionares de la retina y, por tanto una potencial pérdida de campo visual conforme avanza la edad. Recientemente se ha descrito que un adelgazamiento de la RNFL se ha asociado a un aumento del IMC en una población adulta (110).

A raíz de todos estos trabajos parece obvio pensar que la obesidad debe repercutir sobre la microcirculación retiniana y sobre las células ganglionares retinianas en edad infantil y que estos cambios también se extenderán a la etapa adulta.

Por todas estas razones pensamos que la obesidad pediátrica, como problema grave socio sanitario, podría alcanzar un diagnóstico precoz mediante un abordaje oftalmológico en el que se considerarían las alteraciones de la microvascularización retiniana y los parámetros estructurales de la retina y del nervio óptico obtenidos mediante análisis de imágenes. Además, la integración de los resultados de la exploración clínica con los datos obtenidos de los parámetros bioquímicos de riesgo cardiovascular de los pacientes presumiblemente aportarían nuevas estrategias diagnósticas y pronósticas para el niño obeso.

3.- JUSTIFICACIÓN:

La obesidad infantil está aumentando de manera exponencial durante las últimas décadas en los países desarrollados (96)

La obesidad es un factor de riesgo independiente para las enfermedades cardiovasculares. Además, la obesidad se caracteriza por un estado inflamatorio de bajo grado que produce alteraciones metabólicas a nivel sistémico, y que contribuyen al denominado síndrome metabólico. (97). Éste a su vez es también un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular en el adulto (72) (41) y por ende, un claro inductor de la afectación visual. No hay que olvidar que también la obesidad está relacionada con el aumento del riesgo de padecer procesos neurodegenerativos oftalmológicos o sistémicos, como la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) o las enfermedades de Alzheimer o Parkinson (98) (99) (100) (101).

Ha sido ampliamente descrito que el mecanismo más implicado en el desarrollo de las comorbilidades relacionadas con la obesidad es el estrés oxidativo (102).

Además, (103) han demostrado que las CGRs son particularmente vulnerables al estrés metabólico y oxidativo.

Por otra parte, entre los mecanismos patogénicos a nivel celular y molecular implicados en la lesión vascular destacan la disfunción endotelial, mediada por la disponibilidad del óxido nítrico, la microinflamación y el estrés oxidativo.

Además, diversos autores han descrito los cambios en el fondo de ojo debidos a la obesidad y a la microinflamación generada por ella. Estos cambios se caracterizan por una dilatación de las vénulas retinianas así como un estrechamiento de las arteriolas retinianas. Y hay que tener en cuenta que los hallazgos descritos en el fondo de ojo están firmemente establecidos en adultos (64) (65) (74) (64), pero no en niños. Por ejemplo, se ha publicado que los cambios en el fondo de ojo podían predecir accidentes cardiovasculares en adultos (72). No obstante los grupos seleccionados de obesos adultos también presentaban otras características que pueden alterar la microvascularización de la retina como la HTA, el síndrome metabólico o la edad. Así, los estudios en niños representan una gran ventaja porque es una población generalmente libre de comorbilidades y por tanto de factores de confusión (104).

Los avances en la captación y procesamiento de imágenes de fondo de ojo, permiten estudiar la vascularización retiniana de manera no invasiva, ofreciendo una oportunidad única para investigar el efecto de la obesidad en la microcirculación, y relacionarla con las alteraciones microvasculares sistémicas, que son de gran valor pronóstico para la afectación cardiovascular en el colectivo infantil.

No hay que olvidar que nos encontramos ante un organismo en desarrollo que por sus características es especialmente vulnerable a modificaciones de cualquier tipo,

debido a los múltiples cambios que acontecen en los tejidos, órganos y sistemas durante este período evolutivo. De forma adicional, la obesidad es un factor de riesgo relevante para la aparición de complicaciones en diversos órganos y sistemas. De hecho, la evidencia clínica apoya que estos factores de riesgo comienzan a actuar ya en edad temprana, por lo que es esencial su identificación precoz. Puesto que el ojo actúa como sensor y marcador de los cambios celulares y moleculares que acontecen el sistema nervioso central, en la circulación y en la mayoría de órganos y sistemas de nuestro organismo, la exploración oftalmológica sistematizada con carácter diagnóstico y pronóstico, ayudaría a prevenir las complicaciones asociadas a la obesidad, incluyendo las oculares, donde el nervio óptico es especialmente vulnerable a la inflamación y a la malnutrición (105) (106).

Algunas condiciones pueden alterar la morfogénesis del nervio óptico, produciendo desde un daño leve a una atrofia del nervio óptico con un impacto directo en la agudeza visual. Además, el daño en el nervio óptico suele ser silente e insidioso. Las enfermedades del nervio óptico se relacionan con una disminución del espesor de fibras nerviosas de éste, produciéndose un deterioro visual progresivo. Por esta razón, tener un espesor adecuado de fibras nerviosas en el nervio óptico es especialmente importante en niños, ya que por su esperable vida más larga, los hace más vulnerables a estos cambios (107) (108) (109).

El adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas que ocurre con la edad, implica una disminución de las células ganglionares de la retina y, por tanto una potencial pérdida de campo visual conforme avanza la edad. Recientemente se ha descrito que un adelgazamiento de la RNFL se ha asociado a un aumento del IMC en una población adulta (110).

A raíz de todos estos trabajos parece obvio pensar que la obesidad debe repercutir sobre la microcirculación retiniana y sobre las células ganglionares retinianas en edad infantil y que estos cambios también se extenderán a la etapa adulta.

Por todas estas razones pensamos que la obesidad pediátrica, como problema grave socio sanitario, podría alcanzar un diagnóstico precoz mediante un abordaje oftalmológico en el que se considerarían las alteraciones de la microvascularización retiniana y los parámetros estructurales de la retina y del nervio óptico obtenidos mediante análisis de imágenes. Además, la integración de los resultados de la exploración clínica con los datos obtenidos de los parámetros bioquímicos de riesgo cardiovascular de los pacientes presumiblemente aportarían nuevas estrategias diagnósticas y pronósticas para el niño obeso

4.- HIPÓTESIS DE TRABAJO:

Basamos nuestro trabajo en la idea principal de que las alteraciones morfológicas y funcionales en la retina y nervio óptico, ocasionadas por los cambios detectables a nivel microvascular y de la CNFR en el contexto de la obesidad, se relacionan con alteraciones metabólicas y de la respuesta inmune a nivel sistémico y que su

[Escriba texto]

I.- INTRODUCCIÓN:

detección puede permitir de forma precoz, identificar a los niños con mayor riesgo de padecer enfermedad cardiovascular y alteraciones neurológicas tanto en la infancia como en la vida adulta.

Si lográsemos demostrar esta hipótesis inicial, en base a ello propondríamos la confección de protocolos que permitieran el abordaje interdisciplinario de la obesidad infantil y la búsqueda de marcadores morfológico-funcionales de riesgo vascular y neurológico en estos niños.

Además, planteamos que en la elaboración de dichos protocolos clínicos para el seguimiento de los niños obesos debería contemplarse la intervención del pediatra junto a otros profesionales, como oftalmólogos, especialistas en análisis clínicos e investigadores, que pueden ayudar de forma consensuada a diagnosticar las complicaciones y mejorar el curso de la enfermedad, así como establecer criterios de actuación para evaluar su pronóstico y mejorar sus expectativas y su calidad de vida.

Consideramos, además, que para investigar adecuadamente las consecuencias de la obesidad infantil y su repercusión en la morbimortalidad del adulto, es fundamental la valoración de la microcirculación retiniana y de la integridad anatómica y funcional de la retina mediante métodos asequibles desde el punto de vista clínico.

De ahí que propongamos las siguientes preguntas de estudio:

“¿Existe relación entre la obesidad infantil y los cambios en el fondo de ojo, tanto a nivel de la microvascularización retiniana como en la capa de fibras nerviosas de la retina?”

“Y, ¿dichas alteraciones se pueden correlacionar con cambios en los marcadores bioquímicos en sangre periférica de estrés oxidativo, inflamación y daño endotelial que acontecen en el curso de la obesidad infantil?”.

5.- OBJETIVOS:

5.1- OBJETIVO PRINCIPAL:

Valorar estructural y funcionalmente la retina y el nervio óptico del niño obeso mediante un triple abordaje: determinar los calibres arteriovenosos retinianos, analizar las imágenes de la retina y del nervio óptico, e identificar los marcadores bioquímicos emergentes relacionados con la inflamación, el estrés oxidativo y el daño vascular.

5.2- OBJETIVOS SECUNDARIOS:

1. Averiguar si la obesidad infantil produce cambios estructurales en los vasos retinianos, como se sabe que ocurre en los adultos.
2. Establecer el papel de la retinografía como indicador de riesgo de comorbilidades asociadas a la obesidad infantil.
3. Identificar biomarcadores en los niños con obesidad, entre los parámetros clásicos y emergentes de metabolismo, así como los parámetros de inflamación y de estrés oxidativo, y su correlación con cambios en la microvascularización retiniana.
4. Determinar si el estado inflamatorio de bajo grado asociado a la obesidad produce un cambio en el calibre de las vénulas retinianas ya en edades precoces.
5. Teniendo en cuenta que en adultos obesos se produce una dilatación de las vénulas, determinar qué parámetros analíticos producen una dilatación de las vénulas, y cuáles son protectores de ésta, ya en edades precoces.
6. Establecer si la proteína RBP4 que presenta un papel importante en el estrés oxidativo se correlaciona con una modificación en los calibres vasculares retinianos.
7. Establecer la relevancia de las mediciones del calibre equivalente arterial central (CRAE), el calibre equivalente venular central (CRVE) y del cociente arteria/vena (AVR) en los niños con obesidad.
8. Establecer el papel de la tomografía de coherencia óptica como método de diagnóstico no invasivo y útil para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades oculares y procesos sistémicos con repercusión ocular en niños obesos.
9. Averiguar si los niños con obesidad presentan diferencias en la capa de fibras nerviosas del nervio óptico, aumento o disminución del grosor de ésta y, de ser así, si los cambios se producen en determinados cuadrantes o por el contrario son cambios homogéneos.

10. Valorar si existe asociación en los niños obesos entre los parámetros de riesgo metabólico (tanto clásicos como emergentes) y la densidad de fibras del nervio óptico.
11. Diseñar de protocolos de actuación clínica en atención primaria y especializada incluyendo la exploración oftalmológica para valorar precozmente al niño y adolescente con obesidad.

II.- METODOLOGÍA:

II.- METODOLOGÍA:

1.-DISEÑO

1.1 TIPO DE ESTUDIO. NORMATIVA VIGENTE. PERMISOS INSTITUCIONALES

Es un estudio observacional transversal que se ajustó a la normativa de la Comunidad Europea para la investigación humana (Declaración de Helsinki) y que fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Dr Peset (Valencia, España) con el código CEIC 10/79 (Anexo I), y obtuvo el permiso de utilización de las instalaciones del Hospital Universitario Dr Peset (Anexo II).

1.2 SUJETOS DE ESTUDIO

1.2.1 Descripción de los participantes. Criterios de selección. Conformación de grupos.

Descripción de los participantes

El estudio se realizó en niños y niñas, con edades comprendidas entre 6 y 16 años. El reclutamiento se realizó en los pacientes que acudieron a consultas de atención primaria para el programa de seguimiento de niño sano ó por problemas menores y a consultas externas de pediatría en las secciones de gastroenterología y nutrición pediátrica del hospital Dr Peset (Valencia, España) para estudio y tratamiento de obesidad, siendo seleccionados aquellos que cumplieron los criterios de inclusión. Se programó una fecha para la realización de la analítica y en el mismo día los pacientes estaban citados con un oftalmólogo para la exploración y realización de las pruebas del fondo de ojo.

En la primera visita a todos los niños incluido se les asignó un código para guardar la confidencialidad y se les realizó una historia clínica completa, recogiendo los datos personales como la fecha de nacimiento, la edad y sexo.

Los pacientes en los que estudiamos la obesidad en relación con el calibre arteriovenoso fueron seleccionados desde el 1 de Octubre del 2013 al 1 de Enero de 2013, mientras que los pacientes del estudio de la retina y nervio óptico fueron reclutados del 1 de Enero de 2013 al 31 de Marzo de 2013.

Criterios de selección

Con la finalidad de valorar diferentes aspectos en el fondo de ojo en los niños obesos, realizamos dos estudios diferentes. Uno de ellos atendiendo a las diferencias en los calibres arteriovenosos, y otro atendiendo a las diferencias en el nervio óptico, para ver qué es lo que habría que incorporar al protocolo del estudio del niño obeso. En ambos estudios se tuvieron en cuenta unos criterios comunes

de inclusión y exclusión para los casos y los controles. No obstante la conformación de los grupos según su IMC fue diferente en cada uno de los estudios.

Casos:**- Criterios de inclusión de casos:**

- Pacientes que cumplan criterios de obesidad según la IOTF, y tengan un IMC superior a dos desviaciones estándar según las tablas de referencia de la OMS.
- Edad de 6 hasta los 16 años de edad de ambos géneros.
- Pacientes en los que su obesidad no se pueda explicar por síndromes genéticos y/o endocrinopatías.
- Pacientes que acudan a las revisiones en consultas externas de gastroenterología y nutrición del Hospital Dr. Peset, y por tanto, se les pueda realizar las pruebas complementarias, tanto la extracción analítica como la exploración y pruebas complementarias de oftalmología
- Pacientes cuyos padres o tutores legales acepten participar firmando el consentimiento informado.

- Criterios de exclusión de casos:

- Pacientes que no cumplan los criterios de inclusión.
- Pacientes que tengan una enfermedad de base que pueda explicar la obesidad del paciente.
- Enfermedades oftalmológicas.
- Error refractivo mayor a ± 3 dioptrías de equivalente esférico.
- Pacientes con HTA demostrada en las tomas de tensión arterial realizadas en la exploración clínica.
- Paciente con enfermedad de base que pueda influir en los marcadores de riesgo cardiovascular y de estrés oxidativo (diabetes, enfermedades inflamatorias o infecciosas).
- Excavación del nervio óptico >0.5 .
- Asimetría en las excavaciones de los nervios ópticos >0.2
- Intensidad de señal de OCT de nervio óptico < 7 .
- Tratamiento sistémico.

Controles:**- Criterios de inclusión de controles:**

- El grupo control estará constituido por niños/as sanos que acuden a la consulta de Atención Primaria para controles de salud con puntuación z-IMC comprendida entre -1 y +1 y que acepten participar en el estudio.
- Niños/as de ambos sexos sanos de edades comprendidas entre los 6-16 años sanos que no presenten enfermedades oftalmológicas ni ninguna enfermedad de base que pueda alterar en las pruebas analíticas.
- Consentimiento firmado para su inclusión por los padres y/o tutores.

- Criterios de exclusión de controles:

- Enfermedades oftalmológicas.
- Error refractivo mayor a ± 3 dioptrías de equivalente esférico.
- Pacientes con HTA demostrada en las tomas de tensión arterial realizadas en la exploración clínica.
- Pacientes que los padres que no estén de acuerdo o no hayan firmado el consentimiento informado.
- Paciente con enfermedad de base que pueda influir en los marcadores de riesgo cardiovascular y de estrés oxidativo (diabetes, enfermedades inflamatorias o infecciosas).
- Pacientes que no cumplan los criterios de inclusión.
- Excavación del nervio óptico >0.5 .
- Asimetría en las excavaciones de los nervios ópticos >0.2 .
- Intensidad de señal de OCT de nervio óptico < 7 .
- Tratamiento sistémico.

Conformación de grupos:

Especificamos cómo se conformaron los grupos en cada estudio:

A.- Estudio de los calibres arteriovenosos

Se incluyeron en el estudio a 120 sujetos: 75 niños obesos y 35 niños no obesos (controles), de los cuales tras realizar la antropometría con la toma de la tensión arterial y la exploración oftalmológica se excluyeron a 12 pacientes del grupo de los obesos, y a 4 del grupo de controles. Además, hubo cuatro pacientes del grupo de los obesos que tras la realización de las pruebas oftalmológicas decidieron no continuar el estudio. Finalmente la muestra quedó conformada por 90 niños: 59 niños obesos (32 varones y 27 mujeres) y 31 niños de peso normal (17 varones y 14 mujeres).

La población diana del estudio es la población pediátrica de nuestra área de salud.

El diagnóstico de obesidad se definió según la International Obesity Task Force (IOTF) como aquellos pacientes con percentil de IMC superior a 95 para su edad y sexo. Los puntos de corte del IMC para establecer la obesidad infantil específicos para cada edad y sexo, se extrajeron según las tablas y recomendaciones de la

OMS que se basa en la puntuación z del IMC ó número de desviaciones estándar. Los valores de z-IMC para ambos sexos de 1 corresponden a 25,4 kg / m² para varones y 25,0 kg / m² para mujeres que son los equivalentes al punto de corte para sobrepeso utilizado en los adultos (25,0 kg / m²), mientras que el valor de z-IMC > 2 (29,7 kg / m² para ambos sexos) es similar al punto de corte utilizado en adultos para la obesidad (> 30,0 kg/m²) (149-151). Se consideraron normales los pacientes que tuvieron puntuación de z-IMC entre -1 y +1.

A los participantes se les clasificó en función de la puntuación z-IMC, se consideró niños normales:

El grupo control fue definido como pacientes con puntuación z-IMC entre -1 y +1 que quedó conformada por 31 niños.

Los casos fueron definidos como pacientes con puntuación z-IMC > 1 y lo conformaron 59 niños.

B.- Estudio del Nervio óptico

Se incluyeron en el estudio a 120 sujetos. Hubo 3 pacientes que tras la realización de las pruebas oftalmológicas decidieron no continuar el estudio, y 20 pacientes presentaron alteraciones oftalmológicas que impidieron la inclusión en el estudio (2 pacientes con pseudopapiledema, 8 pacientes con sensibilidad de señal de OCT de papila por debajo de 7, 7 pacientes con excavación papilar >0.5 y 3 pacientes con alteraciones en la refracción bajo cicloplejía), quedando la muestra en 97 niños.

La población diana del estudio es la población pediátrica de nuestra área de salud. Los niños y sus padres fueron informados sobre los detalles del estudio y firmaron el consentimiento informado.

Los grupos fueron distribuidos basándose en su IMC, cuyos puntos de corte están definidos según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ajustados por edad y sexo. Éstos están definidos según la desviación estándar del IMC respecto a la media.

Los valores de z-IMC para ambos sexos de 1 corresponden a 25,4 kg / m² para varones y 25,0 kg / m² para mujeres que son los equivalentes al punto de corte para sobrepeso utilizado en los adultos (>25,0 kg / m²), mientras que el valor de z-IMC > 2 (29,7 kg / m² para ambos sexos) es similar al punto de corte utilizado en adultos para la obesidad (> 30,0 kg/m²) (111) (112)

Se consideran normales los pacientes que obtienen una puntuación de z-IMC entre -1 y +1.

De modo que a los participantes se les clasificó en función de la puntuación z-IMC:

- El grupo control o normopeso (NP), fue definido como pacientes con puntuación z-IMC entre -1 y +1 y que quedó conformada por 31 niños.

Los casos fueron definidos como pacientes con puntuación z-IMC > 1 y lo conformaron 66 niños. Este grupo se dividió en función de la gravedad de la obesidad:

- Grupo de niños con sobrepeso (SP), con puntuación de z-IMC entre 1 y 2 (equivalente a IMC=25 kg/m² en el adulto). Quedó conformada por 11 niños.
- Grupo de niños obesos (O), con puntuación de z-IMC entre 2 y 4. Quedó conformada por 42 niños.
- Grupo de niños obesidad severa (OS), con puntuación de z -IMC > 4. Quedó conformada por 13 niños.

Los pacientes fueron asignados por muestreo consecutivo a cada uno de los grupos en función del IMC.

1.2.2 Consentimiento informado

Se les informó a los padres y a los niños en qué consistía el estudio, los beneficios y posibles riesgos, así como todos los pasos a seguir para la toma de muestras y tras comprobar que lo habían comprendido se les solicitó su aceptación (Anexo III).

1.2.3 Ley de protección de datos

Toda la información que se ha recogido de los pacientes incluidos en el estudio es estrictamente confidencial y se ha seguido la normativa legal vigente en España (Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal y a la Ley 41/2002 de Información al paciente).

1.2.4 Tamaño muestral

Se requiere un tamaño muestral de 95 niños para detectar una diferencia en el estado inflamatorio de bajo grado de los niños estudiados, medido mediante PCR en sangre, con un nivel de significación del 5% ($\alpha=0,05$) y con una potencia de 80% siendo la diferencia entre medias de por lo menos 0,7 unidades. Considerando unas posibles pérdidas del 20% en el seguimiento de los pacientes, se debe de contar con un total de 120 pacientes.

$$Z_{\alpha} = 1,96$$

$$Z_{\beta} = 1,645$$

$$DS = 1,495$$

$$d = 0,7$$

$$n = [2 \times (Z_{\alpha} \times Z_{\beta})^2 \times DS^2] / d^2 = 95 \text{ (considerando un 20\% de pérdidas, } n = 120)$$

La desviación estándar (DS) considerada es la que consta en un estudio reciente

en niños (113).

Con estas premisas se deben reclutar un total de 120 niños, que son remitidos desde las consultas externas de pediatría en las secciones de gastroenterología y nutrición pediátrica del hospital Dr Peset (Valencia, España) para que cumplidos los criterios de inclusión, los participantes (n=120) se asignen al grupo de obesidad o de normopeso evitando diferencias en las características demográficas entre los dos grupos. Su edad debe de comprenderse entre los 6 y 15 años, deben ser de raza caucásica, de origen español y los padres deben dar su consentimiento para participar en el estudio.

2. DEFINICIÓN OPERACIONAL

2.1 VARIABLES DEL ESTUDIO

2.1.1 Datos antropométricos:

A todos los niños incluidos en el estudio se les realizó una exploración clínica exhaustiva que incluyó una valoración del estadio puberal según Tanner. Se tomaron los parámetros antropométricos que incluyen:

- **Peso (kgs):** Se tomó en ropa interior y con diferencia mínima de 10 gramos. Modelo BC-418MA, Tanita Europe BV, Hoofddorp, The Netherlands.
- **Altura (cms):** Se tomó en un tallímetro de pared con diferencia mínima de 1 mm. Modelo Holtain limited, Crymych dyfed. Reino Unido.
- **IMC:** calculado como peso/altura x altura (Kgs/cms²)
- **Porcentaje de grasa corporal (%):** se evaluó por impedancia bioeléctrica (Modelo BC-418MA, Tanita Europe BV, Hoofddorp, The Netherlands).
- **Tensión arterial:** Para la toma de la tensión arterial se utilizó un esfigomanómetro (Dinamp 200; GE medical Systems Information Technologies, Inc., Milwaukee, WI, USA) y se expresó en puntuación z de acuerdo con las tablas de la Task Force. La toma de la tensión arterial se realizó con el paciente sentado en un ambiente tranquilo, en el brazo derecho y se utilizó la media de tres mediciones. Se determinó:
 - Tensión arterial sistólica (mm Hg)
 - Tensión arterial diastólica (mmHg)

- Tensión arterial media (mmHg): $(\text{Presión Diastólica} \times 2 + \text{Presión sistólica})/3$

2.1.2 Exploración oftalmológica:

2.1.2.1 Examen sistematizado

Todas las exploraciones oftalmológicas y las pruebas complementarias se realizaron en los dos ojos por el mismo oftalmólogo.

Todos los sujetos del estudio fueron sometidos al siguiente protocolo:

- Agudeza visual corregida, mediante optotipos de Snellen.
- Evaluación de la motilidad ocular extrínseca e intrínseca.
- Evaluación de la estereopsis
- Biomicroscopía de segmento anterior del ojo con lámpara de hendidura (BQ 900® Haag-Streit, Suiza)
- La dilatación pupilar se consiguió mediante la administración de dos gotas de ciclopentolato 1% (Ciclopléjico®; Laboratorios Alcon, TX, EEUU) y una gota de tropicamida (Mydrin-P®; Farmacéutica Santeng, Japón) con un intervalo de 5 minutos entre cada administración. Después de 30 minutos desde la aplicación de la última gota se realizó una autorefracción mediante el autorefractómetro Topcon A6300 (Topcon Corporation, Tokio, Japón). La media de tres mediciones fue utilizada para el estudio. De acuerdo a los criterios de inclusión elegimos a los niños que tenían un equivalente esférico entre -3D y +3D.
- Examen de fondo de ojo mediante oftalmoscopia con lente de +90D.

2.1.2.2 Retinografía y estudio de la circulación retiniana

A los pacientes en los que estudiamos el calibre arteriovenoso retiniano se les realizó una retinografía del fondo de ojo con el retinógrafo TOPCON ImageNet TRC JA Retinal (ImageNET, Topcon, Barcelona, España)(Figura 12), para poder obtener los datos morfológicos y morfométricos de los calibres arteriovenosos retinianos. Se realizaron en los dos ojos, de 30 ° y centradas en el centro del nervio óptico.



Figura 12. Retinógrafo TOPCON ImageNet TRC JA Retinal

Medición de los diámetros vasculares retinianos:

Una vez obtenidas las retinografías se procedió a la medición de los calibres arteriales y venosos para, aplicando la fórmula de Knudson, calcular el CRVA y el CRVE.

Las mediciones se realizaron en el ojo derecho en todos los participantes del estudio, realizándose en el ojo izquierdo exclusivamente en caso de que las retinografías del ojo derecho fueran de mala calidad.

Las retinografías se almacenaron en un ordenador. Mediante el programa de edición de fotos del retinógrafo TOPCON (ImageNet TRC JA Retinal) se calcula el área del nervio óptico y el área comprendida entre 0.5 diámetro y 1 diámetro de disco óptico, medido desde el borde de éste (Figura 13).

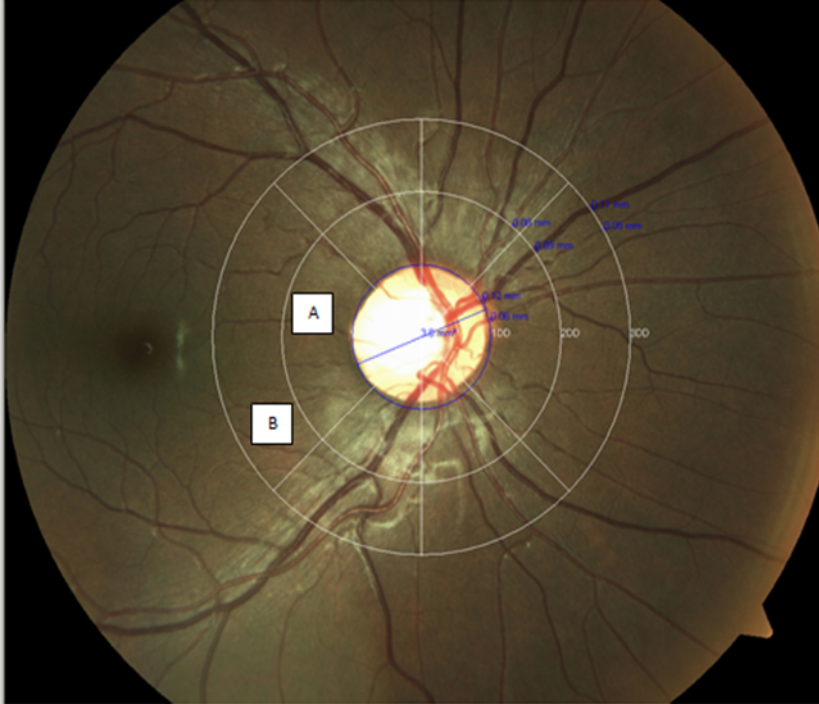


Figura 13. Retinografía que muestra la zona A (a 0.5 diámetros de disco óptico) y la zona B (a 1 diámetro de disco óptico). Es en la zona B donde realizamos las mediciones.

El diámetro de todas las arteriolas y vénulas que pasan a través de esta área entre 0.5 a 1.0 diámetros de disco desde el nervio óptico es lo que denominamos Zona B, y es en la que realizamos la medición del calibre vascular mediante el cálculo de la distancia lineal entre los dos puntos de los dos borde de los vasos seleccionados, realizando un corte transversal manualmente en micras (3.8 por pixel) mediante el ratón del ordenador. (114). La línea se dibuja de manera perpendicular al vaso arterial o venoso (Figura 14).

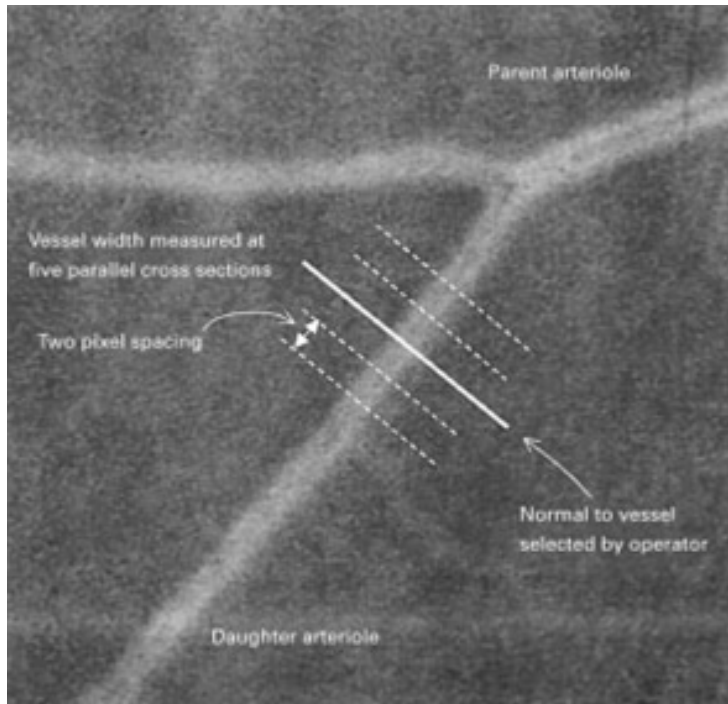


Figura 14. Medición manual de los diámetros vasculares. (114)

Se realizaron un total de tres mediciones en líneas paralelas y la media de estas tres fue registrada.

Se recogieron los diámetros vasculares siguientes:

- El diámetro arteriolar más ancho.
- El diámetro arteriolar más estrecho.
- El diámetro venular más ancho.
- El diámetro venular más estrecho.

Con estos datos, de acuerdo a la fórmula revisada de Knudson et al. (42) podemos obtener el CRAE y el CRVE, que corresponden a la media de los diámetros arteriales y venosos en la retina.

Con ellos calculamos también el cociente AVR.

2.1.2.3 Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT)

En los pacientes en los que estudiamos el nervio óptico se les realizó una tomografía de coherencia óptica de dominio espectral SD-Cirrus OCT® (OCT3, Carl Zeiss Meditec, Dublin, California, EE.UU.). Este es un instrumento que emplea la interferometría de coherencia óptica para obtener un escaneado modo A de la retina. Este instrumento cuenta con una fuente de luz de 840 nm (con tecnología para la detección de diodos superluminiscente) y un dominio de frecuencia de Fourier (Figura 15).



Figura 15. Tomografía de coherencia óptica. Cirrus-HD.

Para obtener el espesor de la CFNR, utilizamos el protocolo del Disco Óptico “Cube 200 x 200”.

Para adquirir las imágenes en primer lugar, el oftalmólogo tiene que alinear la cabeza del paciente con el equipo. A continuación, la pupila del sujeto se centra manualmente en una pantalla de vídeo, utilizando la fijación interna en todos los casos para ayudar a centrar la imagen y, se optimiza la imagen (a través de un sistema de polarización) para maximizar la señal de la OCT.

El Protocolo de Disco Óptico Cubo SD-Cirrus OCT genera una imagen cúbica de 200 x 200, a través de 200 cortes de escaneo lineal en modo A. El algoritmo del software de Cirrus es capaz de detectar el centro del disco óptico y mide 3,46 mm de área circular a partir de ese punto central, obteniendo un resultado cuantitativo del espesor de las fibras nerviosas de la papila, de manera similar a un corte histológico.

La calidad de la prueba depende de la intensidad de la señal, y ésta depende de la uniformidad de la señal durante el análisis y de la relación señal / ruido que mide la cantidad de la señal está dañada por el ruido. La intensidad de la señal se gradúa en una escala de 1 a 10, siendo 1 el resultado de una imagen de baja calidad y 10 de excelente. Sólo las imágenes con una intensidad de señal mínima de siete fueron consideradas válidas. Si el examen estaba mal enfocado o con una calidad deficiente, se repitió hasta que se obtuvieron imágenes adecuadas.

Los resultados son promediados y ofrecidos en valores numéricos y/o representaciones esquemáticas, por sectores o cuadrantes, como se observa en la Figura 16.

En cada niño los parámetros recogidos fueron el espesor de la media de la CFNR y el espesor de la CFNR en cada uno de los cuatro cuadrantes (inferior, superior, nasal y temporal).

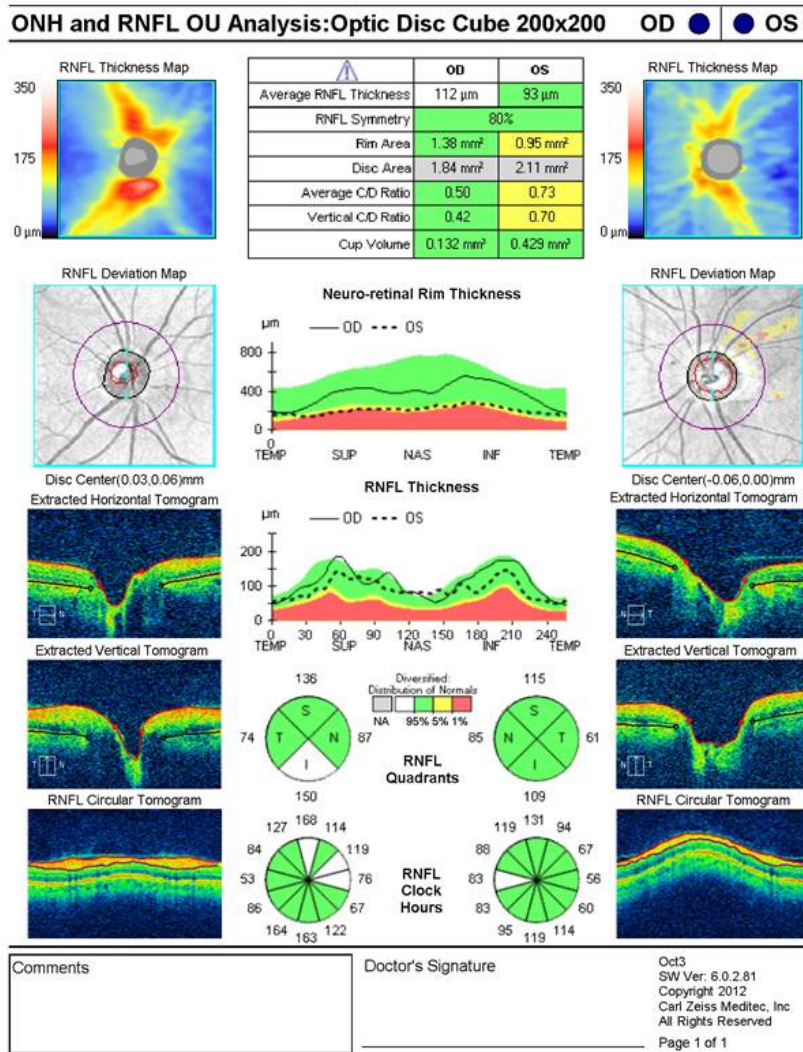


Figura 16. Análisis de la RNFL del nervio óptico mediante el protocolo 200x200 de Cirrus-HD.

2.1.3 Parámetros bioquímicos

Las muestras sanguíneas se extrajeron por la mañana con al menos 12 horas de ayuno. Todos los parámetros se determinaron en el laboratorio de análisis clínicos del hospital Dr. Peset.

2.1.3.1 Marcadores de riesgo cardiovascular:

Se consideraron marcadores de riesgo metabólico clásicos:

- Glucosa (mg/dL).
- Triglicéridos (TG) (mg/dL).

- Colesterol lipoproteína de alta densidad, en inglés high density lipoproteine (HDL-Colesterol) (mg/dL)

Estos tres parámetros fueron medidos mediante métodos directos (Aeroset System®; Abbott Clinical Chemistry, Wiesbaden, Germany).

Además, para la valoración del metabolismo hidrocarbonado, se consideraron:

- Insulina (microUI/mL): Fue medida por inmunoensayo electroquimioluminiscencia (Aeroset System and Architect c8000 Abbott Clinical Chemistry, Wiesbaden, Germany).
- Índice HOMA-IR: Determinado para medir el nivel de insulinoresistencia. Definido como $HOMA-IR = \text{Insulina (IU/l)} \times \text{glucemia (mg/dL)} / 405$. Se consideró un límite normal de este índice HOMA de 3,16.

2.1.3.2 Marcadores de estrés oxidativo y daño endotelial

Los marcadores de estrés oxidativo y daño endotelial se determinaron en muestras de plasma, que se obtuvieron de forma concomitante con la analítica rutinaria para evitar otra extracción sanguínea innecesaria, y posteriormente se procesaron inmediatamente a la extracción (centrifugación a 600 x g durante 10 minutos), y se almacenaron en pequeñas alícuotas (500 microlitros) a – 80 °C hasta su análisis.

Se analizaron:

- Homocisteína (mmol/L): fue medida por inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (Aeroset System and Architect c8000 Abbott Clinical Chemistry, Wiesbaden, Germany).
- PCR ultrasensible (hs-CRP) (g/dL): fue medida por nefelometría cinética (Image Nephelometer, Beckman Coulter Inc. Brea. CA, USA).
- Proteína fijadora del retinol (RBP4) (mg/dL): se determinó por nefelometría (Dade Behring Inc, Marburg, Germany).

Estos tres parámetros fueron medidos mediante métodos directos (Aeroset System®; Abbott Clinical Chemistry, Wiesbaden, Germany).

2.1.3.3 Parámetros emergentes de riesgo cardiovascular

Se analizaron otros marcadores emergentes:

- Apolipoproteína A1 (Apo A1) (mg/dL).
- Apolipoproteína B (ApoB) (mg/dL).
- Lipoproteína A [(Lp a)] (mg/dL).

La Apo A1, Apo B , Lp (a) se cuantificaron por nefelometría cinética, con el nefelómetro Image de Beckman Coulter.

- Ácido úrico (mg/dL).
- GGT (UI/L). (Gamma-Glutamil transpeptidasa).

Estos parámetros fueron medidos mediante métodos directos (Aeroset System®; Abbott Clinical Chemistry, Wiesbaden, Germany).

- 8-hidroxideoxiguanosina (8OHdG) ($\mu\text{g/mL}$): Se determinó mediante ensayo inmunoenzimático competitivo en orina. Lectura a 450 nm. Kit "Highly Sensitive 8-OHdG Check", ref IM-KOGHS 04091 4E. Japan Institute For the Control of Aging (JalCA) 710-1 Haruoka, Fukuroi, Shizuoka, Japan 437-0122.
- GSH (μg) (Glutathione). La cuantificación del GSH se lleva a cabo en el hemolizado mediante la técnica de la glutatión-S-transferasa (GSH-S-T). El complejo formado (GSDNB) absorbe luz a una longitud de onda de 340 nm, siendo proporcional el cambio de extinción medido espectrofotométricamente a la cantidad de GSH presente en la muestra. Los valores se expresan en nmol/g de hemoglobina. Se determinó mediante un método enzimático espectrofotométrico (no ELISA) aplicado en muestras de lisado de eritrocitos. Lectura a 405 nm. Glutathione Assay Kit Item No. 703002. Cayman Chemical Company 1180 E. Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108 (USA).
- Adiponectina ($\mu\text{g/mL}$). Determinada mediante los kits comerciales para determinación de Adiponectina humana por inmunoensayo ELISA kit ab99968 (Abcam Cambridge, CB4 0FL UK).
- Leptina ($\mu\text{g/mL}$). Determinada mediante los kits comerciales para determinación de Leptina humana por inmunoensayo ELISA kit ab100581 (Abcam Cambridge, CB4 0FL UK).
- IL-6 (pg/mL) Ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia en muestras de suero (volumen utilizado: 100 μl), realizado de forma automatizada en el analizador IMMULITE® 2000 XPi Immunoassay Systems (DPC® , Los Ángeles, EE.UU.), y encontrándose el límite bajo de detección en 2 pg/ml .

- **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis de los datos se ha utilizado el programa estadístico SPSS para Windows versión 17.0 (Inc., Chicago USA). El análisis estadístico de los resultados obtenidos en las distintas exploraciones practicadas comprende:

3.1 ANALÍTICA DESCRIPTIVA

Los datos cuantitativos se presentan como medias \pm desviaciones estándar y los datos cualitativos mediante porcentajes.

Para comprobar si la variable cuantitativa a estudio sigue una distribución normal, se ha utilizado la prueba Kolmogorov-Smirnov. Los valores de las variables que no se ajustan a una distribución normal se han transformado en logaritmos decimales para su análisis. Se comprobó una distribución no normal de las siguientes variables: z-IMC, TG, HOMA-IR, homocisteína, PCR ultrasensible y RBP4.

3.2 ESTUDIO COMPARATIVO

La comparación entre los grupos del estudio con respecto a las variables cuantitativas clínicas, antropométricas y bioquímicas, parámetros de estrés oxidativo y daño endotelial así como los parámetros oftalmológicos se ha realizado mediante el análisis de la covarianza o test de ANCOVA, para eliminar la heterogeneidad causada por la edad, sexo y estadio de Tanner.

3.3 ESTUDIO DE CORRELACIONES Y REGRESIONES

Se realizó un análisis de correlación parcial de Pearson ajustado por edad, sexo y estadio de Tanner para investigar la asociación de los parámetros antropométricos de la obesidad y los marcadores analíticos con los parámetros oftalmológicos.

[Escriba texto]

III.- RESULTADOS:

V.- RESULTADOS:

V.- RESULTADOS:**A.- CALIBRES ARTERIOVENOSOS:****1.-ESTUDIO DESCRIPTIVO DE CASOS Y CONTROLES:**

Los niños se subdividieron según el z-IMC y la muestra quedó conformada de la siguiente manera:

- Grupo de niños obesos con puntuación de z-IMC > 2 (n:59)
- Grupo de niños normopeso con puntuación de z-IMC entre -1 y +1 (n:31).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto a sexo , edad o estadio de Tanner tal como se refleja en la tabla 1.

Tabla 1. Datos clínicos de los niños incluidos en el estudio agrupados por la puntuación z del índice de masa corporal (z-IMC).			
	Obesos (n = 59)	Normopeso (n = 31)	Valor de p*
Sexo (niños/niñas)	32/27	17 /14	0.957
Edad (años)	11.5 ± 2.4	11.1 ± 2.5	0.229
Estadio Tanner	2.6 ± 1.4	2.3 ± 1.4	0.268

IMC: Índice de masa corporal

Valores expresados con la media ± desviación estándar.

*ANCOVA ajustado por sexo y estadio Tanner o Test Chi cuadrado.

2. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS PARÁMETROS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS DE LOS DOS GRUPOS:

Respecto a las variables antropométricas y clínicas como es esperable hubo diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto al IMC y porcentaje de masa grasa. (tabla 2) La tensión arterial, ambas sistólica y diastólica están aumentadas significativamente en el grupo de obesos, y curiosamente de manera dependiente del IMC, puesto que al ajustar según IMC no observamos esa diferencia significativa. En cuanto a los parámetros de riesgo metabólico clásicos, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en el colesterol total o la glucosa. Sin embargo sí que las hubo en cuanto a la cantidad de HDL- colesterol, siendo mayor en el grupo de normopeso, y también hubo diferencias significativas en los triglicéridos, la Insulina y la HOMA-IR, todos ellos mayores en el grupo de obesos.

Respecto a otros parámetros emergentes en el riesgo metabólico, se observa la leptina muy aumentada en el grupo de obesos, así como la apoproteína A1 en el grupo de normopeso. Ambas asociaciones eran estadísticamente significativas al ajustarlas en función del IMC. También la adiponectina estaba aumentada

sinifcativamente en el grupo de normopeso. La RBP4 se observó aumentada en el grupo de obesos.

En cuanto a otros parámetros de estrés oxidativo y daño endotelial; la PCR ultrasensible se encontró aumentada en el grupo de obesos. No se demostraron diferencias en la IL-6, el GSH o el 8OHdG.

Tabla 2. Parámetros clínicos y bioquímicos de los niños incluidos en el estudio.

	Obesos (n = 59)	Normopeso (n = 31)	Valor de p*	Valor de p**
z-IMC	2.95 ± 1.19	-0.03 ± 0.87	0.000	0.000
Masa grasa (%)	33.9 ± 5.0	24.1 ± 5.2	0.000	0.000
TAS (mm Hg)	116 ± 12	107 ± 14	0.011	0.153
TAD (mm Hg)	68 ± 9	63 ± 10	0.045	0.132
TA media (mm Hg)	84 ± 9	77 ± 10	0.013	0.041
Colesterol total (mg/dL)	164 ± 34	170 ± 36	0.500	0.608
HDL-colesterol (mg/dL)	45 ± 9	59 ± 14	0.000	0.014
Triglicéridos (mg/dL)	100 ± 67	66 ± 53	0.006	0.032
Apoproteína A1 (mg/dL)	138 ± 24	190 ± 44	0.000	0.006
Apoproteína B (mg/dL)	78 ± 21	74 ± 17	0.323	0.147
Glucosa (mg/dL)	90 ± 7	86 ± 8	0.241	0.405
Insulina (μIU/mL)	16.2 ± 10.3	7.6 ± 3.0	0.000	0.034
HOMA-IR	3.6 ± 2.4	1.7 ± 0.7	0.000	0.028
Ácido úrico (mg/dL)	4.6 ± 1.1	4.1 ± 0.9	0.049	0.161
GGT (U/L)	20.0 ± 8.9	13.6 ± 4.2	0.000	0.010
Leptina (ηg/ml)	20.5 ± 9.3	8.1 ± 6.7	0.000	0.000
Adiponectina (μg/mL)	13.3 ± 4.6	16.4 ± 7.2	0.019	0.377
RBP4 (mg/dL)	4.6 ± 1.3	3.9 ± 1.3	0.012	0.034
hs-CRP (mg/L)	2.1 ± 2.4	0.3 ± 0.2	0.000	0.000
IL-6 (pg/mL)	1.9 ± 3.1	1.7 ± 1.2	0.801	0.236
GSH (μM)	19.9 ± 0.6	19.7 ± 0.9	0.343	0.333
8OHdG (ηg/mL)	5.2 ± 2.9	5.0 ± 2.6	0.765	0.185

IMC: índice de masa corporal, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. HDL-colesterol: Colesterol de alta densidad. HOMA-IR: Resistencia a la Insulina. GGT: Gamma glutamil transpeptidasa, RBP4: Proteína fijadora de retinol, Log hs-CRP: logaritmo de la proteína C reactiva ultrasensible. GSH: Glutacion. 8OHdG: 8- hidroxideoxiguanosina. Valores expresados con la media ± desviación estándar.

*ANCOVA ajustado por sexo y estadio Tanner o test Chi cuadrado.

**ANCOVA ajustado por sexo, estadio Tanner e IMC.

3. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS CALIBRES RETINIANOS DE LOS 2 GRUPOS:

Los resultados obtenidos en las mediciones de los calibres vasculares retinianos, así como el resultado del cálculo del CRAE, CRVE y AVR según las fórmulas anteriormente citadas se refleja en la siguiente tabla 3.

Tabla 3. Calibre vascular retiniano de los niños del estudio				
	Obesos (n = 59)	Normopeso (n = 31)	Valor de p*	Valor de p**
Diámetro arterial mayor (μm)	116 \pm 18	129 \pm 18	0.004	0.034
Diámetro arterial menor (μm)	49 \pm 15	58 \pm 19	0.018	0.068
CRAE (μm)	112 \pm 16	127 \pm 15	0.001	0.029
Diámetro venoso mayor (μm)	172 \pm 24	143 \pm 31	0.000	0.011
Diámetro venoso menor (μm)	81 \pm 23	65 \pm 26	0.001	0.028
CRVE (μm)	180 \pm 20	150 \pm 31	0.000	0.002
AVR	620 \pm 103	870 \pm 214	0.000	0.000

CRAE: equivalente de la arteria central de la retina, CRVE: equivalente de la vena central de la retina, AVR: Cociente arteria/vena.

Valores expresados con la media \pm desviación estándar.

* Por ANCOVA ajustado por sexo y estadio Tanner o test Chi cuadrado.

** Por ajustado por sexo, estadio Tanner, IMC y edad

Se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los diámetros arteriales entre los dos grupos. Todas las mediciones de vasos arteriales así como el cálculo del CRAE concluyen que el calibre arterial es más estrecho, de manera significativa, en el grupo de obesos. En la Figura 17 se observa gráficamente esta tendencia.

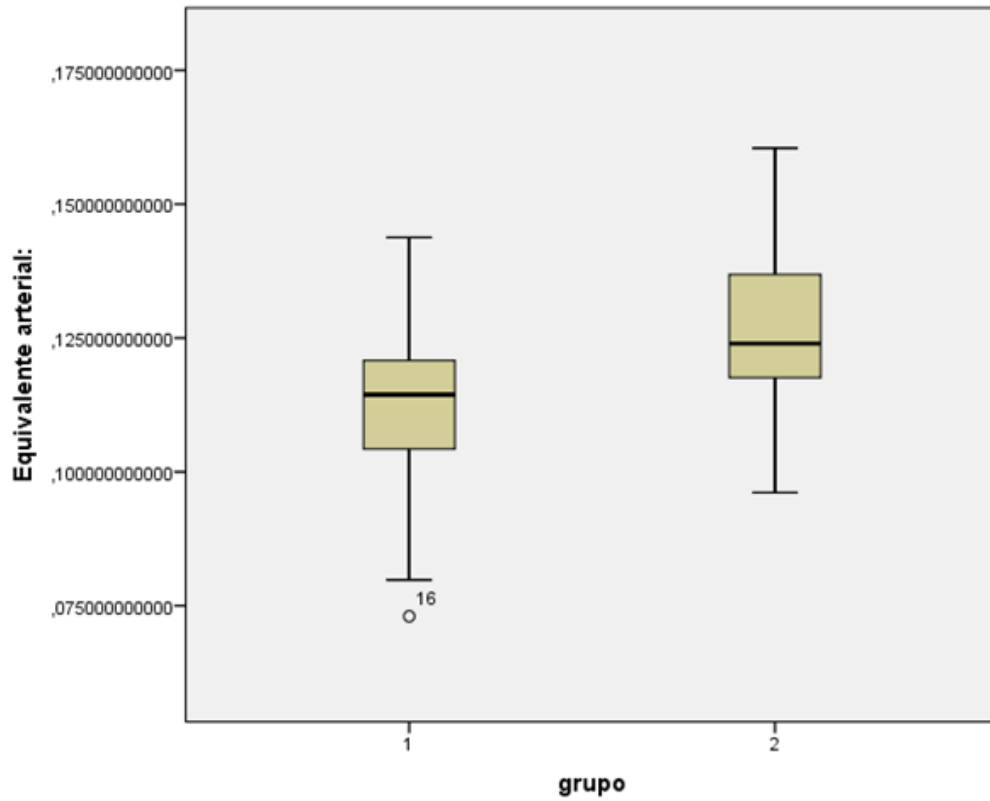


Figura 17 Gráfico comparando el calibre en el CRAE en los dos grupos: 1(obeso) y 2 (normopeso). Se observa un menor calibre en el grupo de obesos respecto al de normopeso.

Respecto a los calibres venulares, tal como cabría esperar, se observan de manera significativa más gruesos en el grupo de obesos respecto al de normopeso. También el resultado del cálculo del CRVE demuestra un engrosamiento del calibre venular en el grupo de obesos (Figura 18).

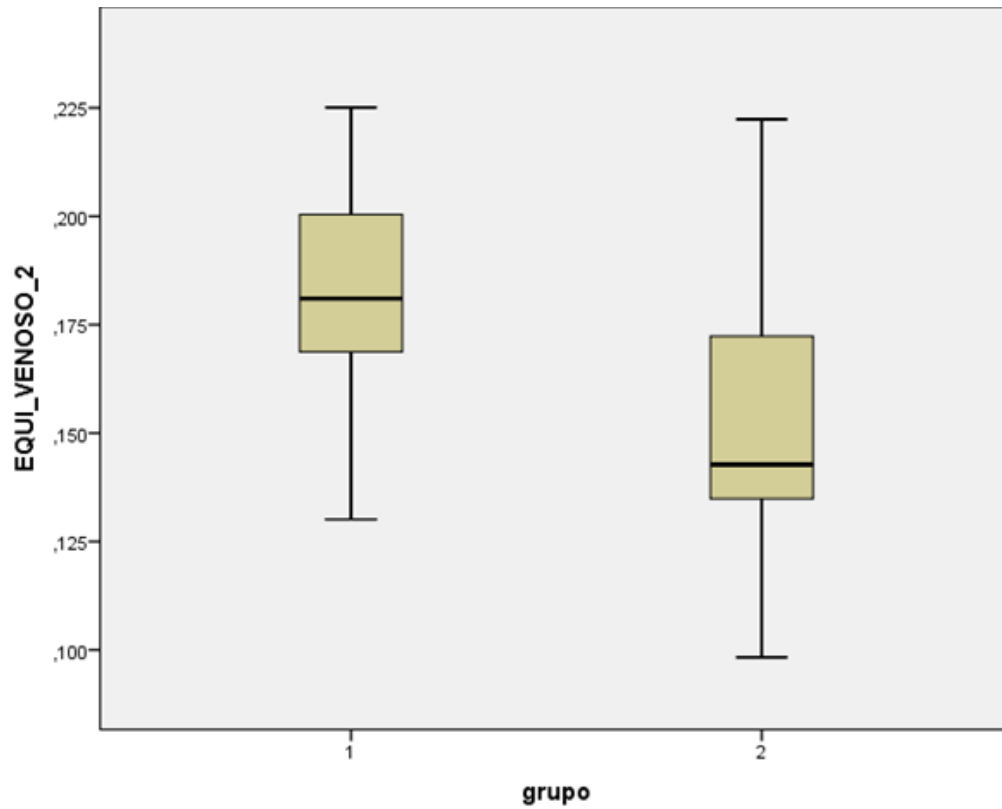


Figura 18. Gráfico comparando calibre del CRVE en los dos grupos: 1(obeso) y 2 (normopeso). Se observa un mayor calibre en el CRVE en el grupo de obesos respecto al de normopeso.

Como es lógico, dado que el AVR es el cociente entre CRAE y CRVE, también se encuentran diferencias significativas, siendo mayor en el grupo de obesos. De este modo, en la tabla 3 se observa un mayor AVR en el grupo de normopeso. Dicha diferencia que se muestra gráficamente en la Figura 19.

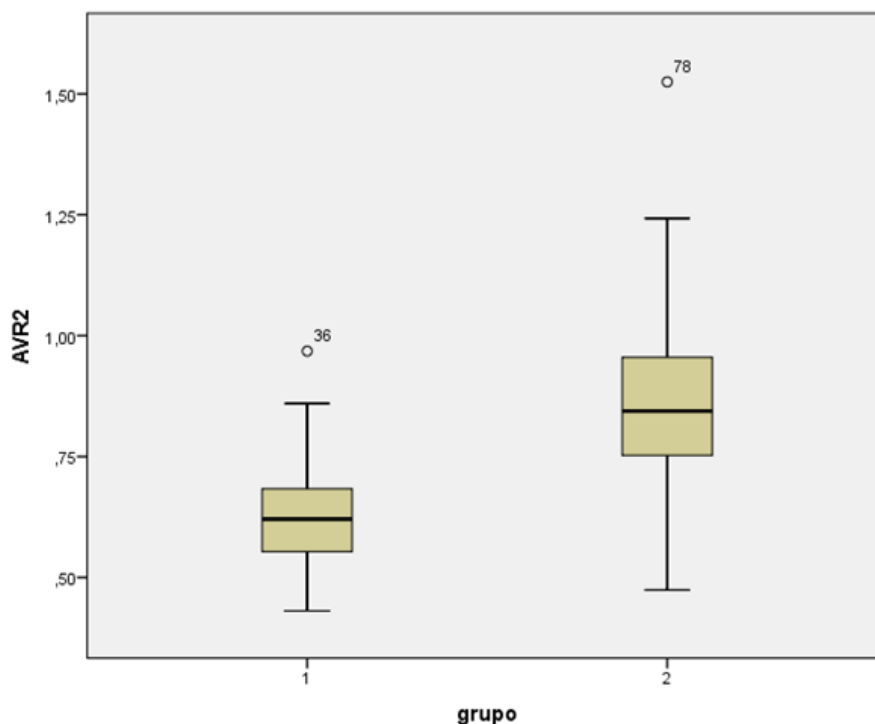


Figura 19: Gráfico comparando calibres en el AVR en los dos grupos: 1 (obeso) y 2 (normopeso). Se observa un cociente AVR mayor en el grupo de normopeso con respecto al de obesos.

1. PRUEBAS DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LAS DIFERENTES MEDICIONES DE LOS CALIBRES ARTERIOVENOSOS Y LOS MARCADORES CARDIOMETABÓLICOS:

Utilizamos este test para establecer la tendencia de los parámetros cardiometabólicos estudiados tanto en la rama arterial (medido por el CRAE) como en la venosa (medido por el CRVE), así como en el cociente de ambas (el AVR).

a. CORRELACIÓN CON CRAE

En cuanto al calibre de la rama arterial, la observamos asociada negativamente tanto con el IMC así como con el porcentaje de materia grasa, la TAD y la TA media, como se muestra en Tabla 4.

Respecto a los parámetros emergentes de riesgo cardiovascular sólo encontramos asociado el calibre arterial de manera positiva con la Apoproteína A y de manera negativa con la Leptina.

Tabla 4. Coeficientes de correlación parcial de Pearson entre CRAE y marcadores cardiometabólicos.				
	Ajustado por sexo y estadio Tanner		Ajustado por sexo, estadio Tanner e IMC.	
	r	Valor p*	r	Valor p**
z-IMC	-0.328	0.003		
Masa grasa	-0.283	0.014		
TAS	-0.159	0.177	-0.022	0.881
TAD	-0.292	0.012	-0.166	0.249
TA media	-0.271	0.020	-0.198	0.093
Colesterol total	-0.041	0.711	0.049	0.659
HDL-colesterol	0.182	0.100	0.044	0.689
Log Triglicéridos	-0.190	0.085	-0.097	0.387
Apoproteína A1	0.264	0.016	0.145	0.193
Apoproteína B	-0.058	0.601	-0.008	0.940
Glucosa	-0.033	0.764	0.025	0.823
Insulina	-0.050	0.654	0.086	0.442
HOMA-IR	-0.053	0.632	0.084	0.449
Ácido úrico	-0.138	0.221	-0.076	0.505
Cistatina C	0.038	0.752	0.020	0.871
GGT	-0.163	0.170	-0.077	0.523
RBP4	0.182	0.111	0.141	0.221
hs-CRP	-0.135	0.236	-0.003	0.980
Leptina	-0.257	0.024	-0.096	0.419
Adiponectina	0.154	0.168	0.092	0.414
IL-6	0.041	0.723	0.038	0.743
GSH	-0.095	0.406	-0.076	0.510
8OHdG	0.132	0.152	0.138	0.207
8-isoprostano	-0.041	0.756	-0.086	0.519

IMC: índice de masa corporal, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. HDL-colesterol: Colesterol de alta densidad. HOMA-IR: Resistencia a la Insulina. GGT: Gamma glutamil transpeptidasa, RBP4: Proteína fijadora de retinol, Log hs-CRP: logaritmo de la proteína C reactiva ultrasensible. GSH: Glutacion. 8OHdG: 8- hidroxideoxiguanosina.

b. CORRELACIÓN CON CRVE

Respecto a la rama venosa de la circulación retiniana, encontramos muchas más asociaciones entre el grosor venular y todos los parámetros analizados, como se observan en la tabla 5.

Respecto a los parámetros antropométricos, encontramos una asociación positiva entre los diámetros venulares y el IMC y el porcentaje de materia grasa, así como la TAS y la TA media. La TA diastólica no fue significativa.

Respecto a los parámetros clásicos de riesgo metabólico en relación a los diámetros venulares se asoció significativamente y de manera positiva con los triglicéridos, la Insulina y el HOMA- IR y, de manera negativa, con el HDL colesterol. No se encontramos sin embargo asociación del CRVE con el colesterol total, ni con el ácido úrico o la glucosa.

En cuanto a los parámetros emergentes de riesgo metabólico se observó una fuerte asociación positiva entre los calibres venulares y la leptina y una asociación negativa entre éstos y la apoproteína A-1, la adiponectina, y la RBP4.

De entre los parámetros de estrés oxidativo y daño endotelial analizados, sólo destaca la asociación positiva entre calibre venular y la hs-PCR. El resto de variables analizadas como la IL-6, el GSH, 8OHdG y el 8-isoprostano no mostraron ninguna diferencia.

Tabla 5. Coeficientes de correlación parcial de Pearson entre CRVE y marcadores cardiometabólicos.

	Ajustado por sexo y estadío Tanner		Ajustado por sexo, estadío Tanner e IMC.	
	r	Valor p*	r	Valor p**
z-IMC	0.455	0.000		
Masa grasa	0.426	0.000		
TAS	0.281	0.014	0.172	0.139
TAD	0.202	0.079	0.134	0.253
TA media	0.261	0.023	0.168	0.151
Colesterol total	0.004	0.969	0.022	0.839
HDL-colesterol	-0.361	0.001	-0.170	0.122
Triglicéridos	0.319	0.003	0.179	0.104
Apoproteína A1	-0.406	0.000	-0.221	0.043
Apoproteína B	0.139	0.203	0.067	0.543
Glucosa	0.075	0.491	-0.021	0.846
Insulina	0.294	0.006	0.116	0.291
HOMA-IR	0.240	0.026	0.104	0.344
Ácido úrico	0.172	0.128	0.068	0.551
GGT	0.176	0.103	-0.047	0.672
RBP4	-0.246	0.028	-0.190	0.094
Log hs-CRP	0.279	0.012	0.128	0.259
Leptina	0.525	0.000	0.367	0.001
Adiponectina	-0.241	0.027	-0.152	0.170
IL-6	0.094	0.410	0.123	0.283
GSH	0.124	0.269	0.098	0.386
8OHdG	-0.182	0.202	-0.177	0.281
8-isoprostano	-0.072	0.581	0.080	0.541

IMC: índice de masa corporal, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. HDL-colesterol: Colesterol de alta densidad. HOMA-IR: Resistencia a la Insulina. GGT: Gamma glutamil transpeptidasa, RBP4: Proteína fijadora de retinol, Log hs-CRP: logaritmo de la proteína C reactiva ultrasensible. GSH: Glutacion. 8OHdG: 8- hidroxideoxiguanosina

c. CORRELACIÓN CON AVR

El AVR es el resultado del cociente entre en CRAE y el CRVE. Así pues, un AVR pequeño reflejaría menor calibre en el CRAE y mayor calibre del CRVE, y de la misma manera un AVR mayor lo contrario.

Respecto a las características antropométricas y clínicas, encontramos una relación negativa y estadísticamente significativa entre el AVR y tanto el IMC como el porcentaje de masa grasa, como se refleja en la Tabla 6. También encontramos esta asociación negativa entre el AVR con la TAS, la TAD y la TA media. Y esta correlación negativa se mantiene en la TAD y la TA media, al ajustar según el IMC.

Respecto a los parámetros de riesgo metabólico clásicos, encontramos una asociación negativa entre el AVR y los TG, la Insulina, y la HOMA-IR, que refleja la resistencia a la Insulina. Mientras que existe una correlación positiva entre el AVR con el HDL- colesterol. No se encuentran asociaciones significativas con el colesterol total así como tampoco con la glucosa ni con el ácido úrico.

Al hacer la correlación con otros parámetros emergentes de riesgo metabólico, encontramos una asociación fuertemente negativa entre el AVR con la leptina. Manteniéndose esta relación incluso al ajustar según el IMC. Y, encontramos una correlación positiva del AVR con la adiponectina y con la Apoproteína A1, correlación que también se mantiene incluso al ajustar según IMC.

Respecto a los parámetros de estrés oxidativo y de daño endotelial, encontramos una asociación negativa entre el AVR y la hs-PCR de manera estadísticamente significativa. La IL-6 y la GSH muestran una asociación negativa también, pero en este caso no de manera estadísticamente significativa.

Tabla 6 . Coeficientes de correlación parcial de Pearson entre AVR y marcadores cardiometabólicos.				
	Ajustado por sexo y estadio Tanner		Ajustado por sexo, estadio Tanner e IMC.	
	r	Valor de p*	r	Valor de p**
z-IMC	-0.517	0.000		
Masa grasa	-0.489	0.000		
TAS	-0.331	0.004	-0.194	0.101
TAD	-0.311	0.007	-0.239	0.042
TA media	-0.358	0.002	-0.252	0.032
Colesterol total	0.015	0.892	-0.003	0.978
HDL-colesterol	0.406	0.000	0.185	0.092
Triglicéridos	-0.305	0.001	-0.190	0.088
Apoproteína A1	0.487	0.000	0.284	0.010
Apoproteína B	-0.108	0.330	-0.014	0.903
Glucosa	-0.053	0.630	0.067	0.548
Log Insulina	-0.252	0.020	-0.021	0.849
Log HOMA-IR	-0.247	0.024	-0.008	0.945
Ácido úrico	-0.156	0.168	0.028	0.808
GGT	-0.242	0.025	-0.060	0.589
Log hs-CRP	-0.311	0.005	-0.122	0.286
RBP4	0.302	0.007	0.247	0.030
Leptina	-0.572	0.000	-0.355	0.002
Adiponectina	0.265	0.016	0.162	0.149
IL-6	-0.023	0.844	-0.092	0.432
GSH	-0.133	0.242	-0.104	0.363
8OHdG	0.187	0.197	0.146	0.321
8-isoprostano	0.037	0.781	-0.112	0.403

IMC: índice de masa corporal, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. HDL-colesterol: Colesterol de alta densidad. HOMA-IR: Resistencia a la Insulina. GGT: Gamma glutamil transpeptidasa, RBP4: Proteína fijadora de retinol, Log hs-CRP: logaritmo de la proteína C reactiva ultrasensible. GSH: Glutathion. 8OHdG: 8- hidroxideoxiguanosina.

B.- NERVIÓ ÓPTICO

1.-ESTUDIO DESCRIPTIVO DE GRUPOS:

Tal como se observa en la tabla 7 muestra la distribución de los grupos y la homogeneidad de éstos en cuanto a sexo, edad y estadio de Tanner.

Tabla 7 . Datos clínicos de los niños incluidos en el estudio agrupados por la puntuación z del índice de masa corporal (z-IMC)

	Normopeso (n= 31)	Sobrepeso (n=11)	Obeso (n=42)	Obesos severos (n=13)	Valor de <i>p</i> *
Sexo (masculino/femenino)	18/13	5/6	22/20	5/8	0.661
Edad (años)	11.1 (2.5)	11.3 (1.9)	11.0 (2.3)	11.9 (3.1)	0.658
Estadío Tanner	2.3 (1.4)	2.6 (1.0)	2.6 (1.7)	3.0 (1.7)	0.090

IMC: Índice de masa corporal

Valores expresados con la media (DS)

* ANCOVA ajustado por sexo y estadío Tanner o Test Chi cuadrado.

2.-ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS CRACTERÍSTICAS CLÍNICAS, ANTROPOMÉTRICAS Y ANALÍTICAS DE LOS GRUPOS:

En la tabla 8 se observan las diferencias entre los dos grupos. Respecto a los parámetros clínicos y antropométricos, las mayores diferencias entre los 4 grupos se encontraron en cuanto al porcentaje de masa grasa medido por impedanciometría bioeléctrica. Ésta fue significativamente más alta en niños con sobrepeso y obesos, y mayor en niños con obesidad severa, como era esperable. Los niños con obesidad presentaban cifras de tensión arterial más altas que los otros grupos.

De manera similar, otros factores de riesgo metabólico como los triglicéridos y la glucosa estaban modificados en niños obesos.

La insulina, la resistencia a la insulina (medida por la HOMA-IR) y el colesterol de alta densidad (HDL) fueron significativamente diferentes en niños con sobrepeso obesos con respecto al grupo de normopeso, estando el HDL-colesterol disminuido de manera más significativa en los niños con obesidad severa.

Las cifras de Leptina aumentan según el grado de severidad de la obesidad, y las de adiponectina disminuyen en niños con sobrepeso y obesidad respecto a los niños control.

Los niveles de IL-6 se observaron aumentados en los niños con obesidad severa, pero sin ser estadísticamente significativo.

En cuanto a la exploración funcional y morfológica del ojo, los resultados no mostraron diferencias entre los grupos.

Tabla 8 . Datos clínicos, antropométricos y analíticos de los niños incluidos en el estudio en función de z-IMC.

	Normopeso (n= 31)	Sobrepeso (n=11)	Obeso (n=42)	Obesos severos (n=13)	Valor de p†
z-IMC	-0.03 ± 0.87 _a	1.68 ± 0.20 _a	2.78 ± 0.49 _a	5.02 ± 1.39 _a	<0.0001
% Masa grasa (kg/m ²)	6.4 ± 3.6 _{a,b,c}	9.1 ± 3.0 _{a,d}	11.0 ± 1.8 _{b,e}	15.5 ± 3.7 _{c,d,e}	<0.0001
Presión arterial media (mmHg)	64 ± 10 _{a,b}	62 ± 10	69 ± 9 _a	69 ± 8 _b	0.046
TAS (mmHg)	-0.05 ± 0.78 _{a,b}	0.27 ± 0.97	0.81 ± 0.96 _a	1.16 ± 0.91 _b	0.016
TAD(mmHg)	-0.12 ± 1.02 _{a,b}	0.04 ± 0.87	0.50 ± 0.86 _a	0.66 ± 0.97 _b	0.046
HDL colesterol (mg/dL)	59 ± 14 _{a,b,c}	45 ± 8 _a	48 ± 10 _{b,d}	41 ± 8 _{c,d}	<0.0001
Triglicéridos(mg/dL)	66.7 ± 53.21 _{a,b}	92.2 ± 58.1	89.1 ± 51.7 _a	113.2 ± 87.2 _b	0.032
Glucosa (mg/dL)	86 ± 8 _{a,b}	88 ± 3	90 ± 7 _a	92 ± 10 _b	0.066
Insulina (µIU/mL)*	8.1 ± 3.0 _{a,b,c}	17.1 ± 9.7 _a	15.0 ± 9.9 _b	19.1 ± 11.8 _c	<0.0001
HOMA-IR *	1.75 ± 0.7 _{a,b,c}	3.75 ± 2.12 _a	3.35 ± 2.24 _b	4.42 ± 2.64 _c	<0.0001
Leptina (ng/mL)	8.1 ± 6.7 _{a,b,c}	16.9 ± 9.3 _{a,d}	20.0 ± 7.1 _{b,e}	27.9 ± 8.9 _{c,d,e}	<0.0001
Adiponectina (µg/mL)	16.4 ± 7.2 _{a,b,c}	12.6 ± 3.8 _a	13.3 ± 4.9 _b	12.7 ± 5.6 _c	0.035
IL 6 (pg/mL)	1.72 ± 1.2	1.60 ± 1.2	2.03 ± 3.52	2.88 ± 5.04	0.521

IMC: índice de masa corporal, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. HDL: Lipoproteína de alta densidad HOMA-IR: Resistencia a la insulina

*Se transformaron en logaritmo

Valores expresados con la media ± desviación estándar.

† ANCOVA ajustado por edad, sexo y estadio Tanner. Valores con la misma letra alfabética son diferentes ($p < 0.05$) por el test post hoc test de menor diferencia significativa.

3.-ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESPESOR DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DEL NERVIÓ ÓPTICO EN LOS GRUPOS:

La tabla 9 muestra la distribución global de la capa de fibras nerviosas medida por OCT del nervio óptico, y la distribución parcial en los cuatro cuadrantes de éste.

La zona más gruesa de fibras nerviosas se encontró en el cuadrante inferior, seguido del superior, el nasal y por último, el temporal.

En el grupo de obesidad severa, se observó una disminución global de la RNFL. Estos niños tenían una RNFL más fina respecto a los otros tres grupos tanto en el

cuadrante superior, inferior, y nasal del nervio óptico. Sin embargo, sorprendentemente, no se encontró una asociación estadísticamente significativa con el grosor de la RNFL en el cuadrante temporal y los otros grupos cuando realizamos el ANCOVA test.

El grosor de la RNFL, se observó mayor en los cuadrantes superior e inferior, y menor en los temporales y nasales.

Además de estos hallazgos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los ojos derecho e izquierdo.

Tabla 9. Espesor de la capa de fibras nerviosas (RNFL) en los niños del estudio en función de su z-IMC.

RNFL	Normopeso (n= 27)	Sobrepeso (n=11)	Obesos (n=42)	Obesos severos (n=13)	Valor-p[†]
Espeor medio(μm)	101.2 ± 13.3 ^a	104.9 ± 8.1 ^b	100.4 ± 13.2 ^c	90.7 ± 10.1 ^{a,b,c}	0.029
Superior (μm)	126.0 ± 20.4 ^a	135.3 ± 13.7 ^b	124.5 ± 19.4 ^c	113.3 ± 20.1 ^{a,b,c}	0.040
Nasal (μm)	74.9 ± 14.1 ^a	73.4 ± 12.1 ^b	73.5 ± 13.6 ^c	61.2 ± 9.8 ^{a,b,c}	0.029
Inferior (μm)	132.7 ± 17.6 ^a	138.3 ± 14.9 ^b	131.1 ± 20.5	118.1 ± 17.8 ^{a,b}	0.048
Temporal (μm)	67.7 ± 13.5	73.2 ± 9.6	70.0 ± 15.9	68.3 ± 13.3	0.648

Valores expresados con la media ± desviación estándar.

† ANCOVA ajustado por edad, sexo y estadio Tanner. Valores con la misma letra alfabética son diferentes ($p < 0.05$) por el test post hoc test de menor diferencia significativa.

En la figura 20, se observa cómo los niños OS presentan una disminución importante en las fibras nerviosas respecto a los otros niños en todos los cuadrantes, excepto en el temporal.

También se pone de manifiesto como el espesor de la RNFL del cuadrante temporal se mantiene con el mismo grosor en los diferentes grupos de participantes.

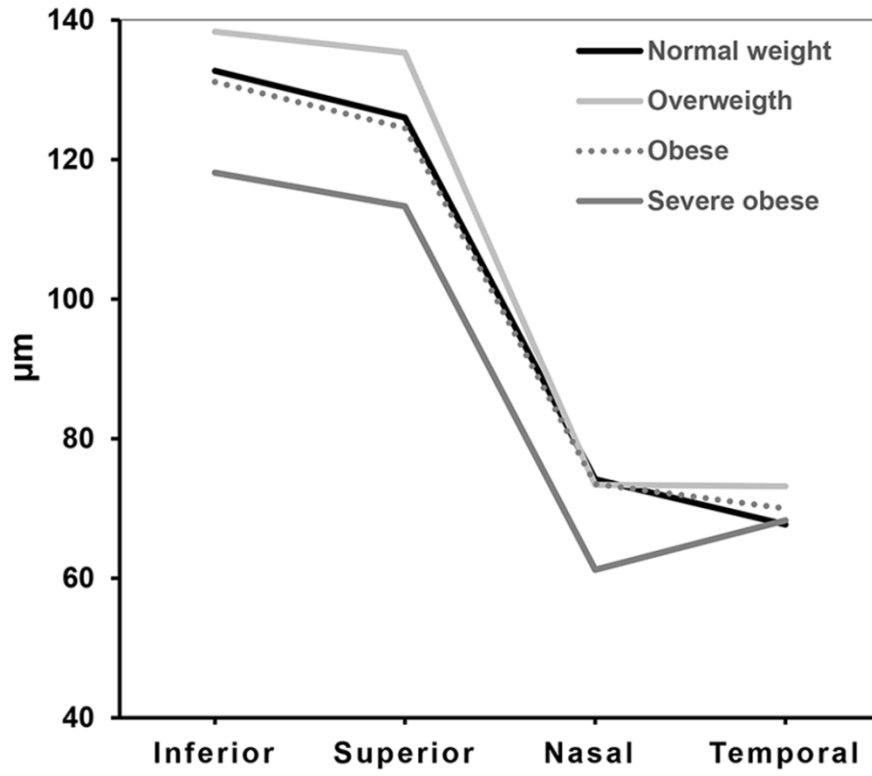


Figura 20. Grosor de la RNFL en los participantes del estudio. Normopeso (NP), sobrepeso (SP), obeso (O) y obesos severos (OS).

4.- CORRELACIÓN PARCIAL ENTRE LA RNFL Y LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y ANALÍTICAS DE LOS GRUPOS SP,O Y SO :

En la tabla 10 se observan el resultado del coeficiente de correlación parcial de Pearson en grupos de niños con sobrepeso, obeso y obesidad severa basado en la media de la RNFL en relación con las características antropométricas y bioquímicas. Encontramos una relación inversamente proporcional entre los índices de adiposidad como lo son, el IMC y el porcentaje de masa grasa, la leptina, y la citoquina inflamatoria IL-6 con el grosor de la RNFL.

Éstos hallazgos sugieren que la adiposidad y el estado inflamatorio es un factor de riesgo del daño en el nervio óptico.

No se encontró ninguna correlación con otros factores de riesgo metabólico como la presión arterial, el metabolismo de carbohidratos o el perfil lipídico con el grosor de la RNFL.

Tabla 10: Correlación parcial de Pearson (r) ajustado por edad, sexo y estadio Tanner entre la media del log de la RNFL y datos clínicos y bioquímicos de todos los niños (n=66)		
	r	Valor p
IMC-z	-0.302	0.016
IMC	-0.281	0.026
TAS- DE	0.124	0.332
AD- DE	0.080	0.533
HDL colesterol	0.120	0.348
Triglicéridos	0.132	0.301
Glucosa	-0.197	0.122
Log Insulina	0.084	0.515
Log HOMA-IR	0.043	0.735
Leptina	-0.276	0.029
Adiponectina	-0.046	0.720
Interleucina-6	-0.274	0.030

IMC: índice de masa corporal, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. HDL: Lipoproteína de alta densidad HOMA-IR: Resistencia a la insulina.

V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

A.- CALIBRES ARTERIOVENOSOS:

1. IMC Y PORCENTAJE DE MASA GRASA:

La obesidad produce cambios en la microvascularización. La única forma descrita hasta el momento de observarla de manera no invasiva es en la retina. Por ello valorar si el aumento del IMC y masa grasa se relaciona con los diámetros de los vasos retinianos es uno de los objetivos de nuestro trabajo. Estos cambios han sido estudiados en adultos y de manera consistente se ha asociado el aumento de IMC a un engrosamiento de las vénulas retinianas. La mayor parte de las publicaciones también asocian el aumento del IMC y masa grasa con un estrechamiento de las arteriolas retinianas (71) (75). No obstante existen publicaciones en las que sólo asocian los cambios descritos en las vénulas, no existiendo asociación entre IMC y el estrechamiento del calibre arterial. (70) (115).

Respecto a los niños, que es el objeto de nuestra investigación, existe menos literatura científica al respecto. Hay que tener en cuenta que los niños representan etapas más precoces de la enfermedad, por lo que los cambios deberían ser menores, y su presencia en edades tempranas podría representar un importante factor pronóstico en cuanto a la evolución de las comorbilidades en la obesidad.

Nosotros hemos encontrado un estrechamiento del CRAE, y un engrosamiento del CRVE relacionado con el IMC y el porcentaje de masa grasa. Estos hallazgos concuerdan y confirman la mayoría de los estudios en niños, que refieren los mismos hallazgos (116) (53) (117) (118). Otros autores sin embargo, objetivaron sólo los cambios en los calibres venulares en los niños obesos (119) (120), sin encontrar diferencias en los calibres arteriales. Un meta-análisis reciente sobre 12 publicaciones en niños de diferentes razas encontraron que el IMC se asocia tanto a un engrosamiento del calibre venoso retiniano como a un estrechamiento arteriolar (121), al igual que en nuestros resultados. Esta dilatación generalizada de las vénulas retinianas se produce como respuesta a los cambios que ejerce la obesidad a nivel sistémico como son el aumento del daño endotelial y del estrés oxidativo, el estado inflamatorio de bajo grado, y también por el aumento de la volemia en los obesos, el cual aumenta la capacitancia de las vénulas y por tanto, su calibre (122) (123) (124). Nuestros hallazgos, por tanto, apoyan la evidencia de que altos niveles de adiposidad se asocian con cambios microvasculares precoces.

Siendo que los cambios en los calibres arteriovenosos ocasionados por la obesidad han demostrado prever los accidentes cardiovasculares en adultos, (66) la retinografía en niños obesos con observación y/o medición de los calibres podría presentarse como una prueba de screening de riesgo cardiovascular. Sugerimos también que puedan utilizarse las retinografías seriadas en niños obesos para determinar y realizar seguimiento de su riesgo cardiovascular. Tal y como se hace en pacientes diabéticos o en pacientes con hipertensión arterial mal controlada.

2. – PRESIÓN ARTERIAL:

Nuestro estudio está realizado en niños normotensos pero encuentra una mayor tensión arterial (sistólica, diastólica y media) en los niños obesos respecto a los de normopeso. En parte, esto se explica porque el paciente obeso se caracteriza por una sobrecarga crónica de volumen, principalmente por aumento de la precarga, pero también por aumento de la postcarga y por tanto un aumento de la resistencia a vencer por el ventrículo izquierdo la eyección sanguínea, lo que aumenta la tensión arterial sistólica y diastólica (125) y es por lo que en nuestra serie, aunque dentro de límites normales se observa aumentada en obesos.

Respecto a los cambios que el aumento de presión arterial ejerce en la microvasculatura en niños se ha investigado muy poco. En adultos sabemos que el estrechamiento en las arteriolas retinianas debido a la HTA es un factor predictor independiente de mortalidad cardiovascular (126). Esto resaltaría la importancia de evitar las alteraciones microvasculares en edades tempranas de la vida, pero lo cierto es que se desconoce si los cambios estructurales en la microcirculación en niños debidos a la TA son permanentes, y si pueden llevar a producir daño orgánico (126). En nuestros resultados encontramos la TA relacionada con cambios en la microvasculatura retiniana arterial, sin afectarse la rama venosa, tal y como se han observado en los estudios previos en niños (127) (128), y como está ampliamente estudiado en adultos mayores de 40 años (45) (41) (46) (47). El mecanismo por el que se produce el estrechamiento arteriolar es debido al vasoespasmo provocado por la elevación de ambas presiones arteriales (sistólica y diastólica) y por el aumento del tono vasomotor debido a la autorregulación local por las catecolaminas circulantes, lo que conlleva un aumento de la presión capilar y del flujo sanguíneo (120).

Diferenciando en los subtipos de TA, sólo encontramos el estrechamiento arteriolar retiniano asociado al aumento de TAD, no observando estas diferencias en la TA sistólica. Este resultado no concuerda con los trabajos publicados por Gopinath en preadolescentes (127) y en niños (128) (80) (129) en los que observan el estrechamiento arteriolar retiniano asociado también a la TA sistólica. Del mismo modo los estudios de Gopinath no mostraron diferencias significativas de estrechamiento arteriolar según el IMC mientras que nuestros hallazgos sugieren que existen diferencias entre niños obesos y normopeso. Una explicación para estas discrepancias es que nuestros sujetos son normotensos, mientras que los estudios de Gopinath et al se realizaron en niños hipertensos. Sugerimos que en niños normotensos obesos, la TAD pueda tener un papel más importante en el estrechamiento arteriolar retiniano que los cambios de la TAS. Aunque es necesario estudios más amplios para corroborar dicha suposición.

3. – PARÁMETROS DE RIESGO METABÓLICO CLÁSICOS:

En cuanto a los parámetros clásicos de riesgo cardiovascular nos referimos a la glucosa, TG, y HDL-C. Dado que en nuestros niños no existía aumento de las cifras de glucosa, para una mejor valoración del metabolismo hidrocarbonado hemos incluido la insulina y el índice HOMA-IR, como estimación de la insulinoresistencia.

Nosotros no encontramos ninguna asociación entre estos parámetros con el CRAE. Lo que apoya la hipótesis de que la obesidad y los parámetros que se alteran como consecuencia de ésta no influyen de forma precoz en la circulación arterial, haciéndolo sobre todo en la rama venosa.

Así pues, en cuanto al CRVE sí demostramos que se relacionaba positivamente con los niveles de TG y, de manera negativa, con el HDL colesterol. Estos dos parámetros son criterios del síndrome metabólico. No existen muchos estudios en niños entre calibres retinianos y estos parámetros. Pero, en adultos sí que existen publicaciones previas que asocian la disminución de niveles HDL-C con el engrosamiento venular retiniano, en concordancia con nuestros resultados (130) (131) (75) (69) (71) (68). Incluso, existe un estudio longitudinal prospectivo realizado por Myers en el que relaciona el CRVE con el HDL-C de manera independiente al IMC (132), lo que sugiere que la dilatación venular que observamos se debe a los factores inflamatorios asociados a la obesidad.

Por otra parte, sabemos que la infección y la inflamación se asocian comúnmente con la resistencia a la insulina, y que la obesidad visceral se asocia con un estado inflamatorio crónico de bajo grado, lo que sugiere que la inflamación per sé puede ser un mecanismo potencial mediante el que la obesidad lleve a la resistencia a la insulina (133). En nuestro estudio observamos la Insulina y la HOMA-IR asociadas a la dilatación de las vénulas retinianas. Nuestro resultado concuerda con la teoría de Wisse, y con los resultados recientes de Siegrest (134) en los que asocian niveles elevados de insulina con engrosamiento de calibres venulares de manera independiente al IMC. Parece que la insulina puede regular de manera independiente los diámetros venulares (al D. M., 2013) .Y, de manera inversa, los resultados del estudio de “Blue Mountains Eye Study” mostraban también que las personas con mayores diámetros venulares tenían más riesgo de convertirse en obesos, lo que apoya el papel de la función microvascular en el desarrollo de sobrepeso y de la obesidad (70).

No obstante, en los resultados de Siegrest también asocian los altos niveles de insulina con un engrosamiento de los calibres arteriales, mientras que en nuestros resultados no hemos encontrado cambios en el calibres arteriales relacionados con la insulina. En adultos, se ha hipotetizado que la insulina puede actuar como un vasodilatador en las arterias renales y oftálmicas (135) (136), para mejorar la disponibilidad de glucosa y mejorar el flujo sanguíneo capilar periférico (137) (138). Ese efecto vasodilatador parece estar mediado por la liberación de óxido nítrico (123). La explicación a la disparidad entre la serie de Siegrest y la nuestra podría deberse a las diferencias entre las dos series de presión arterial. En nuestro estudio

a pesar de que todos los sujetos eran normotensos, los obesos presentaban TA mayores, lo que puede hacer pensar que las arteriolas de ellos, por la vasoconstricción que se produce a consecuencia de la presión arterial más elevada (71), sus arteriolas no aumenten de diámetro pese a los estímulos vasodilatadores de la insulina, ya que el papel de la presión arterial es más importante.

4. PARÁMETROS EMERGENTES DE RIESGO METABÓLICO:

El tejido adiposo se ha reconocido recientemente como un órgano inmune capaz de secretar numerosos factores inmunomoduladores y parece tener un papel muy importante en el estado inflamatorio que lleva a la resistencia a la insulina y a la disfunción endotelial (12). De este modo cada vez cobra una mayor importancia el papel proinflamatorio de las citoquinas y de las hormonas secretadas por éste y que generan el estado inflamatorio crónico (133) que contribuye a vasculopatía y riesgo cardiovascular en los obesos (139) (19), tal y cómo nosotros observamos en los resultados de nuestro estudio.

Casi todos los estudios sobre la influencia de las adipoquinas en el aumento de riesgo cardiovascular están realizados en sujetos adultos y obesos (140) Sin embargo identificar los parámetros que se alteran precozmente en niños obesos asintomáticos y estudiar si se relacionan con cambios en la microvascularización retiniana nos proporciona predictores clínicos muy útiles, como mostramos a continuación;

1.- La leptina

Esta hormona es crítica en el balance energético ya que informa al cerebro sobre la depleción o acumulación de las reservas de grasa. Este papel en la homeostasis energética cada vez es más conocido, no así su contribución al estado inflamatorio causado por la grasa abdominal. No obstante, la concentración de leptina en sangre se ha descrito como un factor de riesgo independiente para predecir eventos cardiovasculares, controlados por factores antropométricos y de riesgo metabólico (141).

Nosotros encontramos el aumento de los niveles de leptina asociados tanto de manera negativa con el CRAE, como de manera positiva con el CRVE. Al respecto, sólo encontramos el estudio reciente de Siegrest en 2014 (134) en niños en el observa esta asociación con el engrosamiento del diámetro venular pero dependiente de IMC, y no la relaciona con el estrechamiento arteriolar. En nuestro estudio no solo encontramos también la relación negativa con el CRAE sino que la asociación con el calibre venular se asoció de manera independiente del IMC. Lo que nos apoya la hipótesis de que el aumento de leptina de los niños obesos conduce a estado inflamatorio de bajo grado que lleva a la dilatación de las vénulas retinianas. En estudios animales se ha demostrado su papel como moduladora de

la síntesis de óxido nítrico endovascular, causando vasodilatación (123). Y, se ha hipotetizado que en personas con elevado IMC, los niveles elevados de leptina podrían contribuir a aumentar el diámetro venular (122). Nuestros resultados corroboran esa hipótesis. El mecanismo patogénico que puede explicar el engrosamiento de los diámetros venulares en el contexto de la obesidad y aumento de los niveles de leptina es la inflamación de bajo grado y la activación endotelial producida por el aumento de óxido nítrico mediado por la leptina que conlleva a un engrosamiento del calibre venular en edades precoces (142).

2.- La adiponectina

La adiponectina, es la proteína que más se expresa en el tejido adiposo (143), pero tiene una acción antiaterogénica en contraste con otras adipocinas (19). La adiponectina participa en el metabolismo del glutatión y aumenta la sensibilidad a la insulina. Los niveles de adiponectina son menores en niños con síndrome metabólico (144). En nuestro estudio los niños obesos tienen significativamente niveles más elevados de adiponectina, y ésta se encuentra asociada a un menor diámetro del calibre venular, y a la inversa; niveles bajos de adiponectina como ocurría en los niños con normopeso presentan un diámetro venular mayor. Sólo Siegest et al (134) buscaron relación entre la influencia de la adiponectina en los cambios en los calibres arteriovenosos retiniano, sin encontrar ninguna asociación. Los resultados de nuestro estudio, concuerdan con el papel protector de la adiponectina en el metabolismo oxidativo, y finalmente en la microcirculación retiniana. No observamos ninguna asociación de ésta con el CRAE, lo cual concuerda con los estudios publicados en los que concluyen que el estrés inflamatorio de bajo grado debido a la obesidad se refleja con cambios en el calibre venular, y no en el arteriolar (70).

3.- La Apo A1

La Apo A1 es una apolipoproteína multifuncional que desempeña una variedad de funciones en la fisiología humana entre las que destacan el transporte del colesterol y la regulación de la inflamación, desempeñando una función predominantemente protectora (145).

El estado inflamatorio de bajo grado que se produce en la obesidad produce un aumento en el calibre venoso retiniano, de ahí que el hallazgo en nuestro estudio de una asociación inversa entre la Apo A1 y el CRVE ajustado según el IMC apoye la hipótesis de la Apo A1 como reguladora de la inflamación (146) (147).

No existen estudios previos en humanos que busquen esta asociación. No obstante, en animales se ha demostrado que niveles elevados de Apo A1 inhiben drásticamente la formación de lesiones endoteliales en pacientes con dislipemia, ésto se produce debido a la capacidad antioxidante de la Apo A1 gracias a la

estimulación de la expresión de la enzima antioxidante hemoxygenasa y superóxido dismutasa.

El aumento de niveles de HDL-C y Apo A1 reduce la expresión de citoquinas y moléculas de adhesión celular (148) (149) (150) (151).

Hipotéticamente dado el papel protector de la Apo A1 como antioxidante y antiinflamatorio, capaz de disminuir las complicaciones de la obesidad, y a la inhibición de lesiones a nivel vascular, los niveles elevados de Apo A1 protegerían de los cambios en la microvasculatura, tal y como hemos observado en nuestro estudio en la microvascularización retiniana. Al respecto no hay estudios previos que busquen dicha asociación.

4.- La RBP4

La RBP4 es una adipoquina que se ha asociado con enfermedades concomitantes relacionadas con la obesidad demostrándose recientemente que también está asociada con el estrés oxidativo (152) (153)

Las adipoquinas, y en concreto la RBP4 se han asociado con el depósito de grasa visceral y el estado inflamatorio propio de la obesidad.

En nuestro estudio se ha encontrado asociación entre niveles elevados de RBP4 con un aumento de la dilatación venular retiniana, sugiriendo que el estrés oxidativo está implicado en los cambios microvasculares en pacientes obesos ya en etapas precoces de la vida. Nuestros hallazgos sugieren que los niveles de RBP4 pueden ser potencialmente utilizados como una herramienta de screening para identificar a los pacientes obesos con mayor riesgo de desarrollar comorbilidades, principalmente por su asociación con el estrés oxidativo.

5. PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO Y MARCADORES INFLAMATORIOS:

1.- La proteína C reactiva

Existen estudios que han demostrado el papel que juega la inflamación en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares (154) (77) (155). La PCR, es un marcador específico de la inflamación que ha demostrado por sí predecir eventos cardiovasculares (156) (157) (158). De hecho, numerosos estudios muestran una relación lineal entre la PCR y el riesgo cardiovascular (19) y la progresión a diabetes mellitus (159). También se ha correlacionado tanto con un aumento en la resistencia a la insulina como con disfunción endotelial en adultos sanos (160). En nuestro estudio, los niños obesos presentan niveles mayores de hs-RCP de manera

significativa con respecto a los niños sanos, hecho que se explica por el estado inflamatorio de bajo grado asociado a la obesidad.

Respecto al papel de la PCR en los cambios microvasculares, se ha observado que el engrosamiento de los calibres venulares se asocia con niveles elevados de hs-CRP, sugiriendo que el calibre vascular retiniano es un posible marcador de inflamación sistémica (78) (68) (161) (71) (162). En nuestro estudio, realizado en niños encontramos una misma asociación positiva entre hs-RCP y los diámetros venulares retinianos, este engrosamiento venular podría explicarse dentro del contexto inflamatorio asociado a la obesidad. Nuestros resultados concuerdan con los estudios más recientes (80) (130) (134) (163). Lo que corrobora que el aumento de la inflamación sistémica parece tener un mecanismo fisiopatológico en la disfunción microvascular ya en etapas precoces de la vida, similar al que se produce en adultos.

La PCR no se relacionó con los cambios en el calibre arterial, al igual que todos los estudios previos en adultos y en niños. La explicación de por qué el estado inflamatorio de bajo grado no afecta a las arteriolas está detallado más adelante.

2.- La IL-6

La IL-6 en la obesidad, parece tener un doble papel en la sensibilidad a la insulina. Por una parte, los niveles altos de IL-6 en personas con normopeso, aumentan la sensibilidad a la insulina (efecto protector), pero por otra, en sujetos obesos, altos niveles de ésta producen una resistencia a la insulina (efecto dañino) (164).

Según algunos estudios, los niveles de IL-6 están elevados de manera consistente en obesos y en personas con resistencia a la insulina (165) (166)

No obstante los grupos analizados en estos estudios son en adultos (edad media 41 años), lo que puede explicar las diferencias entre éstos y nuestro resultado ya que nosotros no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el valor de IL-6 entre el grupo control y el de obesos. De la misma manera tampoco hemos observado asociación entre ésta y ninguna de las variables estudiadas en la microvasculatura retiniana. Al igual que en la reciente publicación sobre obesidad infantil por Siegrest et al, (134) en los que tampoco relacionaron el IL-6 y los cambios en los diámetros venulares.

En relación al papel de la IL-6 en la microvasculatura, en adultos el estudio MESA y “the Beaver Study” si observaron una asociación entre IL-6 con el aumento de los diámetro venulares. La explicación a esta discrepancia es que en ambos estudios la edad media era de 62 y 63 años respectivamente. Además en el MESA (75), la asociación de IL-6 con los diámetros venulares desaparece al hacer el ajuste con factores de confusión como el tabaco o ser diabético, y en “the Beaver Study” no era un criterio de exclusión tener infecciones agudas o agudizaciones de artritis o otras condiciones que pueden afectar a los niveles de inflamación sistémica (68). De

hecho las diferencias entre las IL-6 entre los dos grupos era muy notable. En nuestro caso con una muestra más homogénea en el que la única diferencia entre los dos grupos es la obesidad, no encontramos diferencias.

Los resultados de nuestro estudio coinciden con los de Siegrest, y las diferencias con los grupos adultos nos llevan a sugerir que la IL-6 en niños obesos no se altera tanto como en adultos, y que no es un buen parámetro para medir efectos precoces sobre la microvasculatura retiniana. No obstante se necesitarían estudios más amplios para corroborarlo.

La GGT, una enzima hepática que metaboliza el glutatión se observó más incrementada en niños con normopeso, pero no se asoció a cambios en la microvasculatura retiniana. Tampoco en otros marcadores que cambian en la obesidad, como el 8-isoprostano, 8-OHdG ni en el GSH hubo diferencias significativas entre los dos grupos de obesos y normopeso, ni tampoco se encontraron diferencias en los calibres arteriovenosos. No hay publicaciones previas que registren estos marcadores del estrés oxidativo en los diámetros venulares retinianos.

3. Hipótesis del papel de la inflamación en los cambios microvasculares:

Nuestros hallazgos están en sintonía con los estudios previos que asocian marcadores inflamatorios con diámetros venulares mayores.

A pesar de que nuestro estudio no ha sido diseñado para determinar los mecanismos patogénicos que favorecen esta asociación, nosotros y otros investigadores (71) (75) (68) (78), hipotetizamos que la explicación podría ser la siguiente: el fibrinógeno elevado producido por el estado de inflamación tiene propiedades hemostáticas, afecta a la agregación plaquetaria, ésta predispone a la trombosis y contribuye a la aterogénesis (167). La fosfolipasa A2 hidroliza los fosfolípidos oxidados para generar lisofosfatidilcolina y ácidos grasos oxidados, los cuales tienen propiedades proinflamatorias y pueden directamente promover la aterogénesis (168). Éste papel de la inflamación en el inicio y en la progresión de la arterioesclerosis está bien establecido (169), y en estas condiciones el engrosamiento de las vénulas se podría deber a un mecanismo similar. Por ejemplo uno de los signos más precoces de inicio de aterogénesis es el daño a la superficie endotelial del vaso. Los radicales libres originados por la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad o por la activación leucocitaria pueden degradar el endotelio (170). Este dato contribuye a que observemos un aumento de la luz del vaso asociado a niveles altos en los marcadores inflamatorios (71). Sin embargo, el hecho de que las arteriolas no aumenten su diámetro con los cambios inflamatorios, es debido a que, en ellas, el papel de la presión arterial sea más importante produciendo vasoconstricción, y por la aterogénesis. Se ha observado cómo el estrechamiento arteriolar refleja la vasoconstricción causada por en el engrosamiento de la capa íntima, la hiperplasia de la capa media, y por la esclerosis de la pared del vaso (71). Debido a este aumento en la rigidez de las arteriolas,

éstas son menos capaces de dilatarse que las vénulas ante los estímulos inflamatorios.

Debido a esta diferenciación histológica y en el comportamiento de la rama arterial y la venosa, es preferible utilizar los índices arteriales y venosos por separado, como CRAE y CRVE respectivamente para valorar los cambios en la microvasculatura retiniana, mejor que la AVR (68).

A este contexto de inflamación y de daño endotelial se le sumaría el papel de la leptina como moduladora de la expresión de óxido nítrico, aumentando el NO endovascular y produciendo vasodilatación, y el papel de la apoproteína A1 como protectora de los cambios en la microvasculatura, como hemos observado en nuestro estudio. Éstos hallazgos deberían de confirmarse en estudios más amplios.

Hasta ahora tanto en clínica como en estudios epidemiológicos el IMC era el cociente más utilizado para distribuir a las personas con bajo peso, normopeso, sobrepeso y obesidad (171). Los estudios que hemos citado utilizan este parámetro para relacionarlo con los cambios en los calibres arteriovenosos retinianos. Pero el IMC no refleja exactamente la cantidad de la masa grasa, así como los cambios en los parámetros inflamatorios y adipoquinas que ésta genera. Así pues creemos que deberían de introducirse medidas más detalladas sobre la composición del cuerpo humano, teniendo en cuenta el porcentaje de masa grasa, así como el perfil dislipémico, la leptina, la Apo A1 en los estudios epidemiológicos que investigan sobre la obesidad y sus efectos biológicos.

Respecto al papel de la obesidad como causante de un estado inflamatorio de bajo grado casi todas las publicaciones se han realizado en adultos, donde aumentan los factores de confusión. La fuerza de nuestro estudio es que está realizada en niños sanos, realizamos mediciones de los calibres arteriovenosos en la retina (algunos estudios estadifican la retinopatía según grado de arterioesclerosis mediante observación, perdiendo los signos más precoces), y que hemos estudiado la interrelación de marcadores emergentes que no se habían estudiado antes con los cambios en la microvasculatura. Para todo ello ha sido necesaria una interrelación entre los servicios de Laboratorio, Pediatría y Oftalmología.

Las limitaciones, las características de los participantes estudiados. Nosotros sólo incluimos niños de 5 a 14 años, y españoles, por lo que consecuentemente nuestros resultados no pueden ser aplicables en otras razas, o personas de edad más avanzada. Se necesitarían más investigaciones que incluyan un mayor número de participantes. Y el hecho de que el estudio sea transversal, con lo que al estar interrelacionados los diferentes parámetros, perdemos la secuencia temporal entre disfunción endotelial, inflamación y cambios en los diámetros venulares. Estudios posteriores diseñados longitudinalmente podrían realizarse para determinar esa secuencia.

Por otra parte, sería muy interesante averiguar si el control de la obesidad con normalización de la masa grasa lleva a cambios en la microvasculatura. Ello podría ser estudiado en otros estudios longitudinales o en ensayos clínicos.

En conclusión, este trabajo establece una relación entre varios parámetros analíticos y antropométricos asociados con la obesidad y los cambios en la microvasculatura retiniana en niños y adolescentes. Nuestros hallazgos concuerdan con la evidencia científica de que la obesidad pediátrica tiene efecto en el sistema microvascular.

B.- NERVIÓ ÓPTICO:

Hemos querido buscar alteraciones también sobre el nervio óptico ya que la obesidad repercute sobre diferentes órganos y tejidos de nuestro organismo a lo largo de nuestra vida, y es en la infancia, en la cual los efectos nocivos de ésta se mantendrán durante más tiempo.

En los últimos años, el análisis del grosor de la RNFL a través de la OCT está cobrando una mayor importancia en el análisis del nervio óptico en niños, ya que es no invasiva, y rápida de realizar. (172) (173) (174) (92) (175) (176)

La OCT de dominio espectral de última generación posee más resolución y es más rápida en el tiempo de adquisición de imagen, lo que la hace más útil en población pediátrica. En este estudio hemos utilizado OCT-SD Cirrus para adquirir las características del nervio óptico en una población de 93 niños con diferente IMC, para determinar los efectos del sobrepeso y la obesidad en la morfología y morfometría de la RNFL.

Según nuestros resultados, la distribución del grosor de la RNFL (mayor espesor inferior y superior, menor nasal, y el más fino el temporal) está en concordancia con la distribución normal de la RNFL alrededor del nervio óptico demostrada en las bases de datos de OCT de niños normales. (177) (174) (178).

El hallazgo principal de nuestro estudio es que los niños con obesidad presentaban un menor grosor medio de la RNFL asociado al grado de obesidad, a los parámetros de adiposidad (porcentaje de masa grasa y cifras de leptina) y de inflamación.

Además mostramos cómo la disminución del grosor de la RNFL se produjo en los cuadrantes superior, inferior y nasal. Mientras que el cuadrante temporal no estaba afectado.

Puesto que las bases de datos de las OCTs no incluyen niños, publicaciones recientes se han centrado en obtener una fuente fiable medida por diferentes tipos de OCT (Stratus, iVue) y controlar los diferentes factores que pueden influir en las mediciones, como la raza, la edad, el sexo y el estado refractivo. Las conclusiones de estos estudios son que el grosor de la RNFL es específico según la etnicidad. Así pues, éste es más grueso en los hispanicos que en europeos caucásicos. (179) (82), el grosor del cuadrante nasa es mayor en chinos que en caucásicos, y el temporal al contrario. (180) (181). Nuestro estudio se realizó exclusivamente en niños caucásicos. Además, este factor de confusión que sería la raza podría explicar algunas diferencias entre nuestros resultados y los obtenidos en población asiática.

No se ha demostrado asociación entre la edad y las mediciones de la RNFL en niños (179) (82) (180) (182) (183)

En nuestro estudio, las cifras de RNFL no se han visto influenciadas por la edad, al igual que en otros estudios. (178) (176) (184) (107) (185). Se ha descrito que la disminución de la RNFL ocurre pasados los 50 años (185) (186), por lo que la ausencia de correlación entre la RNFL y la edad en los niños no es sorprendente. Sin embargo, se sabe que existe una disminución de las células ganglionares de la retina de manera fisiológica, dependiente de la edad, que es de aproximadamente 0.6% de células por año, lo que se traduce en una disminución de un 0.2% de la RNFL por año, o lo que es lo mismo, de 0.16 a 0.44 micras por año (187) (188).

En este contexto, podríamos afirmar que existe un riesgo potencial en el futuro de los niños con obesidad severa, ya que partirían con una RNFL más fina. No obstante, desconocemos si este teórico planteamiento de desventaja anatómica puede tener consecuencias reales a largo plazo, debido a la falta de conocimiento sobre la disminución de la capa de fibras nerviosas como consecuencia de la obesidad en tejidos y órganos a lo largo de la vida. Sí que es cierto que la OCT del nervio óptico es una herramienta que sirve para hacer un diagnóstico precoz de los cambios neurosensoriales, y que puede ser muy útil para el mejor manejo de los niños con obesidad.

También se han descrito que las diferencias en las mediciones de OCT son debidas al estado refractivo de los niños. Se han descrito correlaciones positivas entre la RNFL y el equivalente esférico (189) (184). Los niños miopes tienen un adelgazamiento no temporal de la RNFL, y un cuadrante temporal más grueso que los no miopes (190)

Para controlar estos factores de confusión, nuestro estudio se realizó en niños sin grandes alteraciones en el estado refractivo y sin enfermedades oculares. Aunque nosotros no medimos la longitud axial de los niños, hay publicaciones previas que han demostrado que el factor de magnificación atribuible a la longitud axial tiene un impacto mínimo en las medidas de la RNFL (185) (176).

Recientemente, Elía et al ha realizado un estudio sobre el espesor de la RNFL medido por OCT cirrus en niños sanos, constatando que no existe asociación con el IMC (191). En este trabajo, tampoco encontramos diferencias entre el IMC y la RNFL en niños normales y con sobrepeso. Sin embargo, si encontramos una asociación estadísticamente significativa en el grosor de la RNFL en los niños con obesidad severa, un punto interesante que no se había estudiado antes. La presencia de exceso de tejido graso produce un desequilibrio de las citoquinas, disminuyendo la adiponectina (que es una citosina antiinflamatoria) y aumentando la leptina, la IL-6 y otras citoquinas proinflamatorias. Esta alteración en el balance produce un estado inflamatorio de baja actividad que está presente en casi todos los niños con altos niveles de obesidad, y que puede ser el responsable de otras comorbilidades asociadas.

En este contexto, podemos especular que el mecanismo de pérdida de la RNFL puede ser consecuencia del proceso siguiente. En pacientes con obesidad, la hiperleptinemia produce un fallo de la respuesta vasodilatadora mediada por el endotelio (dependiente del óxido nítrico) (192) lo que se traduce en un aumento estrés oxidativo, que podría producir en última instancia una pérdida de las células ganglionares, y por tanto una disminución de la RNFL. Por otra parte, el IMC se ha relacionado con el grosor de la RNFL en una publicación reciente, llevada a cabo por Khawaja en adultos (68 años de media de edad) (110).

En dicho estudio concluían que existía una correlación negativa entre el IMC y la RNFL en hombres, no en mujeres. Nosotros, sin embargo, hemos hallado una relación inversa entre el z-IMC con el grosor de la RNFL pero independientemente del sexo. Esta discrepancia puede ser debida a que nosotros hemos estudiado un grupo pediátrico, y es posible que las diferencias según el sexo se observen en edades posteriores.

Es remarcable el hecho de que no encontramos pérdida de fibras nerviosas en el cuadrante temporal en el grupo de obesidad severa. Una posible razón para la conservación del cuadrante temporal puede tener su explicación en bases anatómicas. Sabemos que el nervio óptico está formado por la confluencia de los axones de las células ganglionares de la retina. Éstas se arquean desde la zona inferior, superior, nasal y temporal de la retina para acabar en el nervio óptico, por lo que no todas las fibras realizan el mismo recorrido. Los axones de la retina macular describen un trayecto arciforme, para no cubrir la mácula, hasta llegar al cuadrante temporal de la papila, formando el haz papilomacular. La preservación de este haz es esencial para la visión, ya que sus axones se originan en la misma fóvea. La visión central está garantizada con un mínimo grosor de la RNFL en la parte temporal del nervio óptico. Esta ventaja anatómica ha sido estudiada en otras enfermedades, particularmente en el glaucoma, donde la pérdida de la RNFL, describe el patrón ISNT (inferior superior nasal y temporal), lo que significa que la pérdida de fibras empieza en el cuadrante inferior, y así progresivamente, preservando las fibras temporales hasta los estadios más avanzados de la enfermedad. También en otras condiciones, como la pérdida de fibras de la RNFL dependiente de edad, en la cual las fibras temporales son también las que más tarde se afectan. (193). De nuestros resultados podríamos sugerir que los axones del cuadrante temporal son también los más resistentes a los factores sistémicos que se alteran en la obesidad.

Sabemos que la retina y el nervio óptico cambian con la edad. Al realizar un corte histológico de la cabeza del nervio óptico se pone en evidencia una pérdida de axones con la edad. Es posible que existan alteraciones microvasculares sutiles que vayan en paralelo al daño orgánico, y que éstas se puedan detectar de manera precoz, incluso antes de que aparezcan los síntomas y signos clínicos, como en las enfermedades oftalmológicas. Por ello nos parece muy importante ser capaces de

detectar las alteraciones precoces en niños con obesidad severa para prevenir un daño irreparable del nervio óptico.

Otro hallazgo interesante de nuestros resultados es la reinterpretación de los exámenes con OCT del nervio óptico en niños con obesidad severa. Tendríamos que tener en cuenta que disminución de la RNFL en estos niños de inicio, lo cual es importante tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de otras enfermedades del nervio óptico. Este hallazgo debería de ser incluido en la base de datos de OCT de niños incompleta.

Una posible limitación de este estudio son las características de los participantes estudiados. Nosotros sólo incluimos niños de 6 a 16 años, y españoles. Por lo que consecuentemente nuestros resultados no pueden ser aplicables en otras razas, o personas de edad más avanzada. Se necesitarían más investigaciones que incluyan un mayor número de participantes.

Por el contrario, la mayor fuerza de nuestro trabajo es la consistencia de ser un estudio interdisciplinario entre oftalmólogos y pediatras, comprendiendo diferentes aspectos de la obesidad en niños. Lo que hace que el screening de daño en diferentes órganos, como el ojos, se detecte de una manera precoz. Los pacientes con obesidad se podrían beneficiar de una detección precoz del adelgazamiento de la RNFL. Este análisis preciso y precoz, se podría detectar y proporcionar seguimiento, antes de que se produzca una alteración en la función de éste, como por ejemplo con alteraciones en el campo visual.

En resumen, se ha demostrado que existe una disminución del grosor de la RNFL con la obesidad severa. Este hecho tiene relevancia clínica como punto de partida para diseñar otros estudios con objeto de establecer protocolos de screening interdisciplinarios entre pediatría y oftalmología en la obesidad infantil.

C.- PROTOCOLO:

En base a los resultados obtenidos en nuestro estudio nos parece importante señalar cuál sería nuestro protocolo a seguir en niños obesos para realizar un abordaje integral de los problemas derivados de su obesidad.

En el sistema sanitario español, público y de cobertura universal, resulta prioritario minimizar costes y aprovechar los recursos de los que disponemos. Por ello, planteamos que los servicios especializados de gastroenterología pediátrica en el hospital que reciben niños obesos de los centros de atención primaria, podrían incluir en su protocolo de screening de riesgo cardiovascular una retinografía con medición del calibre venoso retiniano para tener una aproximación diagnóstica del estado inflamatorio y de estrés oxidativo del niño. Un aumento en el calibre venoso nos orientaría a que esos niños puedan tener niveles elevados de parámetros asociados con el estrés oxidativo (como la RBP4 y la leptina) y la resistencia a la insulina (la HOMA-IR) y disminuidos de factores protectores y antioxidantes (como la Apo A1 y

adiponectina) sin tener que solicitar pruebas costosas, y observando directamente el papel de este estado inflamatorio de bajo grado en la microcirculación. También pensamos que resultaría muy útil al pediatra conocer esta alteración microvascular para un mejor control de esos niños debido al potencial riesgo de éstos de niños de desarrollar complicaciones en la microcirculación cardiovasculares o a nivel macrovascular. Para la realización de este test se necesitaría un técnico que realizara la retinografía, tal como se hace habitualmente en el screening de la retinopatía diabética, y que la prueba fuera validada por un oftalmólogo que, a su vez, realizara el cálculo del CRVE. Ese resultado de la prueba se entregaría a su pediatra.

Nos parece que este test es muy útil para el pediatra, económico, puesto que todos los servicios de oftalmología hospitalaria disponen de un retinógrafo, completamente indolora, muy rápida, y que ofrece la posibilidad de realizar imágenes comparativas en el seguimiento del niño obeso.

Por otra parte, en nuestro protocolo, a los niños con obesidad severa, se les realizaría además una OCT del nervio óptico.

En este caso el rendimiento de la prueba sería sobre todo para el oftalmólogo. Podría detectar una disminución precoz de las fibras nerviosas que sería clave para que quedara registrada por si en el futuro ese niño tiene alguna patología del nervio óptico. Y, en el caso de que se observara una disminución de las fibras nerviosas, debido al desconocimiento de la repercusión funcional que ésta pueda tener, recomendaríamos seguimiento por parte de oftalmología para poder realizar un diagnóstico precoz en el caso de que esa anomalía anatómica pudiera tener consecuencias en la visión del niño.

IV- CONCLUSIONES FINALES:

IV.- CONCLUSIONES FINALES

- 1) La obesidad infantil produce cambios estructurales en los vasos retinianos. La medición de los calibres vasculares retinianos mediante retinografía junto con los parámetros que se alteran precozmente en niños obesos asintomáticos proporcionarían predictores clínicos de riesgo cardiovascular muy útiles.
- 2) El estado inflamatorio de bajo grado asociado a la obesidad se asocia a un engrosamiento de las vénulas retinianas ya en edades precoces. El aumento de la leptina, de la PCR, de la RBP4 y la resistencia a la insulina se asocian con una dilatación de las vénulas. Por el contrario, el aumento del HDL-C, Apo A1 y adiponectina presentan una asociación inversa con de la dilatación de las vénulas.
- 3) Es preferible utilizar los índices arteriales y venosos por separado, como CRAE y CRVE respectivamente para valorar los cambios en la microvasculatura retiniana asociados a la obesidad que el cociente AVR.
- 4) La obesidad infantil ocasiona cambios estructurales en el nervio óptico que pueden ser analizados mediante tomografía de coherencia óptica, una prueba no invasiva y útil para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades oculares y procesos sistémicos con repercusión ocular.
- 5) Los niños con obesidad severa presentan una disminución de la capa de fibras nerviosas del nervio óptico, en todos los cuadrantes excepto en el temporal. Los axones de este cuadrante son los más resistentes a los factores sistémicos que se alteran en la obesidad y la preservación de éste es fundamental para garantizar una visión útil.
- 6) La leptina y la IL- 6 se asocian inversamente con el espesor de la capa de fibras nerviosas en el nervio óptico. Concluimos que el estado inflamatorio y el estrés oxidativo debidos a la obesidad puede ser el causante de las alteraciones microvasculares que se producen en la cabeza del nervio óptico y conducen a una disminución de la capa de fibras nerviosas
- 7) Sugerimos que en el seguimiento de niños con obesidad severa por parte de pediatría se podría incluir un estudio oftalmológico de OCT del nervio óptico para permitir una detección precoz del adelgazamiento de la RNFL.
- 8) Como oftalmólogos, tendríamos que tener en cuenta que existe una disminución de la RNFL en niños con obesidad severa tanto para el

IV.CONCLUSIONES FINALES:

diagnóstico como para el seguimiento de otras enfermedades del nervio óptico. Este hallazgo debería de ser incluido en la base de datos de OCT de niños incompleta.

IV. CONCLUSIONES FINALES:

V- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

VIII.- BIBLIOGRAFÍA:

V.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. *Obesity in children and adolescents*. . Cali AM, Caprio S. 2008, J Clin Endocrinol Metab , págs. ;93:S31-S36.
2. *The epidemic of the tirad millenium.Childhood obesity*:. Archenti A, Pasqualinotto L. 2008, Acta Biomed , págs. 79:151-155.
3. *Prevalence of risk factors for metabolic syndrome in adolescents*. Johnson WD1, Kroon JJ, Greenway FL et al. 2001-2006., National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), págs. 163:371-7.
4. WHO. 2016.
5. *Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review*. Berghöfer A1, Pischon T, Reinhold T et al. 2008, BMC Public Health, pág. 8:200.
6. *The ALADINO study:a national study of prevalence of overweight and obesity in spanish children in 2011*. Pérez-Farinós N, López-Sobaler A. 2013, Biomed Res Int.
7. *Childhood obesity, other cardiovascular risk factors, and premature death*. Franks PW1, Hanson RL, Knowler WC et al. 2010, N Engl J Med , págs. 362:485-93.
8. *Is obesity associated with oxidative stress in children?* Codoñer-Franch P1, Boix-García L, Simó-Jordá R et al. 2010, Int J Pediatr Obes, págs. 5:56-63.
9. al, Codoñer Franch P. et. 2009, FEBS J, págs. 276:5738-46.
10. *Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension*. . Jonk AM1, Houben AJ, de Jongh RT et al. 2007, Physiology , págs. 22:252-60.
11. *Role of oxidative modifications in atherosclerosis*. Stocker R1, Keaney JF Jr. 2004 Oct, Physiol Rev. , págs. 84(4):1381-478.
12. *Association of Adipokines with Insulin Resistance, Microvascular Dysfunction, and Endothelial Dysfunction in Healthy Young Adults*. al, Cheng C. et. 2015, Mediators Inflamm.
13. , Pérez-Rambla C, Boix-García L, Faus-Pérez A. *Retinol-binding protein 4 levels are associated with measures of liver and renal function and oxidant/antioxidant status in obese children*. Codoñer-Franch P, Mora-Herranz A, Simó-Jordá R. 2013, J Pediatr. , págs. 163(2):593-5.
14. *Obesity induces signs of premature cardiac aging in younger patients: the role of mitochondria*. Niemann B, Chen Y, Teschner M, Li L, Silber RE, Rohrbach S. 2011, J Am Coll Cardiol, págs. 1:57(5):577-85. .
15. *The relation of lipid peroxidation processes with atherogenesis: a new theory on atherogenesis*. G., Spiteller. 2005, Mol Nutr Food Res, págs. 49:999-1013.

16. *Drug Metab Rev* . **JD., Morrow**. 2000, The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo, págs. 32: 377-85.
17. *Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics*. **Wu LL1, Chiou CC, Chang PY**. 2004, *Clin Chim Acta*, págs. 339:1-9.
18. *Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis*. **Espinola-Klein C1, Rupprecht HJ, Bickel C**. 2007, *Am J Cardiol* , págs. 99: 808-12.
19. *Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease*. . **Berg A. H., Scherer P. E**. 2005, *Circulation Research.*, págs. 96(9):939–949.
20. *Vascular disease in the metabolic syndrome: do we need to target the microcirculation to treat large vessel disease?* **Krentz AJ1, Clough G, Byrne CD**. 2009, *J Vasc Res* , págs. 46:515-26.
21. *Microvascular dysfunction: a potential pathophysiological role in the metabolic syndrome*. **Serné EH1, de Jongh RT, Eringa EC**. 2007, *Hypertension*, págs. 50: 204-11.
22. *Lifestyle intervention improves microvascular reactivity and increases serum adiponectin in overweight hypertensive patients*. **Pasqualini L1, Schillaci G, Innocente S**. 2010, *Nutr Metab Cardiovasc Dis* , págs. 20:87-9.
23. *The optics of fundus examination*. **Snead MP, Rubinstein MP Jacobs PM**. 1992, *Survey of Ophthalmology* , págs. 36:439-445.
24. *Retinal microvascularisation abnormalities and cardiovascular risk*. **Mimoun L1, Massin P, Steg G**. 2009, *Arch Cardiovasc Dis* , págs. 102:449-56.
25. *Eclectic Ocular Comorbidities and Systemic Diseases with Eye Involvement: A Review*. . **Pinazo-Durán MD, Zanón-Moreno V, García-Medina JJ, Arévalo JF, Gallego-Pinazo R, Nucci C**. 2016, *Biomed Res Int*.
26. *Long-term follow-up of acute zonal occult outer retinopathy*. **Hoang QV, Gallego-Pinazo R, Yannuzzi LA**. 2013, *Retina*, págs. 33(7):1325-7. .
27. *Expanded clinical spectrum of multiple evanescent white dot syndrome with multimodal imaging*. **Marsiglia, Gallego-Pinaz, Cunha de Souza et al**. 2016, *Retina*, págs. 36(1):64-74.
28. *Value of multimodal imaging diagnosis of retinal diseases*. **Gallego-Pinazo**. 2016, *Arch Soc Esp Oftalmol* .
29. *Reliability of computer-assisted retinal vessel measurement in a population*. **Sherry LM, et al**. 2002, págs. 30:179-82.
30. *Retinal image analysis: Concepts, applications and potential*. **Patton, N**. 2006, *Progress in Retinal and Eye Research* 25, págs. 99-127.
31. *Multimodal imaging findings in retinal deep capillary ischemia*. . **Dolz-Marco R, Gallego-Pinazo R**. 2014, *Retina*, págs. 34(10):e30-1.

32. *The incidence of neovascular subtypes in newly diagnosed neovascular age-related macular degeneration.* **Jung JJ, Chen CY, Mrejen S et al.** 2014 , Am J Ophthalmol. , págs. Oct;158(4):769-779.
33. *Eye Specialist Hospital International Collaborative Retina Study Group. Outcomes of treatment of pediatric choroidal neovascularization with intravitreal antiangiogenic agents: the results of the KKESH International Collaborative Retina Study Group.* **Kozak I, Mansour A, Diaz R et al.** 2014, Retina, págs. Oct;34(10):2044-52.
34. *Valencia Study On Diabetic Retinopathy VSDR. Enhanced Oxidative Stress and Other Potential Biomarkers for Retinopathy in Type 2 Diabetics: Beneficial Effects of the Nutraceutical Supplements. .* **Roig-Revert, Lleó-Pérez , Zanón-Moreno et al.** 2015, Biomed Res Int.
35. *Automated detection of diabetic retinopathy in retinal images.* **Valverde C, Garcia M, Hornero R, Lopez-Galvez MI. .** 2016, Indian J Ophthalmol, págs. Jan;64(1):26-32.
36. *Normal retinal vascular pattern: arteriovenous ratio as a measure of arterial calibre.* **Stokoe, N., Turner, R.** 1966, Br. J. Ophthalmol. 50,21–40, págs. 50,21–40.
37. *General calibre of the retinal arteries expressed as the equivalent width of the central retinal artery.* **Parr, J.C., Spears,G.F.** 1974, Am.J. Ophthalmol. , págs. 472–477.
38. *Mathematical relationships between the width of a retinal artery and the widths of its branches.* **Parr, J.C.,Spears, G.F.et al.** 1977, Am. J. Ophthalmol. , págs. 478–483.
39. *The association between generalized arteriolar narrowing and blood pressure. .* **Hubbard, L.D., Ehrhardt, B., Klein, R.** 1992, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., págs. 33 (Suppl.),804.
40. *Retinal arteriolar narrowing and incident coronary heart disease in men and women.* **WongTY, Klein R, Sharret AR, Duncan BB, Couper DJ.** 2002, The atherosclerosis Risk in Communities Study.JAMA, págs. 287:1153-1159.
41. *Retinal microvascular abnormalities and blood pressure in older people. The Cardiovascular Health Study.* **Wong TY, Klein R, Klein BEK, Tielsh JM.** 2002, British Journal of Ophthalmology., págs. 86:1007-1013.
42. *Revised formulas for summarizing retinal vessel diameters.* **Knudtson, M.,Lee, K.,Hubbard, L et al.** 2003, Curr. Eye Res. , págs. 27,143–149 .
43. *Blood flow in arteries.* **Macdonald.** 1960, Monographs of the Physiological Society, págs. 30-31.
44. *Classification of retinal lesions in the presence of vascular hypertension. .* **Wagener HP, Clay GE, Gipner JF.** 1947, Trans Am Ophthalmol Soc. , págs. 45:57–73), .
45. *Retinal arteriolar diameters and elevated blood pressure: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. .* **Sharrett AR, Hubbard LD, Cooper LS, et al.** 1999, Am J Epidemiol., págs. 150:263–270.

46. *Hypertensive retinal vessel wall signs in a general older population: the Blue Mountains Eye Study.* **Wang JJ, Mitchell P, Leung H, Rochtchina E, Wong TY, Klein R.** 2003, *Hypertension.*, págs. ;42:534–541.
47. *Does refractive error influence the association of blood pressure and retinal vessel diameters? The Blue Mountains Eye Study.* **Wong TY, Wang JJ, Rochtchina E, Klein R, Mitchell P.** 2004, *Am J Ophthalmol*, págs. 137:1050–1055.
48. *Measurement of vessel tortuosity on fundus photographs.* **Lotmar W, Freiburghaus A, Bracher D.** 1979, *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.*, págs. 211:49 –57.
49. *Retinal arteriolar tortuosity and cardiovascular risk factors in a multi-ethnic population study of 10-year-old children. (CHASE).* **g. Owen, Alicja R, Rudnicka et al.** 2011, *Arterioesclomb Vasc Bioler Thr*, págs. 31:1933-1938.
50. *Quantitative assessment of early diabetic retinopathy using fractal analysis.* **Cheung N, Donaghue KC, Liew G et al.** 2009, *Diabetes Care.*, págs. 32(1):106 – 10.
51. *The retinal vasculature as a fractal. Methodology, reability, and relationship to bloodpressure.* **Liew G, Wang JJ, Cheung N et al.** 2008, *Ophthalmology*, págs. 115(11):1951 – 6.
52. *Retinal Fractals and Acute Lacunar Stroke.* **Cheung N, Liew G, Lindley RI et al.** *Ann Neurol.* In press.
53. *Effect of obesity on retinal vascular structure in pre-adolescent children.* **Gopinath B, Baur LA, Teber E, Liew G, Wong TY, Mitchell P.** 2011, *Int J Pediatr Obes* , págs. ;6:e353-9.
54. *Growth, obesity, and cardiac structures in early childhood: the Generation R Study.* **de Jonge LL, van Osch-Gevers L, Willemsen SP, Steegers EA, Hofman A, Helbing WA, Jaddoe VW.** 2011 May, *Hypertension.*, págs. 57(5):934-40.
55. *Association of parental hypertension with concentrations of select biomarkers in nonhypertensive offspring.* **Lieb W, Pencina MJ, Wang TJ et al.** 2008, *Hypertension.*, págs. 52:381–386.
56. *Childhood adiposity as a predictor of cardiac mass in adulthood: the Bogalusa Heart Study.* **Li X, Li S, Ulusoy E, Chen W, Srinivasan SR, Berenson GS.** 2004, *Circulation*, págs. 110: 3488–92.
57. *Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study.* **Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS.** 2001, *Pediatrics.* , págs. 108:712– 8.
58. *Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men.* **McGill HC, Jr., McMahan CA, Herderick EE, et al.** 2002, *Circulation*, págs. 105:2712.
59. *Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study.* **Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, et al.** 2001, *Lancet*, págs. 358:1400–4.

60. *Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study.* **Raitakari OT, Juonala M, Kahonen M, et al.** 2003, JAMA, págs. 290:2277– 83.
61. *Childhood cardiovascular risk factors and carotid vascular changes in adulthood: the Bogalusa Heart Study.* **Li S, Chen W, Srinivasan SR, et al.** 2003, JAMA, págs. 290:2271– 6.
62. *Change in body mass index from adolescence to young adulthood and increased carotid intima-media thickness at 28 years of age: the Atherosclerosis Risk in Young Adults study. .* **Oren A, Vos LE, Uiterwaal CS, Gorissen WH, Grobbee DE, Bots ML.** 2003, Int J Obes Relat Metab Disord, págs. 27:1383-90.
63. *The relation of obesity throughout life to carotid intima-media thickness in adulthood: the Bogalusa Heart Study.* **Freedman DS, Dietz WH, Tang R, et al.** 2004, Int J Obes Relat Metab Disord, págs. 28:159–66.
64. *Retinal arteriolar diameter and risk for hypertension. .* **Wong TY, Klein R, Sharrett AR, et al.** 2004, Ann Intern Med. , págs. 140:248 –55.
65. *Retinal microvascular abnormalities and incident stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. .* **Wong TY, Klein R, Couper DJ, et al.** 2001, Lancet, págs. 358:1134–40.
66. *Retinal arteriolar narrowing and risk of coronary heart disease in men and women: The Atherosclerosis Risk in Communities Study.* **Wong TY, Klein R, Sharrett AR , et al.** 2002, JAMA, págs. 287:1153–9.
67. *Retinal arteriolar narrowing and risk of diabetes mellitus in middle-aged persons.* **Wong TY, Klein R, Sharrett AR, et al..** 2002, JAMA, págs. 287:2528 –33.
68. *Are inflammatory factors related to retinal vessel caliber? The Beaver Dam Eye Study. .* **Klein R, Klein BE, Knudtson MD, et al.** 2006, Arch Ophthalmol., págs. 124(1):87–94.
69. *Associations between the metabolic syndrome and retinal microvascular signs. The Atherosclerosis Risk in Communities Study.* **Wong TY, Duncan BB, Goldan SH, et al.** 2004, Invest Ophthalmol Vis Sci, págs. 45:2949-2954.
70. *Retinal vessel diameters and obesity: a population-based study in older persons. .* **Wang JJ, Taylor B, Wong TY, Chua B, Rochtchina E, Klein R, et al.** 2006, Obesity (Silver Spring) , págs. 14:206-14 .
71. *Are retinal arteriolar or venular diameters associated with markers for cardiovascular disorders? The Rotterdam Study. .* **Ikram MK, de Jong FJ, Vingerling JR, Witteman JCM, Hofman A, Breteler MMB, et al.** 2004, Invest Ophthalmol Vis Sci, págs. 45:2129-34.
72. *Retinal microvascular abnormalities and their relationship with hypertension, cardiovascular disease, and mortality.* **Wong TY, Klein R, Klein BE, et al.** 2001, Surv Ophthalmol, págs. 46(1):59-80.
73. *Is retinal photography useful in the measurement of stroke risk? TY., Wong.* 2004, Lancet Neurol. , págs. :3(3):179-183.

74. *Retinal arteriolar narrowing and risk coronart heart disease in men and women.* **Wong TY, Klein R, Sharret AR, et al.** 2002, The Artherosclerosis Risk in Communities Study, JAMA, págs. 1153-1159.
75. *Retinal vascular caliber, cardiovascular risk factors, and inflammation: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA).* **Wong TY, Islam FM, Klein R, et al.** 2006, Invest Ophthalmol Vis Sci., págs. 47(6):2341-2350.
76. *Acute-phase proteins and other systemic.* **Gabay C, Kushner I.** 1999, N Engl J Med , págs. 448-454.
77. *Atherosclerosis—an inflammatory disease. .* **R, Ross.** 1999, N engl J Med, págs. 115-126.
78. *Retinal vessel diameters and the role of inflammation in cerebrovascular disease. .* **de Jong FJ, Ikram MK, Witteman JC, et al.** 2007, Ann Neurol., págs. 61(5):491–495.
79. *Elevated.* **Fichtlscherer S, Rosenberg G, Walter DH, et al.** 2000, Circulation, págs. 102(9):1000-1006.
80. *Retinal vessel diameter, obesity and metabolic risk factors in school children(JuvenTUM 3)_.* **H. Hanssen, M. Siegrist, M. Neidig et al.** 2012, Atherosclerosis, págs. 242-248.
81. *Changes in Retinal Vessel Diameter and Incidenceand Progression of Diabetic Retinopathy.* **Ronald Klein, MD, MPH, Chelsea E. Myers, MStat y Kristine E. Lee, MS.** 2012, Arch Ophthalmol, págs. 130(6):749-755.
82. *Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by stratus OCT. .* **Budenz DL, Anderson DR, Varma R, et al.** 2007, Ophthalmology, págs. 114:1046-52.
83. *Computerized image analysis for retinal nerve fiber layer: a preliminary report.* **Huang L, Zhou W, Ye J, Lai DYan Ke Xue Bao.** 1992 , págs. Dec;8(4):182-5.
84. *Optical coherence tomography to detect and manage retinal disease and glaucoma.* **Jaffe GJ, Caprioli J.** 2004, Am J Ophthalmol, págs. 137;156-69.
85. *Res Dev Disabil.* **Robertson J, et al.** 2014, The impact of health checks for people with intellectual disabilities: an updated systematic review of evidence. , págs. 35(10):2450–62.
86. *Optic nerve morphology may reveal adverse events during prenatal and perinatal life—digital image analysis.* **al., Hellstrom et.** 1999, Surv Ophthalmol.
87. *Ocular fundus abnormalities in children born before 29 weeks of gestation: a population-based study.* **al, Hellstrom et.** 2000, Eye (Lond), págs. 14(Pt 3A):324–9.
88. *The range of peripapillary retinal nerve fibre layer and optic disc parameters in children aged up to but not including 18 years of age, as measured by optical coherence tomography: protocol for a systematic review.* **Crevin, Williams, Tilling et al.** 2016 , Syst Rev., pág. Apr:5: 71.

89. *Correlation between retina fibre layer thickness and optic nerve head size: an optical coherence tomography study.* **Savini G, Zanini M, Careli V et al.** 2005, *Br J Ophthalmol*, págs. 89;489-92.
90. *Measurement of normal optic nerve head parameters.* **al., Samarawickrama et.** 2012, *Surv Ophthalmol*, págs. 57(4):317–36.
91. *Morphologic and functional analysis of the optic nerve in premature and term children with OCT, HRT, and pVEP, a 10-year resurvey.* **al., Ruberto et.** 2014, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, págs. 55(4):2367-75.
92. *Retinal nerve fiber layer thickness in normal children measured with optical coherence tomography.* **Salchow DJ, Oleynikov YS, Chiang MF, et al.** 2006, *Ophthalmolog*, págs. 113:786-91.
93. *Optical coherence tomography.* **Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al.** 1991, *Science.* , págs. 254:1178–1181.
94. *Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Measurement Comparison Using Spectral Domain and Swept Source Optical Coherence Tomography.* **Ahnul Ha, Seung Hyen Lee, Eun Ji Lee.** 2016, *Korean J Ophthalmol.*, págs. Apr; 30(2): 140–147.
95. *Cirrus HD-OCT short-term repeatability of clinical retinal nerve fiber layer measurements.* **Wong E, Yoshioka N, Kalloniatis M, Zangerl B.** 2015 , *Optom Vis Sci.* , págs. Jan;92(1):83-8.
96. *Child and adolescent obesity: part of a bigger picture.* **Lobstein T, Jackson-Leach R, Hall K.** 2015, *Lancet*, págs. Jun 20;385(9986);2510-2520.
97. *Molecular mechanisms for vascular injury in the metabolic syndrome.* **Yamagishi S, Nakamura K, Jinnouchi Y, Takenaka K, Imaizumi T.** 2005, *Drugs Exp Clin Res*, págs. 31(3):123-9.
98. *Measures of body shape and adiposity as related to incidence of age-related eye diseases: observations from the Beaver Dam Eye Study.* **al., Howard et.** 2014, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, págs. Apr 21; 55(4):2592-8.
99. *Obesity as a risk factor for Alzheimer's disease: the role of adipocytokines.* **Letra, Santana and Seica.** 2014, *Metab Brain Dis.* , págs. Sep; 29(3):563-8.
100. *Meta-analysis: overweight, obesity, and Parkinson's disease.* **al., Chen et.** 2014, *Int J Endocrinol.*
101. —. **al, Chen et.** 2014, *Int J Endocrinol.*
102. *Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans.* **Taylor, Vincent and.** 2006, *Int J Obes (Lond).*, págs. Mar 30(3):400-18.
103. *PGC-1 α signaling coordinates susceptibility to metabolic and oxidative injury in the inner retina.* **al, Guo et.** 2014, *Am J Pathol.* , págs. Apr; 184(4):1017-29.

104. *J Hum Hypertens.* . **Masiha S, Sundström J, Lind L.** 2013 Jan, Inflammatory markers are associated with leftventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in a population-based sample of elderly men and women., págs. 27(1):13-7.
105. **Pinazo-Duran MD, Renau-Piqueras J, Guerri C.** 1993, *Teratology*, págs. 305-322.
106. **Strömmland K, Pinazo-Durán MD.** 1994, *Teratology*, págs. 50:100-111.
107. *Quantitative analysis of retinal nerve fiber layer thickness of normal children and adolescents.* **Ahn HC, Son HW, Kim JS, Lee JH.** 2005, *Korean J Ophthalmol*, págs. 19:195-200.
108. *Optical coherence tomography (OCT): imaging the visual pathway as a model for neurodegeneration.* . **Galetta KM, Calabresi PA, Frohman EM, Balcer LJ.** 2011, *Neurotherapeutics*, págs. 8:117–32.
109. *Retinal nerve fiber layer and ganglion cell-inner plexiform layer thickness in children with obesity.* . **al, Demir et.** 2016, *Int J Ophthalmol.* , págs. 9(3): 434–438.
110. *Associations with retinal nerve fiber layer measures in the EPIC-Norfolk Eye Study.* **Khawaja AP, Chan MP, Garway-Heath DF, et al.** 2013, *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, págs. 54:5028-34.
111. *WHO Multicentre Growth Reference Study Group. Comparison of the World Health Organization (WHO) Child Growth Standards and the National Center for Health Statistics.* **de Onis M, Onyango AW, Borghi E et al.** 2006, *Public Health Nutr*, págs. 9(7):942-7.
112. *Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents.* . **de Onis M, Onyango AW, Borghi E et al.** 2007, *Bull World Health Organ.*, págs. Sep;85(9):660-7.
113. *Neck circumference as a predictor of metabolic syndrome, insulin resistance and low-grade systemic inflammation in children: the ACFIES study.* **Gomez-Arbelaez D, Camacho A et al.** 2016, Vol. *BMC Pediatr*16: 31.
114. *Computer algorithms for the automates measurement of retinal arteriolar diameters.* **N Chapman, N Witt, X Gao, A A Bharath et al.** 2001, *Br J Ophthalmol* , págs. 85:74-79.
115. *Retinal microvascular changes and the risk of developing obesity: population-based cohort study.* **Shankar A, Sabanayagam C, Klein BEK, Klein R.** 2011, *Microcirculation*, págs. 18:655-62.
116. *The Relationship between Changes in Body Mass Index and Retinal Vascular Caliber in Children.* **Kurniawan, E. Cheung CY, Ting Tay et al.** 2014, *J Pediatr*, págs. 165:1166-71.
117. *BMI and retinal vascular caliber in children.* . **Cheung N, Saw SM, Islam FMA, Rogers SL, Shankar A, de Haseth K, et al.** 2007, *Obesity (Silver Spring)*, págs. 15:209-15.
118. *Body mass index and its effects on retinal vessel diameter in 6-yearold children.* . **Taylor B, Roctchina E, Wang JJ, Wong TY, Heikal S, Saw SM, et al.** 2007, *Int J Obes (Lond)*, págs. 31:1527-33.

119. *Retinal vessel diameter, obesity and metabolic risk factors in school children (JuvenTUM 3)*. . **Hanssen H, Siegrist M, Neidig M, Renner A, Birzele P, Siclovan A, et al.** 2012, *Atherosclerosis*, págs. 221:242-8.
120. *The relationship of body fatness indices and retinal vascular caliber in children*. . **Li LJ, Cheung CYL, Chia A, Selvaraj P, Lin XY, Mitchell P, et al.** 2011, *Int J Pediatr Obes*, págs. 6:267-74.
121. *Obesity and the microvasculature: a systematic review and meta-analysis*. *PLoS One*. . **Boillot A, Zoungas S, Mitchell P, et al.** 8, 2013.
122. *Lepti induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms*. **Leombo G, Vecchione C, Fratta L et al.** 2000, *Diabetes*, págs. 49:293-297.
123. *Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway*. . **Vecchione C, Maffei A, Colella S, et al.** 2002, *Diabetes*, págs. 51:168-173.
124. *Arterial and venous compliance in obese and nonobese subjects*. **Oren S, Grossman E, Frohlich ED.** 1996, *Am J Cardiol*. 1996, págs. 77:665-667. .
125. *Left ventricular diastolic function and cardiometabolic factors in obese normotensive children*. **Porcar-Almela M, Codoñer-Franch P, Tuzón M, Navarro-Solera M et al.** 2015, *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, págs. 25(1):108-15.
126. *Blood pressure and retinal arteriolar narrowing in children*. **Mitchell P, Cheung N, de Haseth K, et al.** 2007, *Hypertension*, págs. 49:1156–62.
127. *Blood pressure is associated with retinal vessel signs in preadolescent children*. **Gopinath B., Baur L., Wang JJ et al.** 2010, *Journal of Hypertension* , págs. 28:1406–1412.
128. *Parental History of Hypertension Is Associated With Narrower Retinal Arteriolar Caliber in Young Girls*. **Gopinath B, Baur L. Hardy L. et al.** 2011, *Hypertension*, págs. 58:425-430.
129. *Influence of Blood Pressure on Retinal Vascular Caliber in Young Children* . **Li L-J, Cheung C, et al.** 2011, *Ophthalmology* , págs. 118:1459–1465.
130. *Retinal arteriolar tortuosity and cardiovascular risk factors in a multi-ethnic population study of 10-year-old children; the Child Heart and Health Study in England (CHASE)*. **Owen CG, Rudnicka AR, Nightingale CM.** 2011, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* , págs. 31, 1933-1938.
131. *High prevalence of retinal endothelial dysfunction in obesity WHO class III* . **Lammert A., Hasenberg T. et al.** 2012, *Microvascular Research* , págs. 362–366.
132. *Determinants of Retinal Venular Diameter: the Beaver Dam Eye Study* . **Myers C., Klein R., Knudtson M.** 2012, *Ophthalmology*. , pág. 119(12).
133. *The Inflammatory Syndrome: The Role of Adipose Tissue Cytokines in Metabolic Disorders Linked to Obesity*. **al, Wisse B et.** 2004, *American society of nephrology*, págs. 2792-2800.

134. *Association of leptin and insulin with childhood obesity and retinal vessel diameters.* **Siegrist M, Hanssen H, Neidig M, Fuchs M, Lechner F, Stetten M, Blume K, Lammel C, Haller B, Vogeser M, Parhofer KG & Halle M.** (Lond) : Int J Obes , 2014, Vols. 38, 1241–1247.
135. *Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans.* **Scherrer U, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Nicod P.** 1994, J Clin Invest, págs. 94: 2511–2515.
136. *Renal and ocular hemodynamic effects of insulin.* **Schmetterer L, Muller M, Fasching P, Diepolder C, Gallenkamp A, Zanaschka G et al. .** 1997, Diabetes, págs. 46: 1868–1874.
137. *Effects of insulin and the combination of insulin plus metformin (glucophage) on microvascular reactivity in control and diabetic hamsters. .* **Bouskela E, Cyrino FZ, Wiernsperger N.** 1997, Angiology, págs. 48: 503–514.
138. *Waist circumference leads to prolonged microvascular reactive hyperemia response in young overweight/obese women. .* **Kraemer-Aguilar LG, Maranhao PA, Cyrino FZ, Bouskela E.** 2010, Microvasc Res , págs. 80: 427–432.
139. *Adipokines and insulin action: a sensitive issue. .* **Knights A. J., Funnell A. P., Pearson R. C., Crossley M.** 2014, Adipocyte., págs. 3(2):88–96.
140. *Perivascular fat and the microcirculation: relevance to insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease. .* **Houben A. J., Eringa E. C., Jonk A. M., Serne E. H., Smulders Y. M., Stehouwer C. D.** 2012, Current Cardiovascular Risk Reports., págs. 6(1):80–90. .
141. *Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). .* **Wallace AM, McMahan AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, Sattar N:.** 2001, Circulation, págs. 3052–3056.
142. *Leptin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. .* **Koh KK, Park SM, Quon MJ.** 2008, Circulation 2008; , págs. 117: 3238–3249.
143. *Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity.* **Arita Y., Kihara S., Ouchi N., et al.** 1999, Biochemical and Biophysical Research Communications., págs. 257(1):79–83.
144. *Adiponectin is a candidate marker of metabolic syndrome in obese children and adolescents. .* **Gilardini L, McTernan PG, Girola A, da Silva NF, Alberti L, Kumar S et al.** 2006, Atherosclerosis , págs. 189: 401–407.
145. *Serum Apolipoproteins Are Associated With Systemic and Retinal Microvascular Function in People With Diabetes .* **Sasongko M, Wong TY, Nguyen, .** 2012, Diabetes., págs. 61(7): 1785–1792.
146. *RISK and SAFE signaling pathway involvement in apolipoprotein A-I-induced cardioprotection.* **Kalakech H, Hibert P, Prunier-Mirebeau D, Tamarelle S, Letournel F, Macchi L, Pinet F, Furber A, Prunier F.** 2004, PLoS One, pág. 19;9(9).
147. *Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis.* **Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, .** 2011, N Engl J Med., págs. 364(2):127-35.

148. *Relaxin decreases renal interstitial fibrosis and slows progression of renal disease.* **Garber SL, Mirochnik Y, Brecklin CS, Unemori EN, Singh AK, Slobodskoy L, Grove BH, Arruda JA, Dunea G.** 2001, *Kidney Int.*, págs. 59(3):876-82.
149. *Regulated secretion in endothelial cells: biology and clinical implications.* . **Datta YH, Ewenstein BM.** 2001, *Thromb Haemost.* , págs. 86(5):1148-55.
150. *Effects of D-4F on vasodilation and vessel wall thickness in hypercholesterolemic LDL receptor-null and LDL receptor/apolipoprotein A-I1 double-knockout mice on Western diet.* . **Ou J, Wang J, Xu H.** 2005, *Circ Res.*, págs. 97(11):1190-1197.
151. *D-4F induces heme oxygenase-1 and extracellular superoxide dismutase, decreases endothelial cell sloughing, and improves vascular reactivity in rat model of diabetes.* . **Kruger AL, Peterson S, Turkseven S et al.** 2005 Jun 14, págs. 111(23):3126-34.
152. *Retinol-binding protein 4 levels are associated with measures of liver and renal function and oxidant/antioxidant status in obese children.* **Codoñer-Franch P, Mora-Herranz A, Simó-Jordá R.** 2013, *J Pediatr.*, págs. 163(2):593-5.
153. *Obesity induces signs of premature cardiac aging in younger patients: the role of mitochondria.* . **Niemann B, Chen Y, Teschner M, Li L, Silber RE, Rohrbach S.** 2011, *J Am Coll Cardiol.* , págs. 57(5):577-85.
154. *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation.* **Gabay C, Kushner I.** 1999, *N Engl J Med.* , págs. 340(6): 448–454.
155. *Inflammation in atherosclerosis.* . **P., Libby.** 2002, *Nature.* , págs. 420(6917):868–874.
156. *Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for health care professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association.* **Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al.** 2013, *Circulation*, págs. 107(3)499-511.
157. *Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease.* **Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, et al.** 2000, *Circulation.* , págs. 102(9):1000–1006.
158. *C-reactive protein is related to extent and progression of coronary and extracoronary atherosclerosis; results from the Rotterdam Study.* . **Elias-Smale SE, Kardys I, Oudkerk M, et al.** 2007, *Atherosclerosis.*, pág. 195(2).
159. *C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus.* . **Pradhan A. D., Manson J. E., Rifai N., Buring J. E., Ridker P. M.** 2001, *The Journal of the American Medical Association.*, págs. 286(3):327–333.
160. *C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? .* **Yudkin J. S., Stehouwer C. D. A., Emeis J. J., Coppack S. W.** 1999, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, págs. 19(4):972-978.

161. *C-Reactive Protein and Retinal Microvascular Caliber in a Multiethnic Asian Population.* **Cheung Yim Lui, Wong TY, Ecosse L et al.** 2010, *Am J Epidemiol*, págs. 171:206–2133.
162. *Retinal vascular caliber and metabolic syndrome in a Chinese population.* **Yuan Y, Ikram MK, Vingerling JR et al.** 2011, *Internal Medicine Journal*.
163. *Body fat distribution, metabolic and inflammatory markers and retinal microvasculature in school-age children. The Generation R Study.* **Gishti O, Jaddoe VW, Hofman A, Wong TY, Ikram MK & Gaillard R.** 2015, *Int J Obes.*, págs. 39, 1482–1487.
164. *Adipokines and insulin resistance.* **Rabe K., Lehrke M., Parhofer K. G., Broedl U. C.** 2008, *Molecular Medicine.*, págs. 14(11-12):741–751.
165. *NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X.* **Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D.** 1997, *Diabetologia*, págs. 40:1286–92.
166. *Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance.* **Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G.** 2001, *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, págs. 280:E745–51.
167. *Lipoproteine associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study.* **Oei HH, Meer IM, Hofman A et al.** 2005, *Circulation*, págs. 111:570-575.
168. *Inflammatory markers of coronary risk.* **DJ, Rader.** 2000, *N Engl J Med*, págs. 343:1179-1182.
169. *Smoldering arteries? Low-grade inflammation and coronary heart disease.* **Danesh J.** 1992, *JAMA*, pp. 282:2169-2171.
170. *Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer: implications for platelet-endothelial cell adhesion.* **Vink H, Constantinescu AA.** 2000, *Circulation*, págs. 101:1500-1502.
171. *Beyond the body mass index: tracking body composition in the pathogenesis of obesity and the metabolic syndrome.* **Muller MJ, Lagerpusch M, Enderle J, Schautz B, Heller M, Bosy-Westphal A.** s.l. : *Obes Rev.* 2012;13:6–13.
172. *Macular and retinal nerve fiber layer analysis of normal and glaucomatous eyes in children using optical coherence tomography.* **Hess DB, Asrani SG, Bhide MG, et al.** 2005, *Am J Ophthalmol*, págs. 139:509-17.
173. *Reproducibility of an effect of magnification on optical coherence tomography measurements in children.* **Wang XY, Huynh SC, Burlutsky G, et al.** 2007, *Am J Ophthalmol*, págs. 143:484-8.
174. *Thicknesses of the fovea and retinal nerve fiber layer in amblyopic and normal eyes in children.* **Kee SY, Lee SY, Lee YC.** 2006, *Korean J Ophthalmol*, págs. 20:177-81.

175. *Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in a population of 6-year-old children: findings by optical coherence tomography.* **Huynh SC, Wang XY, Rohtchina E, Mitchell P.** 2006, *Ophthalmology*, págs. 113:1583-92.
176. *Retinal and optic disc findings in adolescence: a population-based OCT study.* **Huynh SC, Wang XY, Burlutsky G, et al.** 2008, *Invest Ophthalmol Vis Sci* , págs. 49:4328-35.
177. *Relationship between retinal nerve fiber layer measurement and signal strength in optical coherence tomography.* . **Cheung CYL, Shun CK et al.** 2008, *Ophthalmology*, págs. 115:1347-51.
178. *Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in a population of 6-year-old children: findings by optical coherence tomography.* **Huynh SC, Wang XY, Rohtchina E, Mitchell P.** 2006, *Ophthalmology*, págs. 113:1583-92.
179. *Variation in optic nerve and macular structure with age and race with spectral-domain optical coherence tomography.* **Girkin CA, McGwin G Jr, Sinai MJ et al.** 2011, *Ophthalmology* , págs. 118:2403-8.
180. *Estimating retinal nerve fiber layer thickness in normal schoolchildren with spectral-domain optical coherence tomography.* **Tsai DC, Huang N, Hwu JJ et al.** 2012, *Jpn J Ophthalmol*, págs. 56:362-70.
181. *Retinal nerve fiber layer thickness in a population of 12-year-old children in central China measured by iVue-100 spectral-domain optical coherence tomography: the Anyang Childhood Eye Study.* . **Zhu BD, Li SM, Li H, Liu LR et al.** 2013, *Invest Ophthalmol Vis Sci* , págs. 54:8104-11.
182. *Optic disc measurements in full term infants.* **Kandasamy Y, Smith R, Wright IM, Hartley L.** 2012, *Br J Ophthalmol*, págs. 96:662-4.
183. *Effect of myopia on the thickness of the retinal nerve fiber layer measured by cirrus HD optical coherence tomography.* **Kang SH, Hong SW, Im SK, et al.** 2010, *Invest Ophthalmol Vis Sci* , págs. 51:4075-83.
184. *Multicenter Spanish study of spectral-domain optical coherence tomography in normal children.* . **Barrio-Barrio J, Noval S, Galdós M, et al.** 2013, *Acta Ophthalmol* , págs. 91:56-63. .
185. *Optical coherence tomography in the eyes of normal children. 1. El-Dairi MA, Asrani SG, Enyedi LB, Freedman SF. Optical coherence tomography in the eyes of normal children.* . **El-Dairi MA, Asrani SG, Enyedi LB, Freedman SF.** 2009, *Arch Ophthalmol*, págs. 127:50-8.
186. *Normal age-related decay of retinal nerve fiber layer thickness.* **Parikh RS, Parikh SR, Sekhar GC, et al.** 2007, *Ophthalmology*, págs. 114:921-6.
187. *Modeling the effects of aging on retinal ganglion cell density and nerve fiber layer thickness.* **Harwerh RS, Wheat JL.** 2008, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, págs. 246:305-14. .
188. *Effects of age on optical coherence tomography measurements of healthy retinal nerve fiber layer, macula, and optic nerve head.* **Sung KR, Wollstein G, Bilonick RA, et al.** 2009, *Ophthalmology*, págs. 116:1119-24.

189. *Spectral domain optical coherence tomography in children: normative data and biometric correlations.* **Al-Haddad C, Barikian A, Jaroudi M, et al.** 2014, BMC Ophthalmol , pág. 14:53.
190. *Estimating retinal nerve fiber layer thickness in normal schoolchildren with spectral-domain optical coherence tomography.* **Tsai DC, Huang N, Hwu JJ et al.** 2012, Jpn J Ophthalmol 2012, págs. 56:362-70.
191. *Normal reference ranges of optical coherence tomography parameters in childhood.* **Elía N, Pueyo V, Altermir I, et al.** 2012, Br J Ophthalmol, págs. 96:665-70.
192. *Nitric oxide production is increased in severely obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation.* **Codoñer-Franch P, Tavárez-Alonso S, Murria-Estal R et al.** 2011, Atherosclerosis , págs. 215:475-80.
193. *Modeling the effects of aging on retinal ganglion cell density and nerve fiber layer thickness.* **Harwerh RS, Wheat JL.** 2008, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol., págs. 246:305-14.
194. *Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults .* **Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM.** 1999-2002. , 2004 JAMA , págs. 291:2847-2850.
195. *Med Clin (Barc).* **Aranceta J1, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L et al.** 2003, Prevalence of obesity in Spain: results of the SEEDO 2000 study, págs. 120:608-12.
196. *Trends in childhood and adolescent obesity prevalence in Oviedo (Asturias, Spain) 1992-2006.* **Martín JJ1, Hernández LS, Gonzalez MG et al.** 2008, Acta Paediat , págs. 97: 955-8.
197. *Blood serum levels of vascular cell adhesion molecule (sVCAM-1), intercellular adhesion molecule (sICAM-1) and endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) in diabetic retinopathy.* **Nowak M1, Wielkoszyński T, Marek B et al.** 2008, Clin Exp Med , págs. 8:159-64.
198. *Role of endothelin-1 receptor blockers on hemodynamic parameters and oxidative stress.* **Piechota A1, Polańczyk A, Goraca A.** 2010, Pharmacol Rep, págs. 62:28-34.
199. *Retinal nerve fiber layer thickness in normal children measured with optical coherence tomography.* **Salchow DJ, Oleynikov YS, Chiang MF et al.** 2006, Ophthalmology, págs. 113(5):786-91.
200. *Retinal microvascular abnormalities and their relations with hypertension, cardiovascular diseases and mortality.* **Wong TY, Klein R, Klein BEK et al.** 2001, Surv Ophthalmol., págs. 46;59-80.
201. *Blood flow in arteries.* **DA., Macdonald.** 1960, Monographs of the physiological society no7, págs. 30-31.
202. *Childhood obesity:The epidemic of the tirad millenium.* **Archenti A, Pasqualinotto L.** 2008, Acta Biomed, págs. 79:151-155.

203. *Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in a population of 6-year-old children: findings by optical coherence tomography.* **Huynh SC, Wang XY, Rochtchina E, Mitchell P.** 2006, *Ophthalmology*, págs. 113:1583-92.
204. *Retinal microvascular changes and the risk of developing obesity: Population-based cohort study.* **Shankar A., Sabanayagam C., Klein B. and Klein R.** 2011, *Microcirculation.*, págs. 18(8): 655–662.
205. *Microvascular dysfunction: An emerging pathway in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance .* **al, Dennis M. J. Muris et.** 2013, *Rev Endocr Metab Disord .*
206. *Computerized image analysis for retinal nerve fiber layer: a preliminary report.* **Huang L, Zhou W, Ye J, Lai D Yan Ke Xue Bao.** 1992, *Chinese.*, págs. Dec;8(4):182-5.

-ANEXOS:

ANEXOS:

ANEXO I: COMITÉ ÉTICO:



**CERTIFICADO DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL
UNIVERSITARIO DOCTOR PESET DE VALENCIA**

D. Daniel Bautista Rentero, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Doctor Peset de Valencia

CERTIFICA:

Que con fecha 2 de abril de 2010 se ha procedido a dar registro de entrada a la documentación presentada por el investigador Dra. Pilar Codoñer Franch, correspondiente al proyecto de investigación titulado: Identificación precoz de complicaciones microvasculares en la obesidad infantil. Relación interdisciplinaria y confección de protocolos basados en análisis de mediadores celulares y moleculares, que se evaluará en la sesión de este Comité Ético del mes de abril de 2010.

Lo que certifico a los efectos oportunos en Valencia, a 2 de Abril de 2010

Fdo. D. Daniel Bautista Rentero.



SECRETARIO CEIC HOSPITAL UNIV. DR. PESET

Dña P. Codoñer
Secretaria CEIC
16-Enero-2013

ANEXO II: CERTIFICADO PERMISO DE UTILIZACIÓN INSTALACIONES DR PESET:



AGÈNCIA VALENCIANA DE SALUT
Departament de Salut València - Doctor Peset

Dña. Pilar Codoñer Franch, jefe de Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr peset de Valencia,

CERTIFICA

Que el estudio: "Identificación precoz de complicaciones microvasculares en la obesidad infantil. Relación inter-disciplinaria y confección de protocolos basados en análisis de mediadores celulares y moleculares"

Va a llevarse a cabo en las instalaciones del Servicio de Pediatría (Consultas Externas) de este Hospital, siendo los investigadores participantes:

- Dña Pilar Codoñer Franch
- Dña Jana Pacheco Cervera
- Dña M^a Dolores Pinazo Durán
- Dña Sheila Pons Vázquez
- Dña Laura Boix García
- Dña Raquel Simó Jordá

Y para que así conste,
Firmo la presente en Valencia a 16 de enero de 2013

Fdo Pilar Codoñer Franch
Jefe Servicio Pediatría

ANEXO III: CONSENTIMIENTO INFORMADO:

CONSENTIMIENTO INFORMADO

**PARA PARTICIPAR EN UN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DOCTOR PESET
DE VALENCIA**

Identificación precoz de complicaciones vasculares y neurológicas en niños y adolescentes con trastornos de la nutrición, mediante un nuevo protocolo interdisciplinario.

Te estamos invitando a participar voluntariamente en este estudio, cuyo objetivo **es estudiar la relación entre el estado del fondo de ojo, las moléculas analizadas en la sangre y la evolución de la obesidad**, con el fin de establecer los pacientes con mayor riesgo de presentar complicaciones circulatorias o neurológicas por estos procesos.

En el presente estudio tu médico pediatra realizará unas sencillas preguntas personales, respecto al estado de salud general y valorará tu estado nutricional, y remitirá al oftalmólogo que examinará los ojos realizando las exploraciones que se llevan a cabo en todas las visitas oftalmológicas (revisión de la visión, inspección de sus ojos, examen mediante los instrumentos oftalmológicos que permiten visualizar todas las partes de los ojos). Se prescribirá un análisis de sangre como se realiza para cualquier control médico habitual (mediante extracción de sangre del antebrazo, en situación de ayunas) y con una mínima cantidad de su sangre se realizaran las pruebas en el laboratorio para la determinación de las moléculas que circulan por nuestra sangre y que son muy importantes para que nuestro organismo funcione correctamente.

Los riesgos y molestias para el análisis son los que se derivan de cualquier extracción de sangre venosa, y la ventaja es que su realización nos informará de muchos datos que no conoceríamos sin esta posibilidad.

Deben saber que la participación en este estudio es voluntaria, y no va a causar más molestias, o va a generar mas visitas médicas que las habituales por la enfermedad, la que le ha llevado a consultar con el médico, y que vamos a estudiar en profundidad.

Según lo dispuesto en la Ley Orgánica de Protección de datos (15/1999 de 13 de diciembre), tú puedes ejercer cuando gustes, y previa solicitud, sus derechos de acceso, rectificación y cancelación de sus datos en cualquier momento. Estate seguro de que la relación con el equipo médico que te atiende no se va a ver afectada si consulta sus datos o solicita información acerca de los resultados o el seguimiento del estudio. El equipo médico se compromete a tratar de forma confidencial tus datos personales en todo momento y para todos los efectos. Y debes saber que no se comercializará en ningún caso con las muestras de tu sangre, ni con los datos personales obtenidos a partir de éstas ni con los resultados del estudio, salvo para lograr un mejor control de los pacientes, si alcanzamos los resultados que sean favorables para este fin.

CONSENTIMIENTO

Yo, (como padre, madre o tutor legal del menor.....
.....)
.....(nombre y apellidos)

Afirmo que he leído detenidamente toda la información que se me ha entregado.

Aseguro que he podido hacer preguntas sobre el estudio. Que he recibido suficiente información sobre el estudio.

Y que he hablado con
(nombre del investigador)

Una vez que he comprendido todos estos conceptos, acepto participar y considero que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados oftalmológicos posteriores

Por todo ello, presto libremente mi conformidad para participar en el estudio titulado: **“Identificación precoz de complicaciones vasculares y neurológicas en niños y adolescentes con trastornos de la nutrición, mediante un nuevo protocolo interdisciplinario”**.

Fecha:/...../.....

Firma del participante, padre/madre o tutor legal

Firma del investigador

DNI del participante

DNI del investigador

