

Original

Estudio de la influencia de la nutrición y genética maternas sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo fetal (Estudio PREOBE)

C. Campoy¹, E. Martín-Bautista¹, L. García-Valdés¹, J. Florido², A. Agil³, J. A. Lorente⁴, A. Marcos⁵, M. C. López-Sabater⁶, T. Miranda-León⁷, Y. Sanz⁸ y J. A. Molina-Font¹; grupo PREOBE

¹Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España. ²Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Universitario "San Cecilio". Granada. España. ³Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España. ⁴Empresa Lorgen SL. España. ⁵Departamento de Nutrición y Metabolismo. Instituto del Frío. CSIC. Madrid. España. ⁶Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. España. ⁷Departamento de Bioestadística. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España. ⁸Grupo de Microbiología. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos. CSIC. Valencia. España.

Resumen

Introducción: La genética y la alimentación de la madre antes y durante el embarazo, las distintas patologías metabólicas maternas, así como la ingesta de nutrientes en los primeros meses de vida del recién nacido parecen estar implicados en la etiología de la obesidad y sus consecuencias a largo plazo. La posible contribución de estos y otros factores, los mecanismos y sus efectos en el metabolismo y desarrollo de la enfermedad están aún en fase de investigación.

Objetivo: Obtener un mayor conocimiento del desarrollo del tejido adiposo fetal y la influencia de factores genéticos, dietéticos y ambientales sobre el riesgo a largo plazo de padecer obesidad.

Metodología: Se han establecido cuatro grupos de estudio de 30 madres gestantes cada uno: 1) grupo control; 2) madres con intolerancia a la glucosa/diabetes gestacional; 3) madres con escasa ganancia ponderal durante el embarazo, y 4) madres con sobrepeso/obesidad al inicio del embarazo. Se realizará un análisis de los siguientes parámetros: 1) ingesta dietética; 2) hábitos y estilo de vida; 3) actividad física; 4) antropometría y composición corporal; 5) estudio hematológico; 6) estudio bioquímico (biomarcadores lipídicos y metabólicos); 7) perfil inmunológico; 8) perfil psicológico; 9) marcadores genéticos, y 10) marcadores microbiológicos; todos ellos relacionados con la formación del tejido adiposo fetal en las primeras etapas de la vida y el riesgo de padecer obesidad en el futuro.

Conclusión: En este proyecto, coordinado por el Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de

STUDY OF MATERNAL NUTRITION AND GENETIC ON THE FOETAL ADIPOSITY PROGRAMMING (THE PREOBE STUDY)

Abstract

Background: Maternal genetics and feeding before and during pregnancy, different maternal metabolic pathologies, as well as nutrient intakes of newborns in their first months of life may be involved in the obesity aetiology and its long-term consequences. The possible role of these and others factors, the mechanisms and the effects on the metabolism, and the development of this disease need further research.

Objective: To acquire more knowledge about foetal adipose tissue development and the influence of genetic, dietetic and environmental factors on the risk to suffer from obesity.

Methodology: Four study groups have been established with 30 pregnant women in each one: 1) control group; 2) mothers with glucose intolerance/gestational diabetes; 3) women with low weight gain during pregnancy, and 4) women with overweight/obesity at the beginning of the pregnancy. The magnitudes to be studied are: 1) dietary intake; 2) life-style habits; 3) physical activity; 4) anthropometry and body composition; 5) haematological study; 6) biochemical study (lipid and metabolic biomarkers); 7) immune function profile related to nutritional status; 8) psychological profile; 9) genetic biomarkers, and 10) microbiological markers; all of them in relation to the development of the foetal adipose tissue in the first stages of life and the risk of suffering from obesity in the future.

Conclusion: This project, coordinated by the Department of Paediatrics of the School of Medicine in the University of Granada, and with the collaboration of well-known and expert research groups, tries to contribute to the knowledge about the obesity aetiology in

Correspondencia: Cristina Campoy Folgoso.
Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina.
Universidad de Granada.
Avda. de Madrid, 11.
18012 Granada. España.
E-mail: ccampoy@ugr.es

Recibido: 25-X-2007.
Aceptado: 10-V-2008.

la Universidad de Granada y que cuenta con la participación de otros grupos de investigación de larga y acreditada experiencia, se pretende obtener un mayor conocimiento de los orígenes de la obesidad en la infancia y posterior desarrollo de esta enfermedad en etapas posteriores de la vida.

(*Nutr Hosp.* 2008;23:584-590)

Palabras clave: *Obesidad. Programación metabólica prenatal. Nutrición. Genética. Gestación.*

Introducción

La nutrición durante los primeros estadios de la vida tiene una importancia crucial al influir tanto en el crecimiento y desarrollo corporal del niño como en la prevención de futuras enfermedades en el adulto. El término "programming" (programación), se ha usado durante muchos años para describir el proceso mediante el cual estímulos o manipulaciones nutricionales ejercidas durante periodos críticos o sensibles del desarrollo, pueden causar cambios a corto y largo plazo, en estructuras y funciones del organismo, comprometiendo la futura salud del individuo^{1,2}.

Actualmente, existen estudios en animales y algunos en humanos, acerca del efecto que puede tener la nutrición en etapas precoces de la vida sobre la aparición de enfermedades cardiovasculares³, obesidad⁴, diabetes tipo 2⁵, hipertensión⁶, neurodesarrollo⁷, salud ósea⁸ e inmunidad⁹. Sin embargo, aún queda mucho por esclarecer acerca de cómo en el ser humano se registran esas improntas. En primer lugar juegan un papel importante los nutrientes que el feto recibe en el medio intrauterino, y esto de manera mucho más compleja de lo que conocíamos hasta hace poco tiempo. Como consecuencia, pequeñas perturbaciones en el crecimiento del tejido adiposo fetal y en la sensibilidad endocrina pueden tener importantes efectos a largo plazo¹⁰. Existe evidencia científica de que la obesidad, verdadera plaga en los países occidentales, puede tener sus raíces antes del nacimiento¹¹. En el caso de madres diabéticas o intolerantes a la glucosa, los niveles de glucosa materna y fetal en sangre son más altos, y esto determina un mayor peso al nacimiento en sus hijos, que tienen riesgo de desarrollar obesidad e intolerancia a la glucosa en la vida adulta^{12,13}. Por tanto, una base genética y el ambiente nutricional intrauterino y neonatal condicionarán una respuesta hormonal que será la vía para el desarrollo de la morbilidad por sobrepeso.

Diferentes mecanismos pueden estar implicados en la programación precoz de la obesidad del adulto, como 1) la regulación de la síntesis y secreción de leptina antes del nacimiento^{14,15}; 2) el papel de los ácidos grasos como mediadores de la expresión génica mediante la activación de los receptores proliferadores peroxisomales (PPARs)¹⁶; 3) la alteración epigenética del genoma fetal¹⁷; 4) la relación tamaño placenta/tamaño fetal¹⁸; 5)

infancy and its subsequent development in later periods of life.

(*Nutr Hosp.* 2008;23:584-590)

Key words: *Obesity. Prenatal programming. Nutrition. Genetics. Pregnancy.*

la red neuroendocrina que regula el apetito¹⁹; 6) la tasa de crecimiento durante la vida postnatal¹⁵; 7) la secreción de insulina como controlador de la glucosa y el regulador periférico del apetito²⁰; 8) la presencia de diabetes mellitus en la madre²¹, y 9) el estrés oxidativo²².

Objetivos del proyecto

El proyecto PREOBE tiene como objetivos principales:

1. Buscar biomarcadores genéticos y bioquímicos indicadores de programación prenatal y postnatal de obesidad.
2. Estudiar el papel de diferentes patologías maternas sobre la expresión génica y las modificaciones en los biomarcadores de sus hijos.
3. Analizar la influencia de diferentes genotipos y la expresión génica de los mismos en las embarazadas y recién nacidos en relación con el desarrollo del tejido adiposo fetal, el crecimiento postnatal y su papel en el desarrollo de la obesidad.
4. Intentar avanzar en el conocimiento del papel de determinados nutrientes y sus interacciones en la dieta materna y del bebé, así como de los hábitos de vida, sobre la programación metabólica en relación con el crecimiento prenatal y postnatal, y sus potenciales implicaciones en el riesgo de desarrollo de obesidad a largo plazo.
5. Explorar el impacto de la "interacción gen-dieta" y el desarrollo prenatal y postnatal, sobre los efectos de la programación precoz de la obesidad y sobre los factores de riesgo de padecer esta enfermedad.

Características y diseño del estudio

Población objeto del estudio

La población objeto de este estudio está formado por mujeres embarazadas de entre 13 y 20 semanas de gestación en el rango de edad de 18 a 45 años. La captación se realiza en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Centro de Salud Zaidín de Granada, adscrito al Hospital Universitario San Cecilio de Granada, asegu-

rándose la heterogeneidad étnica, socioeconómica y de procedencia.

Criterios de inclusión-grupos de estudio

Se establecen cuatro grupos de estudio, uno control y tres grupos problema, formados por embarazadas cuyos hijos corren el riesgo de desarrollar obesidad:

1. Grupo control: mujeres con gestación absolutamente normal sin factores de riesgo y con parámetros somatométricos y nutricionales normales.
2. Grupo de gestantes con intolerancia a la glucosa/diabetes gestacional: formado por madres con intolerancia a la glucosa demostrada por una curva de glucemia patológica durante la gestación a partir de la semana 25, excluyendo las diabéticas pre-gestacionales.
3. Grupo de gestantes con escasa ganancia ponderal durante el embarazo: este grupo está formado por madres con ganancia ponderal por debajo de la curva estándar, fumadoras, o crecimientos intrauterinos retardados.
4. Grupo de gestantes con sobrepeso/obesidad al inicio de la gestación.

Criterios de exclusión

Mujeres gestantes que intervengan en otros estudios de investigación, que reciban tratamiento farmacológico, que consuman drogas, o que padezcan algún tipo de enfermedad metabólica diferente de las mencionadas para los criterios de inclusión.

Tamaño de la muestra

Se ha calculado el tamaño de muestra mínimo necesario para poder alcanzar los objetivos que se pretenden. Para poder detectar una diferencia de una desviación típica entre las medias de los cuatro grupos de estudio con un error de 0,05 y una potencia del 90% se necesitará una muestra mínima de 30 mujeres por grupo.

Diseño experimental del estudio

Se utiliza un modelo de estudio prospectivo observacional, con un muestreo aleatorio representativo de la población materna granadina. Se realizan revisiones y toma de muestras a las 20, 24 y 34 semanas de gestación, en el parto, a la semana del parto, a los 1, 3, y 6 meses después del parto en el caso de la madre; y en el momento del nacimiento, a la semana del nacimiento y a los 3, 6, 9, 12 y 18 meses del hijo.

Metodología

La metodología y parámetros a analizar durante el estudio son:

a) *Historia clínica*: se realiza una revisión médica general y una anamnesis de las pacientes incluyendo los antecedentes médicos, intervenciones quirúrgicas anteriores, antecedentes familiares de enfermedad o fallecimiento, embarazos o abortos previos.

b) *Nutrición*: se realizan encuestas dietéticas especialmente adaptadas para embarazadas, así como para las distintas etapas del primer año y medio de vida de sus hijos, que son elaboradas y supervisadas por especialistas en nutrición.

c) *Actividad física y hábitos de vida*: se realizan cuestionarios para conocer el nivel de actividad física y hábitos de vida que presentan las voluntarias antes y durante el embarazo.

d) *Antropometría y composición corporal*: al inicio del estudio se procede a la medición de la talla de la madre y el control del peso se realiza en cada una de las revisiones. Además, se calcula el índice masa corporal²³, y se corrige mediante estudio ecográfico de la composición corporal. Además se realiza un seguimiento de la evolución de la somatometría fetal siguiendo los estándares y patrones establecidos para las mismas por la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia y siguiendo la metodología de Fanelli (1988)²⁴ y Perin (2000)²⁵. Después del nacimiento, en cada una de las revisiones, los bebés son tallados y medidos y se les determina los pliegues cutáneos, los perímetros y diámetros.

e) *Perfil psicológico de la madre*: para la valoración y detección de síntomas depresivos en las mujeres que han dado a luz se utiliza la Escala de Depresión Postparto de Edimburgo²⁶.

f) *Muestras biológicas*: en la madre se procede a la recogida de las siguientes muestras: heces, orina, cordón umbilical, placenta, sangre, calostro y leche materna. Se obtienen igualmente muestras de heces, saliva y mucosa oral en sus hijos. Todas las determinaciones están sometidas a control interno y externo de calidad según la normativa de cada uno de los centros en donde se realizan.

g) *Estudio hematológico*: recuento de plaquetas y series roja y blanca.

f) *Perfil lipídico*: los parámetros bioquímicos elegidos son: triglicéridos, colesterol total, HDL-colesterol y LDL-colesterol, ácidos grasos.

g) *Perfil metabólico-nutricional*: los parámetros más importantes que se analizan son: glucosa, minerales (calcio, fósforo, hierro y magnesio), vitaminas (A, C y E), de función renal y hepática (prealbúmina, ferritina, urea, ácido úrico, proteína C reactiva, transferrina y creatinina) y control hormonal (parathormona intacta o PTHi, hormona estimulante del tiroides o TSH, somatomedina-C o IGF-1 y la tirosina libre o FT4).

h) *Estudio genético*: en sangre de la madre y sangre de cordón umbilical, mucosa oral de la madre y del

bebé y en la placenta, se analizan el receptor de glucocorticoides (GR); el receptor activado de proliferación de peroxisomas (PPAR); la dehidrogenasa beta-11 hidroesteroide tipo I (11 β HSD1) y la dehidrogenasa beta-11 hidroesteroide tipo II (11 β HSD2).

i) *Perfil inmunológico del estado nutricional*: en suero y leche de la madre, en sangre de cordón umbilical y en la saliva de los bebés, se determina inmunidad innata, inmunidad específica celular y humoral, así como moléculas de adhesión celular, proteínas de inflamación y adipocitoquinas, como la leptina.

j) *Marcadores de estrés oxidativo*: en el plasma de la madre y en sangre de cordón umbilical se analizan marcadores de oxidación mediante la técnica de Agil (1995)²⁷.

l) *Marcadores microbiológicos*: se estudia la composición de la microbiota de las heces de la madre y del bebé, la mucosa bucal del bebé y el calostro-leche madura de la madre.

Aspectos éticos

El estudio se lleva a cabo siguiendo las normas deontológicas reconocidas por la Declaración de Helsinki (2004) y siguiendo la recomendación de Buena Práctica Clínica de la CEE (documento 111/3976/88 de julio de 1990) y la normativa legal vigente española que regula la investigación clínica en humanos (Real Decreto 561/1993 sobre ensayos clínicos). El estudio ha sido sometido a valoración y ha obtenido la aprobación de los Comités de Ética del Hospital Universitario "San Cecilio" y Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Análisis estadístico

Para el estudio estadístico de los datos obtenidos con el objeto de extraer las conclusiones de nuestro estudio se va a utilizar el paquete de programas estadísticos SPSS 14.0 (Chicago, USA). Se realizará en primer lugar un estudio descriptivo de los datos cuantitativos, obteniendo para las variables cualitativas tablas de frecuencias y porcentajes y realizando los gráficos más adecuados. Posteriormente se aplicará el test de normalidad de Shapiro-Wilk a cada una de las muestras de cada parámetro estudiado. Las variables no normales serán transformadas adecuadamente. En caso necesario se aplicarán tests no paramétricos. Para la comparación de los distintos grupos y a lo largo de las distintas mediciones de cada parámetro en el tiempo, se aplicará el Módulo de Modelo Lineal General para medidas repetidas. Para estudiar las posibles relaciones entre variables se realizarán los correspondientes ajustes bien sean de Regresión Lineal simple o múltiple con sus correspondientes correlaciones o bien, en caso de no existir linealidad, se aplicarán métodos de Regresión no Lineal.

Discusión

La etapa fetal y los primeros años de vida de un ser humano son períodos críticos en la vida, pues se establecen las bases moleculares, genéticas y metabólicas que condicionan el posterior desarrollo o no de ciertas enfermedades. El proyecto PREOBE se ha configurado con la finalidad de aportar conocimientos que permitan reducir la incidencia de la obesidad infantil y del adulto, cuyo origen claramente parece estar en etapas precoces de la vida. Al cubrir un plazo de seguimiento desde el inicio de la gestación hasta los 18 meses de vida postnatal (aunque la idea del grupo es poder seguir a largo plazo a estos niños con futuros proyectos); nos permitirá identificar la importancia relativa de la interacción genes-dieta en las etapas pre- y postnatales en la programación a largo plazo de la salud de la vida adulta, hipótesis controvertida pero muy importante para el desarrollo de estrategias adecuadas de intervención nutricional en nuestra población, especialmente en mujeres en edad fértil y durante los primeros meses de la vida. Sin embargo, los periodos críticos son diferentes según el tejido que se trate, y el efecto de una deficiencia nutricional puede ejercer diferentes efectos en diferentes momentos, que deben ser investigados tanto en animales como en cultivos celulares. Mediante este estudio se podrá evaluar si lo ya publicado en animales de experimentación con algunos parámetros propuestos en este estudio sucede de igual manera en humanos; y así obtener un mejor conocimiento de la programación metabólica, genética y ambiental en periodos críticos del desarrollo.

La manipulación del ambiente tanto metabólico como hormonal en la madre como consecuencia de un incremento o descenso de la ingesta dietética al final de la gestación puede actuar determinando la reducción de la deposición del tejido adiposo en el feto²⁸. Además, la relación entre peso al nacimiento y adiposidad, medida en la infancia y en la edad adulta, es generalmente positiva, aunque algunos estudios han demostrado que existe una relación parabólica en forma de J o de U entre el peso al nacimiento y la masa grasa del adulto, con una alta prevalencia de obesidad que acontecería tanto en los individuos con bajo o alto peso al nacimiento⁸. En el caso de madres diabéticas o intolerantes a la glucosa, los niveles de glucosa materna y fetal en sangre son más altos, y esto determina un mayor peso al nacimiento en sus hijos, que tienen riesgo de desarrollar obesidad e intolerancia a la glucosa en la edad adulta^{29,30}. Por tanto, la inclusión en el estudio de un grupo de mujeres gestantes con diabetes está más que justificada; además de ser una enfermedad es una perfecta candidata para estudiar el impacto biológico del estrés oxidativo, el potencial benéfico de su control, efectos adversos y las complicaciones a largo plazo³¹.

Otro factor importante en la formación y desarrollo del tejido adiposo, y que será analizado en el presente estudio, es la secreción de leptina³², sintetizada en el tejido adiposo y dependiente del tamaño de los adipoci-

tos. Se ha sugerido que altas concentraciones de leptina circulante determinan un desajuste de su acción³³ y de sus receptores en el hipotálamo, de este modo se produciría una disrupción de la vía de transducción de la señal que se requiere para la supresión del apetito^{34,15}. En el presente proyecto, además, se dedicará especial interés a los ácidos grasos poliinsaturados, en especial los n-3, pues juegan un importante papel en la prevención de ciertas enfermedades entre ellas la diabetes tipo 2, la resistencia a la insulina, la hipertensión y las enfermedades cardiovasculares^{35,36}. Recientes estudios sugieren que estos ácidos grasos son importantes mediadores de la expresión génica, mediante la vía PPARs, controlando la expresión de genes involucrados en el metabolismo de los lípidos, de la glucosa y de la adipogénesis^{37,16}.

Respecto al estudio genético, se han seleccionado 4 genes que intervienen de modo evidente en el desarrollo del tejido adiposo fetal y postnatal; de los cuales, dos son receptores, el receptor de glucocorticoides o GR³⁸ y el receptor activado de proliferación de peroxisomas o PPAR- γ ³⁹, y dos son enzimas metabólicas, la dehidrogenasa beta-11 hidroesteroide tipo I o 11 β HSD1⁴⁰ y la dehidrogenasa beta-11 hidroesteroide tipo II o 11 β HSD2⁴¹. De gran importancia son PPAR- γ 1 y PPAR- γ 2, que se generan a partir del mismo gen mediante el uso de un promotor alternativo y un mRNA⁴². Hasta ahora, sin embargo, se sabe poco acerca de la regulación de la expresión de los genes PPAR-g en los tejidos humanos, aunque sí se conoce su expresión por los adipocitos^{43,44}.

El estudio de la microbiota intestinal en nuestro proyecto se debe a la intención de seguir la investigación de Turnbaugh y cols. (2006)⁴⁵, publicada en la revista *Lancet* recientemente, acerca de las alteraciones existentes en la composición de la microbiota intestinal en individuos obesos. Se completará el estudio con el análisis de parámetros inmunológicos (cortisol, leptina, inmunoglobulinas) para valorar el estado nutricional⁴⁶ y de estrés⁴⁷, así como el riesgo de procesos inflamatorios^{48,49}. El estudio de la inmunocompetencia es una herramienta cada vez más reconocida por su utilidad en la detección de desequilibrios nutricionales a nivel subclínico, tanto por exceso como por defecto.

Conclusión

Los resultados del proyecto PREOBE podrán aportar información sobre los efectos adversos a largo plazo de una inadecuada alimentación en etapas precoces de la vida. Asimismo, los conocimientos de cómo los nutrientes pueden ejercer una programación metabólica precoz, sentarán las bases para la futura aplicación de los descubrimientos que se lleven a cabo. La obtención de marcadores de riesgo de expresión génica y bioquímicos de obesidad infantil, así como el reconocimiento de periodos críticos durante la vida fetal y el primer año sobre la aparición de la obesidad, podría

ayudar a prevenirla y así, poder establecer programas de control desde etapas precoces de la vida.

Agradecimientos

El proyecto PREOBE está financiado por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía (Proyecto de Excelencia n.º P06-CTS-02341).

Apéndice

Coordinador del proyecto PREOBE: Cristina Campoy Folgoso, Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada (UGR), Granada.

Investigadores principales del proyecto PREOBE: Cristina Campoy (UGR, Granada); Jesús Florido (UGR, Granada), Ahmad Agil (UGR, Granada), M^a Teresa Miranda (UGR, Granada); José Antonio Lorente (Empresa Lorgen SL, Granada); Ascensión Marcos (CSIC, Madrid); M^a Carmen López-Sabater (UB, Barcelona); Yolanda Sanz (IATA-CSIC, Valencia).

Grupos de investigación e investigadores colaboradores del proyecto PREOBE:

1. *Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada:* Juan Antonio Molina-Font, Rogelio Bayés, Cristina Campoy, Elena Martín-Bautista, Luz García-Valdés, M^a Teresa Segura, Miguel Martín-Matillas, José Antonio Martín-Lagos, Pilar Sánchez Medina.

2. *Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Escuela de Enfermería de la Universidad de Granada:* Jesús Florido, Carmen Padilla, África Caño, Milagros Cruz, Susana Pardillo, Pilar Carretero, Rosa M.^a López.

3. *Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada:* Ahmad Agil.

4. *Departamento de Estadística de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada:* M.^a Teresa Miranda.

5. *Grupo de Inmunonutrición. Departamento de Nutrición y Metabolismo. Instituto del Frío. CSIC. Madrid, España:* Ascensión Marcos, Sonia Gómez, Esther Nova, Javier Romeo, Julia Wärnberg, Ligia Esperanza Díaz.

6. *Departamento de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona:* M^a Carmen López-Sabater, Ana Isabel Castellote, Carolina Moltó Puigmartí.

7. *Empresa Lorgen:* José Antonio Lorente, Juan Carlos Álvarez.

8. *Grupo de Microbiología del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos del CSIC de Valencia:* Yolanda Sanz.

9. *Servicio de Radiología del Hospital Universitario "San Cecilio" de Granada:* José Maximilian Garofano.

Referencias

1. Barker DJ. The fetal origins of diseases of old age. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(Supl. 3):S3-9.
2. Lucas A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. *Arch Dis Child* 1994; 71(4):288-90.
3. Feldt K, Raikkonen K, Eriksson JG, Andersson S, Osmond C, Barker DJ y cols. Cardiovascular reactivity to psychological stressors in late adulthood is predicted by gestational age at birth. *J Hum Hypertens* 2007; 21(5):401-10.
4. Budge H, Gnanalingham MG, Gardner DS, Mostyn A, Stephenson T, Symonds ME. Maternal nutritional programming of fetal adipose tissue development: long-term consequences for later obesity. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005; 75(3):193-9.
5. Fernández-Twinn DS, Ozanne SE. Mechanisms by which poor early growth programs type-2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2006; 88(3):234-43.
6. Riviere G, Michaud A, Breton C, Van Camp G, Laborie C, Enache M y cols. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and ACE activities display tissue-specific sensitivity to undernutrition-programmed hypertension in the adult rat. *Hypertension* 2005; 46(5):1169-74.
7. Hibbeln JR, Davis JM, Steer C, Emmett P, Rogers I, Williams C y cols. Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet* 2007; 369(9561):578-85.
8. Sayer AA, Cooper C. Fetal programming of body composition and musculoskeletal development. *Early Hum Dev* 2005; 81(9):735-44.
9. Krauss-Etschmann S, Hartl D, Heinrich J, Thaqi A, Prell C, Campoy C y cols. Association between levels of Toll-like receptors 2 and 4 and CD14 mRNA and allergy in pregnant women and their offspring. *Clin Immunol* 2006; 118(2-3):292-9.
10. Symonds ME, Pearce S, Bispham J, Gardner DS, Stephenson T. Timing of nutrient restriction and programming of fetal adipose tissue development. *Proceedings of the Nutrition Society* 2004; 63:397-403.
11. Gluckman PD, Hanson MA, Pinal C. The developmental origins of adult disease. *Matern Child Nutr* 2005; 1(3):130-41.
12. Dorner G, Plagemann A. Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk in later life. *Horm Metab Res* 1994; 26(5):213-21.
13. King JC. Maternal obesity, metabolism, and pregnancy outcomes. *Annu Rev Nutr* 2006; 26:271-91.
14. Singhal A, Farooqi IS, O'Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(6):993-9.
15. McMillen, L J Edwards, J Duffield, BS Muhlhausler. Regulation of leptin synthesis and secretion before birth: implications for the early programming of adult obesity. *Reproduction* 2006; 131:415-27.
16. Lombardo YB, Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J Nutr Biochem* 2006; 17(1):1-13.
17. Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition* 2004; 20(1):63-8.
18. Godfrey KM. The role of the placenta in fetal programming—a review. *Placenta* 2002; 23(Supl. A):S20-7.
19. Breier BH, Vickers MH, Ikenasio BA, Chan KY, Wong WP. Fetal programming of appetite and obesity. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 185(1-2):73-9.
20. Hattersley AT, Tooke JE. The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet* 1999; 353(9166):1789-92.
21. Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Programming of appetite and type 2 diabetes. *Early Hum Dev* 2005; 81(12):981-8.
22. Haffner SM, Agil A, Mykkanen L, Stern MP, Jialal I. Plasma oxidizability in subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and NIDDM. *Diabetes Care* 1995; 18(5):646-53.
23. WHO-World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1995; 854:1-452.
24. Fanelli MT, Kuczmarski RJ, Hirsch M. Estimation of body fat from ultrasound measures of subcutaneous fat and circumferences in obese women. *Int J Obes* 1988; 12(2):125-32.
25. Perin F, Pittet JC, Schnebert S, Perrier P, Tranquart F, Beau P. Ultrasonic assessment of variations in thickness of subcutaneous fat during the normal menstrual cycle. *Eur J Ultrasound* 2000; 11(1):7-14.
26. Murray L, Carothers AD. The validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale on a community sample. *Br J Psychiatry* 1990; 157:288-90.
27. Agil A, Fuller CJ, Jialal I. Susceptibility of plasma to ferrous iron/hydrogen peroxide-mediated oxidation: demonstration of a possible Fenton reaction. *Clin Chem* 1995; 41(2):220-5.
28. Symonds ME, Mostyn A, Pearce S, Budge H, Stephenson T. Energy regulation in the fetus: endocrine control of adipose tissue development. *J Endocrinol* 2003; 179:293-99.
29. Silverman BL, Metzger BE, Cho NH, Loeb CA. Impaired glucose tolerance in adolescent offspring of diabetic mothers. *Diabetes Care* 1995; 18:611-17.
30. Plagemann A. Perinatal programming and functional teratogenesis: impact on body weight regulation and obesity. *Physiol Behav* 2005; 86(5):661-8.
31. Rajdl D, Racek J, Steinerova A, Novotny Z, Stozicky F, Trefil L y cols. Markers of oxidative stress in diabetic mothers and their infants during delivery. *Physiol Res* 2005; 54(4):429-36.
32. McMillen IC, Muhlhausler BS, Duffield JA, Yuen BS. Prenatal programming of postnatal obesity: fetal nutrition and the regulation of leptin synthesis and secretion before birth. *Proc Nutr Soc* 2004; 63(3):405-12.
33. Rosado EL, Monteiro JB, Chaia V, Do Lago MF. Effect of leptin in the treatment of obesity and influences of diet in the secretion and action of hormone. *Nutr Hosp* 2006; 21(6):686-93.
34. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(8):327-32.
35. Carrero JJ, Martín-Bautista E, Baro L, Fonolla J, Jiménez J, Boza JJ y cols. [Cardiovascular effects of omega-3-fatty acids and alternatives to increase their intake]. *Nutr Hosp* 2005; 20(1):63-9.
36. Decsi T, Campoy C, Koletzko B. Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv Exp Med Biol* 2005; 569:109-13.
37. Jump DB. Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13(2):155-64.
38. Vottero A, Kino T, Combe H, Lecomte P, Chrousos GP. A Novel, C-Terminal Dominant Negative Mutation of the GR Causes Familial Glucocorticoid Resistance through Abnormal Interactions with p160 Steroid Receptor Coactivators. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002; 87(6):2658-2667.
39. Robitaille J, Brouillette C, Houde A, Lemieux S, Perusse L, Tchernof A y cols. Association between the PPAR- α L162V polymorphism and components of the metabolic syndrome. *J Hum Genet* 2004; 49:482-489.
40. Itoh E, Iida K, Kim DS, Del Rincon JP, Coschigano KT, Kopchick JJ y cols. Lack of contribution of 11 β HSD1 and glucocorticoid action to reduced muscle mass associated with reduced growth hormone action. *Growth Hormone & IGF Research* 2004; 14: 462-66.
41. Núñez BS, Rogerson FM, Mune T, Igarashi Y, Nakagawa Y, Phillipov G y cols. Mutants of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (11-HSD2) With Partial Activity: Improved Correlations Between Genotype and Biochemical Phenotype in Apparent Mineralocorticoid Excess. *Hypertension* 1999; 34:638-42.
42. Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R y cols. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR α gene. *J Biol Chem* 1997; 272:18779-89.

43. Lefebvre AM, Paulweber B, Fajas L, Woods J, McCrary C, Colombel JF y cols. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma is induced during differentiation of colon epithelium cells. *J Endocrinol* 1999; 162:331-40.
44. Rosado EL, Bressan J, Hernández JA, Martins MF, Cecon PR. Effect of diet and PPARgamma2 and beta2-adrenergic receptor genes on energy metabolism and body composition in obese women. *Nutr Hosp* 2006; 21(3):317-31.
45. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JJ. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444(7122):1027-31.
46. Marcos A, Nova E, Montero A. Changes in the immune system are conditioned by nutrition. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(Supl. 1): 566-9.
47. Marcos A, Wärnberg J, Nova E, Gómez S, Álvarez A, Álvarez R y cols. Fermented milk containing yogurt bacteria plus *Lactobacillus casei* DN-114 001 modulates immunological responses associated with academic examination stress. *Eur J Nutr* 2004; 43(6):381-9.
48. Wärnberg J, Nova E, Moreno LA, Romeo J, Mesana MI, Ruiz JR y cols.; AVENA Study Group. Inflammatory proteins are related to total and abdominal adiposity in a healthy adolescent population: the AVENA Study. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(3):505-12.
49. Zulet MA, Puchau B, Navarro C, Martí A, Martínez JA. Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies. *Nutr Hosp* 2007; 22(5):511-27.