

Alteraciones relacionadas con el síndrome X y bajos niveles de vitamina E en niños con obesidad y acantosis *nigricans*

B. Bonet Serra^{a,b}, I. Sánchez-Vera^b, P. Cocho Gómez^c, A. Quintanar Rioja^a, M. Bueno Campaña^a y M. Espino Hernández^a

^aÁrea de Pediatría y Neonatología. Fundación Hospital Alcorcón. ^bUniversidad San Pablo-CEU. ^cCentro de Salud Parque Coimbra. Madrid. España.

Antecedentes

En adultos, tanto las alteraciones metabólicas asociadas al síndrome X, como la disminución en las concentraciones plasmáticas de vitamina E, se han asociado a un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares.

Objetivos

Estudiar en niños obesos con acantosis *nigricans* la presencia de alteraciones metabólicas relacionadas con el síndrome X y determinar las concentraciones plasmáticas de vitamina E.

Métodos

Se llevó a cabo un estudio prospectivo en 42 niños obesos, 15 con acantosis *nigricans* (OB + AN) y 27 sin ella (OB - AN), y 13 niños sanos sin obesidad. En todos ellos, y tras 12 h de ayuno, se determinaron las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, vitamina E, triglicéridos, colesterol y colesterol HDL. Se calculó el índice de resistencia a la insulina. Las diferencias entre grupos se determinaron mediante el análisis de la varianza.

Resultados

Los niños obesos con acantosis *nigricans* presentaron mayores concentraciones de insulina plasmática y de triglicéridos, menores niveles de colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad) y de vitamina E en plasma, así como un índice de resistencia a la insulina más elevado que los niños obesos sin acantosis *nigricans* o que los valores observados en un grupo de niños sin obesidad.

Conclusiones

La presencia de acantosis *nigricans* en niños obesos define a un grupo de niños con alteraciones metabólicas asociadas a un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y diabetes de tipo 2.

Palabras clave:

Acantosis nigricans. Obesidad. Hiperinsulinismo. Vitamina E. Síndrome X.

METABOLIC ALTERATIONS RELATED TO SYNDROME X AND LOW VITAMIN E LEVELS IN OBESE CHILDREN WITH ACANTHOSIS NIGRICANS

Background

In adults, both metabolic alterations related to syndrome X and lower plasma vitamin E levels have been associated with an increased risk of developing cardiovascular disease.

Objectives

To study the presence of metabolic alterations related to syndrome X and to determine the plasma levels of vitamin E in obese children with acanthosis nigricans.

Methods

We performed a prospective study in 42 obese children [15 with acanthosis nigricans (AN) and 27 without]. Thirteen healthy non-obese children were also studied. After a 12-hour fast, plasma levels of glucose, insulin, triglycerides, cholesterol, high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol, and vitamin E were determined. The insulin resistance index was also calculated. Differences between groups were determined using ANOVA.

Results

Obese children with AN showed higher plasma levels of insulin and triglycerides and lower plasma levels of HDL-cholesterol and vitamin E, as well as a higher insulin

Declaración de conflicto de intereses: trabajo parcialmente financiado por Laboratorios Lilly, S.A.

Correspondencia: Dr. B. Bonet Serra.

Servicio de Pediatría. Fundación Hospital Alcorcón.
Budapest, 1. Alcorcón. 28922 Madrid. España.
Correo electrónico: bjbbonet@fhalcorcon.es

Recibido en julio de 2003.

Aceptado para su publicación en septiembre de 2003.

resistance index than non-obese children and obese children without AN.

Conclusions

In obese children, the presence of acanthosis nigricans is linked to a group of metabolic alterations associated with a higher risk of developing cardiovascular disease and type 2 diabetes.

Key words:

Acanthosis nigricans. Obesity. Hyperinsulinism. Vitamin E. Syndrome X.

INTRODUCCIÓN

La obesidad constituye uno de los principales problemas sanitarios en los países occidentales, con una incidencia en aumento, y lo que tal vez sea más relevante es su presentación a edades cada vez más tempranas^{1,2}. En muchos casos, los niños obesos serán adultos obesos^{3,4}, y probablemente las alteraciones metabólicas, ya presentes en la infancia, se mantendrán en la edad adulta.

Relacionado con la obesidad se ha puesto de manifiesto un aumento en la mortalidad y morbilidad asociada a la diabetes mellitus de tipo 2, a la arteriosclerosis y a las enfermedades cardiovasculares secundarias a ésta⁵⁻⁷. Son diversos los factores asociados a la obesidad que en adultos se han relacionado con un aumento en la incidencia de enfermedades cardiovasculares, entre ellos destacan el hiperinsulinismo, la dislipemia, en concreto una elevación en los valores plasmáticos de triglicéridos, y una disminución en los valores de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL), y la hipertensión, alteraciones que en su conjunto han venido a denominarse síndrome X⁸.

La oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) es uno de los procesos claves en el desarrollo de la arteriosclerosis⁹⁻¹¹. Este proceso produce la mayoría de los fenómenos asociados a la arteriosclerosis, entre los que se encuentran la acumulación de colesterol en las arterias, la citotoxicidad, la proliferación de factores inflamatorios, y alteraciones en la coagulación y en la relajación endotelial, entre otras⁹⁻¹¹. La vitamina E es el principal antioxidante de los lípidos, incluidas las LDL, por lo que unos niveles adecuados de vitamina E disminuyen la susceptibilidad de las LDL a oxidarse^{12,13}. De hecho, son numerosos los estudios epidemiológicos que han puesto de manifiesto que tanto una mayor ingesta de vitamina E, como una mayor concentración plasmática de ésta disminuye el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular secundaria a la arteriosclerosis¹⁴⁻¹⁶.

En el presente trabajo se estudia la presencia de alteraciones metabólicas relacionadas con el síndrome X, y las concentraciones plasmáticas de vitamina E en niños obesos con acantosis nigricans, manifestación relacionada con el hiperinsulinismo y con la resistencia a la insulina. Finalmente, quisimos estudiar si estos parámetros diferían

de los hallados en una población de niños obesos sin acantosis nigricans.

MÉTODOS

Población de estudio y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo de forma prospectiva en 42 niños que habían sido referidos a la consulta de endocrinología pediátrica de la Fundación Hospital Alcorcón para evaluación y tratamiento de la obesidad, durante el período comprendido entre enero de 2002 y diciembre del mismo año. Todos ellos presentaban un índice de masa corporal (IMC) superior al percentil 97 para su edad y sexo. En todos ellos se excluyeron causas secundarias de obesidad (hipotiroidismo, hipercortisolismo, etc.). Los 42 niños se dividieron en dos grupos, según presentasen o no acantosis nigricans en la nuca, axila o cara interna de los muslos. Como grupo control se estudiaron 13 niños que habían sido derivados a la consulta para descartar otras enfermedades que no se demostraron en la evaluación posterior (hipotiroidismo, arritmias, etc.). En todos los niños estudiados y dentro de su evaluación habitual, se llevó a cabo una extracción de sangre en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (concentración final 1 mg/ml de sangre), tras separar el plasma, éste se guardó en diferentes alícuotas a -40 °C hasta el momento de llevar a cabo las distintas valoraciones.

Determinaciones bioquímicas

Las concentraciones plasmáticas de glucosa, triglicéridos y colesterol se determinaron utilizando métodos colorimétricos enzimáticos (Menarini Diagnostics, Florencia, Italia[®]) y el c-HDL se valoró utilizando un kit de Roche Diagnostics (HDL-Cholesterol/cholesterol, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania[®]).

Insulina y resistencia a la insulina

La concentración plasmática de insulina se llevó a cabo utilizando un análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) (Mercodia, Uppsala, Suecia[®]), y la resistencia a la insulina se calculó utilizando la fórmula HOMA (resistencia a la insulina = [Glucosa × insulina/22,3])^{17,18}, donde los valores de glucosa e insulina son los valores obtenidos en condiciones basales tras 12 h de ayuno.

Determinación de vitaminas E y A en plasma

Ambas vitaminas se determinaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siguiendo métodos previamente descritos en nuestro laboratorio¹⁹.

Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como la media ± error estándar (EE). Para determinar si las diferentes muestras seguían una distribución normal se llevó a cabo el test de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias entre los

TABLA 1. Características clínicas de los niños estudiados

	Controles	Obesos	
		Sin acantosis nigricans	Con acantosis nigricans
Niños estudiados	13	27	15
Sexo (varón/mujer)	4/9	14/13	8/7
Edad (años)	9,49 ± 0,60	10,97 ± 0,55	11,72 ± 0,72
Talla (m)	1,35 ± 0,01	1,46 ± 0,02 ¹	1,55 ± 0,03 ²
Peso (kg)	33,2 ± 2,55	59,4 ± 3,47 ³	76,2 ± 3,47 ^{3,a}
IMC (kg/m ²)	17,85 ± 0,57	26,93 ± 0,67 ³	30,87 ± 1,30 ^{3,b}
IMC (Z-score)	0,14 ± 0,22	3,70 ± 0,21 ³	4,95 ± 0,38 ^{3,b}
Estadio de Tanner de desarrollo puberal			
Tanner I	7	15	4
Tanner ≥ II	5	12	11

Los números volados muestran las diferencias entre el grupo control y los niños obesos con y sin acantosis nigricans: ¹p < 0,05; ²p < 0,01; ³p < 0,001.

Las letras voladas muestran las diferencias entre niños obesos con y sin acantosis nigricans: ^ap < 0,05; ^bp < 0,01.

IMC: índice de masa corporal.

TABLA 2. Niveles plasmáticos de insulina y glucosa, e índice de resistencia a la insulina en niños obesos con y sin acantosis nigricans y en niños controles

	Controles	Obesos	
		Sin acantosis nigricans	Con acantosis nigricans
Glucosa (mg/dl)	72,7 ± 3,7	78,5 ± 3,4	82,7 ± 3,2
Insulina (mU/l)	6,2 ± 0,2	9,8 ± 1,2	19,7 ± 3,4 ^{1,a}
IRI	1,09 ± 0,2	1,95 ± 0,2 ²	4,14 ± 0,77 ^{1,a}

Los números volados muestran las diferencias entre el grupo control y los niños obesos: ¹p < 0,001; ²p < 0,05.

^aMuestra las diferencias entre niños obesos con y sin acantosis nigricans:

p < 0,001.

IRI: índice de resistencia a la insulina, determinado según el método HOMA¹⁷.

TABLA 3. Niveles plasmáticos de colesterol, colesterol HDL, triglicéridos, vitamina E y vitamina A en niños obesos con y sin acantosis nigricans y en niños controles

	Controles	Obesos	
		Sin acantosis nigricans	Con acantosis nigricans
Colesterol (mg/dl)	162,0 ± 6,7	163,3 ± 7,7	166,7 ± 8,1
Colesterol HDL (mg/dl)	68,6 ± 3,2	51,1 ± 3,5 ¹	41,3 ± 2,8 ²
Triglicéridos (mg/dl)	45,4 ± 3,7	68,7 ± 6,9 ¹	97,6 ± 7,9 ^{2,a}
Vitamina E (μg/dl)	775 ± 64,3	744 ± 49,4	613 ± 78,9
Vitamina E*	3,75 ± 0,3	3,39 ± 0,2	2,29 ± 0,3 ^{1,a}
Vitamina A (μg/dl)	34,8 ± 2,3	34,9 ± 1,7	35,6 ± 2,6

*Vitamina E (μg/mg de colesterol + triglicéridos).

Los números volados muestran las diferencias entre el grupo control y los niños obesos: ¹p < 0,01; ²p < 0,001.

^aMuestra las diferencias entre niños obesos con y sin acantosis nigricans: p < 0,01. HDL: lipoproteínas de alta densidad.

valores observados en los diferentes grupos experimentales se analizaron utilizando un análisis de la varianza con la posterior aplicación del test de Tuckey para aquellas variables que siguieron una distribución normal y se realizó el test de Kruskal-Wallis y la prueba de Mann-Whitney para las que no seguían una distribución normal. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS para Windows®. Se utilizó p < 0,05 como nivel de significancia.

RESULTADOS

Dentro de los niños y adolescentes estudiados con sobrepeso, un 36% de ellos presentaban acantosis nigricans, siendo la edad de este grupo ligeramente superior a la de los controles y de los obesos sin acantosis nigricans, si bien estas diferencias no alcanzan diferencias estadísticamente significativas (tabla 1). También destaca en el grupo de niños obesos con acantosis nigricans la presencia de un IMC superior al grupo de obesos sin ella y al grupo control. La relación entre diferentes sexos es similar en los dos grupos de niños obesos, mientras que en el grupo control existe un ligero predominio de niñas (tabla 1).

La concentración plasmática de glucosa fue similar en los tres grupos de niños estudiados, aunque en el de niños con sobrepeso y acantosis nigricans los valores de glucosa en plasma eran ligeramente superiores a los observados en niños con sobrepeso sin acantosis nigricans y al grupo control (tabla 2); sin embargo, estas diferencias no alcanzaron valores estadísticamente significativos. A pesar de los valores de normoglicemia observado en los tres grupos de niños estudiados, el grupo de obesos con acantosis nigricans presentó una concentración plasmática de insulina y un índice de resistencia a la insulina muy superior al observado en el grupo control y en el grupo de niños obesos sin acantosis nigricans, mientras que no se observaron diferencias significativas entre los valores de insulina y en el índice de resistencia a la insulina hallado entre los niños obesos sin acantosis nigricans y el grupo control (tabla 2).

Los niveles de colesterol plasmático fueron similares en los tres grupos de niños estudiados (tabla 3), al contrario que con los niveles de triglicéridos, donde los niños obesos con acantosis nigricans presentan unos valores de triglicéridos muy superiores a los hallados en el grupo control y en el grupo de niños obesos sin acantosis nigricans, mientras que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles plasmáticos de triglicéridos observados en el grupo de obesos sin acantosis nigricans y el grupo control. Al contrario de lo que sucede con los niveles de triglicéridos plasmáticos, los niños obesos con acantosis nigricans presentan unos niveles de c-HDL inferiores a los observados en el grupo control. Estas diferencias también se observan entre los niños obesos sin acantosis nigricans y el grupo control, si bien son de menor grado (tabla 3).

Finalmente, los valores plasmáticos de vitamina E, el principal antioxidante de los lípidos, en el grupo de niños obesos con acantosis *nigricans* eran muy inferiores a los observados en el grupo control o en los obesos sin acantosis *nigricans* (tabla 3), tanto cuando fueron expresados en valores absolutos como por miligramo de lípidos, si bien sólo en este caso alcanzaron valores estadísticamente significativos. No se observaron diferencias en los valores de vitamina E entre el grupo control y los niños obesos sin acantosis *nigricans*.

Los niveles plasmáticos de vitamina A fueron similares en los tres grupos de niños estudiados (tabla 3).

DISCUSIÓN

Los presentes resultados ponen de manifiesto en niños obesos con acantosis *nigricans* la existencia de importantes alteraciones metabólicas asociadas a un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, entre las que se incluyen: hiperinsulinismo, aumento en el índice de resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia, disminución en los niveles plasmáticos de c-HDL y en los de vitamina E. Estas alteraciones no se observan en el grupo de niños obesos sin acantosis *nigricans*.

Como cabría esperar, dada la asociación entre la resistencia a la insulina con la presencia de acantosis *nigricans*^{20,21}, el grupo de niños obesos con AN presenta hiperinsulinismo y una elevada resistencia a la insulina. El hiperinsulinismo, con independencia de otros factores se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular²², por lo que la presencia de dicha alteración hormonal en niños obesos los define como un grupo de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular, especialmente si la obesidad se mantiene en la edad adulta, como sucede en numerosos casos^{3,4}. Este grupo de niños obesos también define un grupo con un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus de tipo 2, especialmente en aquellos individuos que tengan alteraciones en la secreción pancreática de insulina; de hecho, en el grupo de niños obesos con acantosis *nigricans*, un 48% de éstos presentaba antecedentes de diabetes mellitus de tipo 2 en un familiar directo (padres o abuelos), mientras que dichos antecedentes sólo se observaban en 33% del grupo de obesos sin acantosis *nigricans* y en un 8% de los niños del grupo control. Existen estudios familiares donde se ha puesto de manifiesto la existencia de factores genéticos que predisponen, solos o conjuntamente con factores ambientales al desarrollo de diabetes de tipo 2, por lo que es de esperar que muchos de estos niños acaben desarrollando la enfermedad a temprana edad. De hecho, se está produciendo un importante aumento en la incidencia de diabetes de tipo 2 en adolescentes^{23,24}. No podemos descartar que la mayor resistencia a la insulina observada en el grupo de niños obesos con acantosis *nigricans* sea debida a su mayor obesidad, como pone de manifiesto la presencia de un mayor índice

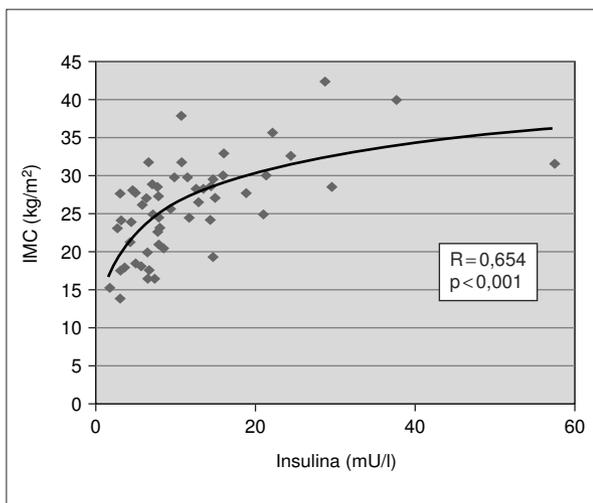


Figura 1. Correlación entre la concentración plasmática de insulina y el índice de masa corporal (IMC). La curva sigue una distribución logarítmica.

de masa corporal. Sin embargo, cuando se relacionan los niveles de insulina con el IMC, pudo observarse que una vez alcanzado un cierto grado de IMC, los niveles de insulina no aumentaban (fig. 1).

La presencia de acantosis *nigricans* asociada a la obesidad produce importantes alteraciones en el metabolismo de los lípidos. Así, el grupo de niños obesos con acantosis *nigricans* presenta dos factores relacionados con un mayor riesgo de desarrollar arteriosclerosis y enfermedad cardiovascular. En primer lugar, tienen unos valores de c-HDL muy inferiores a los hallados en el grupo control, son múltiples los estudios que han puesto de manifiesto la asociación entre el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular con niveles bajos de c-HDL^{25,26}. Tal vez lo más relevante del presente estudio es la temprana edad en la que los niños estudiados ya presentan una disminución en la concentración plasmática de c-HDL, lo que podría favorecer el desarrollo de enfermedad cardiovascular a una edad temprana. En segundo lugar, este mismo grupo también presenta una elevación en los valores plasmáticos de triglicéridos, factor que también se ha relacionado con un aumento en el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular^{26,27}. La hipertrigliceridemia origina cambios en la composición de las LDL, en concreto favorece la aparición del fenotipo B, caracterizado por la presencia de LDL pequeñas, más susceptibles a la oxidación^{28,29} y, por lo tanto, favorecen el desarrollo de la arteriosclerosis. En el presente trabajo este fenómeno podría verse exacerbado por los bajos niveles de vitamina E en plasma observado en los niños obesos con acantosis *nigricans*. La vitamina E constituye uno de los principales antioxidantes de los lípidos, incluidas las LDL, por lo que esta disminución en su concentración plasmática favorecería la oxidación de las LDL, en una situación donde ésta



Figura 2. Nuca y axila de una paciente de 10 años con acantosis nigricans: A) visión de la nuca; B) visión de la axila.

ya podría estar aumentada como consecuencia de la hipertrigliceridemia.

En estudios poblacionales, los valores elevados de vitamina E se han correlacionado con una disminución de la mortalidad secundaria a enfermedad cardiovascular¹⁴⁻¹⁶, teniendo un valor predictivo, incluso mayor que los valores de colesterol en plasma¹⁴, por lo que la marcada disminución en los niveles plasmáticos de vitamina E en los niños obesos con acantosis *nigricans* aumentaría aún más el riesgo de éstos en desarrollar enfermedad cardiovascular a una edad temprana.

Tal vez uno de los aspectos más relevantes del presente estudio es que permite diferenciar dos poblaciones de niños obesos por la presencia de un signo físico fácilmente observable: la acantosis *nigricans* (fig. 2). La presencia de este signo permite definir un grupo de niños y adolescentes con importantes alteraciones bioquímicas (hiperinsulinismo, hipertrigliceridemia, disminución en el colesterol de las HDL y en la concentración plasmática de vitamina E) que favorecen el desarrollo de arteriosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Estos niños de-

berían constituir un grupo diana, en el que se tendría que realizar un mayor esfuerzo para implantar medidas que disminuyan la resistencia a la insulina y las alteraciones metabólicas antes descritas, como son la pérdida de peso y la realización de más ejercicio, si bien como pusimos de manifiesto en un trabajo anterior³⁰, estos niños pueden tener dificultades para conseguirlo.

Agradecimientos

A Javier Ramírez (Asistente técnico).

BIBLIOGRAFÍA

- Williams CL, Hayman LL, Daniles SR, Robinson TN, Steinberger J, Paridon S, et al. Cardiovascular Health in Childhood. A Statement for Health Professionals from the Committee on Atherosclerosis, hypertension and obesity in the Young (AHOY) of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association. *Circulation* 2002;106:143-60.
- Rosenbaum M, Leibel RL, Hirsch J. Obesity. *N Engl J Med* 1997; 337:396-407.
- Mossberg HO. 40-Year follow-up of overweight children. *Lancet* 1989;8661:491-3.
- Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz W. Long-Term morbidity and mortality of overweight adolescents. A Follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Engl J Med* 1992;327:1350-5.
- Steinberger J, Daniels SR. Obesity, insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk in children. *Circulation* 2003;107: 1448-53.
- Kanh BB, Flier Js. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106:473-81.
- Calle EE, Thum MJ, Petrelli JM, Rodríguez C, Heath CW. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 1999;341:1097-105.
- Reaven GM. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 1995;75:473-86.
- Carew TE. Role of biologically modified low-density lipoprotein in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1989;64:18G-22G.
- Steinbrecher UP, Zhang H, Loughheed M. Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 1990;9: 155-68.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: Modifications of Low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989;320:915-24.
- Esterbauer H, Dieber-Rothereder M, Striegl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1991;53:3195-215.
- Esterbauer H, Dieber-Rothereder M, Waeg G, Striegl G, Jurgens G. Biochemical, Structural and Functional Properties of Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Chem Res Toxicol* 1990;3:77-91.
- Gey KF, Puska P. Plasma vitamins E and A inversely correlated to mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Ann NY Acad Sci* 1989;570:268-82.
- Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1993;328:1444-9.
- Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993;328:1450-6.

17. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
18. Radziuk J. Insulin Sensitivity and its measurement: Structural commonalities among the methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4426-33.
19. Barbas C, Castro M, Bonet B, Viana M, Herrera E. Simultaneous determination of vitamin A and E in rat tissues by HPLC. *J Chromatography* 1997;778:415-20.
20. Nguyen TT, Keil MF, Russell DL, Pathomvanich A, Uwaifo GI, Sebring NG, et al. Relation of acanthosis nigricans to hyperinsulinemia and insulin sensitivity in overweight African American and white children. *J Pediatr* 2001;138:474-80.
21. Kahn CR, Flier JS, Bar RS, Archer JA, Gorden P, Martin MM, et al. The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans: Insulin receptor disorders in man. *N Engl J Med* 1976;294:739-45.
22. Zavaroni I, Bonora E, Pagliara M, Dall'Ágio E, Luchetti L, Buinanno G, et al. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucose tolerance. *N Engl J Med* 1989;320:702-6.
23. Young TK, Dean HJ, Flett B, Wood-Steiman P. Childhood obesity in a population at high risk for type 2 diabetes. *J Pediatr* 2000;136:365-9.
24. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane WV, Banya B, Allen K, et al. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med* 2002;346:802-10.
25. Rubenstein C, Romhilt D, Segal P, Heiss G, Chambless LE, Boyle KE, et al. Dyslipoproteinemias and manifestations of coronary heart disease. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* 1986;73(Suppl 1):1-91.
26. NIH Consensus Development Panel on Triglyceride, High-Density Lipoprotein, and Coronary Heart Disease. Triglyceride, High-Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. *JAMA* 1993;269:505-10.
27. Welin L, Eriksson H, Larsson B, Ohlsson OL, Svardsudd K, Tibblin G. Triglycerides, a major coronary risk factor in elderly men. A study of men born in 1913. *Eur Heart J* 1991;12:700-4.
28. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996;276:882-8.
29. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low density lipoprotein subclass patterns and the risk of myocardial infarction. *J Am Med Assoc* 1988;260:1917-21.
30. Bonet B, Quintanar A, Alavés M, Martínez J, Espino M, Pérez-Lescure J. Presencia de genu valgo en niños obesos: causa o efecto. *An Pediatr (Barc)* 2003;58:232-5.