



Original / *Pediatría*

Relación entre los ácidos grasos en suero y en los fosfolípidos de membrana en niños sanos

E. Cortés¹, M. M. Rizo-Baeza², M. J. Aguilar³, M. J. Hidalgo¹ y V. Gil¹

¹Universidad Miguel Hernández. Departamento de Farmacología, Pediatría y Q. Orgánica y Departamento de Medicina Clínica. ²Universidad de Alicante. Departamento de Enfermería. ³Universidad de Granada. Departamento de Enfermería. Granada. España.

Resumen

Introducción: La dieta es importante para el suministro de ácidos grasos del hombre, en especial los de las familias n-3 y n-6, por su esencialidad y las amplias funciones fisiológicas relacionadas. Es importante tener valores de referencia en las muestras biológicas accesibles, tales como suero y membranas eritrocitarias, con el fin de paliar posibles déficit. El objetivo del presente trabajo consiste en cuantificar los ácidos grasos esenciales (AGE) presentes en dichas muestras, desde la C6 hasta la C26.

Material y métodos: Se han efectuado las determinaciones de los ácidos grasos de 30 niños sanos en suero y en sus correspondientes fosfolípidos de membrana de células sanguíneas, mediante su extracción lipídica, metilación, separación y cuantificación en cromatografía de gases con detección de masas. Se han comparado los valores obtenidos en cada suero y su pareja de membranas celulares.

Resultados y discusión: Se han obtenido los valores normales en niños sanos. El C16, que supone la cuarta parte de todos los ácidos grasos, está en la misma proporción en ambas muestras; entre el resto, no se encuentra una correspondencia clara entre ambos valores. Entre los n-6, el C18:2n6 está en mayor proporción en suero, frente al C20:4n6 que lo está en los fosfolípidos. De igual forma, entre los n-3, el C20:5n3 está en mayor proporción en suero y el C22:6n3 lo está en fosfolípidos de membrana. Dichos valores son la causa de procesos distintos, aporte nutricional reciente para el suero y con implicaciones a largo plazo y metabólicas los valores en los fosfolípidos de las membranas.

(Nutr Hosp. 2013;28:1541-1545)

DOI:10.3305/nh.2013.28.5.6528

Palabras clave: Ácidos grasos. Poliinsaturados. Suero. Fosfolípidos de membrana. Valores de referencia.

CORRESPONDENCE BETWEEN THE FATTY ACIDS IN HEALTHY CHILDREN SERUM AND IN MEMBRANE PHOSPHOLIPIDS

Abstract

Introduction: The diet is important in the supply of fatty acids in humans, especially those of the n-3 and n-6 families by its essentiality and related physiological function. It is important to have reference values in accessible biological samples: serum and erythrocyte membranes, in order to alleviate potential shortfalls. The objective is quantifying fatty acids present in these samples from C6 to C26.

Material and methods: the determinations of the fatty acids of 30 healthy children in serum and its corresponding membrane phospholipids from blood cells by lipid extraction, methylation, separation and quantification in gas chromatography with detection of masses have been. It is comparing the values obtained in each serum and its partner of cell membranes.

Results and discussion: It is have obtained normal values in healthy children. The C16, which represent a quarter of all fatty acids, it is in the same proportion in both samples, in the rest of fatty acids, there is no clear correspondence between both values. In the n-6 family, the C18:2n6 is higher in serum against the C20:4n6 which is in the phospholipids. In the same way between the n-3 family, the C20:5n3 is higher in serum and the C22:6n3 is in membrane phospholipids. These values are cause of different processes, recent nutritional contribution to serum and with long-term implications and metabolic values in the phospholipids of membranes.

(Nutr Hosp. 2013;28:1541-1545)

DOI:10.3305/nh.2013.28.5.6528

Key words: Fatty acids. Polyunsaturated. Serum. Membrane phospholipids. Reference values.

Correspondencia: María José Aguilar Cordero.

Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud.

Avda. Madrid, s/n.

18012 Granada. Spain.

E-mail: mariajaguilar@telefonica.net

Recibido: 23-II-2013.

Aceptado: 27-II-2013.

Introducción

Una gran proporción de los ácidos grasos utilizados por el hombre se obtiene de la dieta. Diversos lípidos animales y vegetales son ingeridos, hidrolizados por enzimas digestivas, absorbidos por la pared intestinal, previa emulsión mediante los ácidos biliares, y distribuidos a todo el organismo a través del sistema linfático y el torrente circulatorio¹. A partir de los ácidos grasos ingeridos o sintetizados por exceso de otros nutrientes, tienen lugar toda una serie de modificaciones por alargamiento y desaturación, que dan lugar a un perfil cambiante de los ácidos grasos en circulación o depositados.

Los mamíferos superiores, entre ellos el hombre, son incapaces de producir dobles enlaces en posición 6 ó 3 del extremo contrario al carboxilo, a pesar de que algunos de estos ácidos grasos poliinsaturados son los causantes de algunas funciones específicas. Investigaciones recientes han demostrado que más del 25% de los adultos y un porcentaje similar de niños presentan anomalías en los AGE debidas al déficit nutricional de los mismos^{2,3}. Los alimentos procesados han destruido la mayoría de esos AGE.

Los ácidos grasos n-3 y n-6, ambos esenciales, no pueden interconvertirse entre ellos. En muchos procesos tienen un efecto combinado (prevención de enfermedades cardiovasculares)^{4,5}, y, en otros, su función es antagónica (enfermedades inmunitarias, inflamatorias, etc), por lo que es necesario mantener una dieta equilibrada entre los dos para mantener el estado de salud¹. Diferentes relaciones n-6/n-3 se han mostrado eficaces en el tratamiento de diversas patologías, aunque no está bien definida la proporción idónea; pero es adecuada entre 4/1 y 2/1, proporciones en las que se ha apreciado un descenso en la tasa de mortalidad por enfermedad cardiovascular, una disminución en la proliferación celular del cáncer colorrectal y una reducción de la inflamación de la artritis reumatoide, entre otras⁶. Proporciones, en todo caso, alejadas de las dietas actuales de los países occidentales, con cantidades relativas muy altas de n-6^{1,7}.

La fuente es claramente dietética, pues se ha demostrado que una ingesta de 1.080 mg/día de EPA (ácido eicosapentanoico, 20:5 n-3) y 720 mg/día de DHA (ácido docosahexaenoico, 22:6 n-3), de aceite de pescado hace que se aumente el porcentaje de EPA en eritrocitos hasta 6 veces y un incremento del 25% de DHA. Posiblemente, estos dos ácidos grasos n-3 desplazan ácidos saturados de los fosfolípidos⁸. Y únicamente con la ingesta de dos raciones de pescado a la semana durante la gestación, la leche materna presentó niveles significativamente mayores de EPA y DHA⁹.

Es importante por lo apuntado, en algunas situaciones nutricionales o de enfermedad, disponer de valores de referencia de los ácidos grasos, y en especial de los esenciales, con el fin de poder suministrar pautas alimentarias o suplementarlas para paliar esas deficiencias. Para ello, se ha establecido como objetivo en el

presente trabajo determinar los valores de normalidad en el suero y en los fosfolípidos de membranas de eritrocitos y evaluar si existe correlación en los ácidos grasos entre ambas muestras del mismo individuo.

Material y métodos

Se recogieron 2 ml de muestras de sangre de 30 niños sin patología nutricional ni neurológica conocida, separando el suero del botón celular.

Extracción lipídica: i) La extracción de los lípidos del suero se efectuó mediante la mezcla de metanol con triclorometano en proporción 2:1, siguiendo el método de Folch¹⁰; se evitaron en todo momento las oxidaciones mediante atmósfera de nitrógeno y la adición de unos miligramos de pirogalol al extracto final llevado a sequedad. ii) La extracción de las grasas de las células sanguíneas se efectuó a partir de 0,5 g de células mediante ruptura de las membranas celulares con adición de 1 ml de agua bidestilada y sonicación en baño de hielo, con posterior adición de 5 ml de isopropanol a -80° C, gota a gota y agitando continuamente, para evitar la coagulación de la muestra. Se dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadieron 3 ml de cloroformo, se agitó la muestra y se centrifugó a 3.600 rpm durante 40 minutos a una temperatura de 0-10° C. Se recogió la fase orgánica y se llevó a sequedad total mediante flujo de nitrógeno. Se disuelve de nuevo en 50 l de una mezcla de cloroformo/metanol (19:1) y se separan los distintos lípidos mediante cromatografía en capa fina de gel de sílica, utilizando como fase móvil una mezcla de hexano-éter-ácido acético (70:30:1; v:v:v). La identificación de los diferentes tipos de lípidos se efectúa en función del desplazamiento que consigue cada uno de ellos en el sistema calculado mediante controles revelados con ácido molibdatofosfórico en etanol al 5%. Se raspa la zona correspondiente a los fosfolípidos y se extraen con cloroformo llevando a sequedad con nitrógeno y conservando con pirogalol. A partir de este punto, son tratados de forma similar ambas muestras: lípidos del suero y fosfolípidos de membranas.

Metilación: Se disuelven los extractos lipídicos en 1 ml de una mezcla metanol:hexano (4:1). Se añade 1 ml de cloruro de acetilo, gota a gota. Se agita bien para eliminar los gases desprendidos, y todo ello en corriente de nitrógeno para evitar oxidaciones. Se tapan bien los tubos y se llevan a un baño de agua hirviendo durante una hora. Después, y para parar la reacción, se enfrían los tubos hasta alcanzar la temperatura ambiente en un baño de hielo¹¹. Se extraen los ésteres metílicos, añadiendo 3 ml de K₂CO₃ al 6% y 1 ml de n-Hexano. Se agita con fuerza en el agitador mecánico hasta que se desprende todo el gas. Se centrifuga durante 10 minutos a 3.600 rpm y se recoge la fase de n-Hexano, llevando a sequedad mediante flujo de nitrógeno. El extracto se redissuelve en n-Hexano hasta una concentración fija (1 mg/100 l), de los que se llevan 100 l a los viales de análisis cromatográfico.

Separación y cuantificación de los ácidos grasos: Para determinar los tiempos de retención cromatográfica, espectros de masas y factores de cuantificación, se utiliza una mezcla estándar de ésteres metílicos de todos los ácidos grasos a analizar, con proporciones conocidas de cada uno de ellos (Nu-Chek-Prep, INC GLC 85), añadiendo 40 l con los ésteres metílicos de los estándares individuales de aquellos ácidos grasos no presentes en el estándar general (Sigma Chemical Co.). Para la identificación de los ácidos grasos de las muestras a analizar, se preparan viales con 10 l de estándar C17, 70 l para muestras de suero y 40 l para muestras de fosfolípidos de membranas y el resto hasta completar los 200 l de n-hexano. La separación de los metil-ésteres de los ácidos grasos y su cuantificación se ha realizado en un cromatógrafo de gases Shimadzu modelo GC-17, con autoinyector Shimadzu AOC-20i y detector de espectrometría de masas Shimadzu modelo QP-5000, utilizando la columna -wax de sílica de 30 m de longitud y un diámetro interior de 0,25 mm. La cuantificación se lleva a cabo utilizando las sumas de las áreas de las diferentes masas utilizadas en cada ventana del cromatograma^{12,13}. En total, y en cada muestra, son analizados 34 ácidos grasos, entre 6 y 26 carbonos.

Estudio estadístico: Los datos fueron tratados estadísticamente mediante el paquete IBM SPSS Statistics 20.0, estableciendo un nivel de significación $p < 0,05$.

Resultados

Se han obtenido los porcentajes p/p de los ácidos grasos comprendidos entre C6-C26, representando los valores de aquellos cuyo porcentaje es mayor del 0,1% en la tabla I. Se han colocado distinguiendo el grupo al que pertenecen: saturados, monoinsaturados, poliinsaturados n-6, n-3 y trans.

Analizando estos resultados, se observa, en primer lugar, que en general no se corresponden los valores del suero al perfil de los mismos en los fosfolípidos de las membranas, salvo algunas excepciones, entre las que destaca el mayoritario ácido palmítico (C16) que tiene niveles semejantes estadísticamente.

Entre los monoinsaturados, el de mayor concentración es el oleico (C18:1n9), que tiene concentraciones mayores en el suero que en los fosfolípidos de las membranas celulares. Entre la familia n-6 se observa que el linoleico (C18:2n6) está en porcentaje superior en suero que en los fosfolípidos; los otros dos mayoritarios, el araquidónico (C20:4n6) y el docosatretraenoico (C22:4n6), se acumulan en las membranas, lo que hace que en todos los casos las diferencias sean significativas a las de sus sueros correspondientes. En la familia n-3, los valores obtenidos muestran que el linoléico (C18:3n3) y el eicosapentaenoico (C20:5n3), tienen porcentajes superiores en suero, mientras que el docosahexaenoico (C22:6n3) tiene un valor superior en fosfolípidos de membrana. Por último, los ácidos trans

Tabla I
Porcentajes (p/p) de los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membranas eritrocitarias en 30 niños sanos

AG	Suero Media (SD)	Test pareado p (Pareado)	Pl membrana Media (SD)
SAT			
C8	0,14 (0,29)	ns	0,04(0,07)
C10	0,12 (0,17)	0,037	0,05 (0,06)
C12	0,31 (0,57)	ns	0,26 (0,95)
C14	1,56 (2,15)	0,008	0,45 (0,25)
C16	24,89 (6,19)	ns	25,92 (2,11)
C18	11,78 (4,57)	0,000	19,77 (2,04)
C20	0,38 (0,55)	ns	0,19 (0,35)
C22	2,68 (0,98)	0,020	2,29 (0,55)
C24	1,15 (1,62)	0,000	4,79 (0,69)
C26	0,20 (0,40)	0,015	0,66 (0,84)
MUFAS			
C12:1	0,11 (0,37)	0,031	0,61 (1,11)
C16:1n7	0,57 (0,44)	0,034	0,26 (0,61)
C18:1n9	13,22 (3,83)	0,000	9,43 (1,26)
C20:1n9	0,22 (0,21)	0,000	0,05 (0,07)
C22:1n9	3,79 (4,51)	0,000	0,09 (0,17)
C24:1n9	1,42 (1,36)	0,000	4,48 (0,79)
n6			
C18:2n6	21,37 (8,96)	0,000	8,53 (2,55)
C20:2n6	0,74 (2,04)	ns	0,05 (0,08)
C20:3n6	0,93 (0,48)	ns	0,84 (0,38)
C20:4n6	6,24 (3,92)	0,000	12,55 (3,23)
C22:2n6	0,52 (1,47)	ns	0,02 (0,02)
C22:4n6	0,48 (1,06)	0,000	2,34 (0,85)
n3			
C18:3n3	0,48 (1,60)	ns	0,04 (0,12)
C20:5n3	4,31 (2,51)	0,000	1,83 (0,96)
C22:5n3	0,47 (0,80)	0,048	0,80 (0,45)
C22:6n3	1,15 (0,76)	0,000	3,14 (2,15)
trans			
C18:1n9	0,45 (0,23)	0,033	0,35 (0,14)

muestran valores semejantes, aunque con una pequeña diferencia significativa.

Para analizar mejor estas diferencias, y dada la posible interconversión metabólica entre algunos ácidos grasos y en concreto entre las diferentes familias, se ha efectuado el estudio de las sumas de los mismos y de algunos índices, que están expresadas en la tabla II.

En general, solamente hay correspondencia entre los ácidos grasos saturados de cadena media, los n-3 y el índice n-6/n-3 entre suero y su correspondiente fosfolípido de membrana; en los demás, la diferencia entre ambas muestras es significativa. También se observa un mayor porcentaje de ácidos grasos satu-

Tabla II

Sumas e índices de los porcentajes de los distintos tipos de ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membranas de 30 niños sanos

AG	Suero Media (SD)	Test pareado p (Pareado)	Pl membrana Media (SD)
∑sat CM	0,57 (0,88)	ns	0,35 (0,96)
∑ sat CL	38,61 (10,91)	0,001	46,33 (3,99)
∑ sat CML	4,04 (1,94)	0,000	7,74 (1,30)
∑ sat	43,23 (11,53)	0,000	54,42 (4,57)
∑ insat	56,27 (11,44)	0,000	45,20 (4,61)
∑monoinsat	19,72 (6,26)	0,000	14,96 (1,36)
∑ poliinsat	36,94 (7,04)	0,000	30,43 (4,40)
∑ n-9	18,64 (6,23)	0,001	14,05 (1,68)
∑ n-6	30,31 (7,70)	0,001	24,34 (4,30)
∑ n-3	6,50 (3,02)	ns	5,86 (2,22)
∑ trans	0,50 (0,28)	0,017	0,37 (0,14)
SFA/MUFA	2,70 (2,06)	0,025	3,66 (0,49)
SFA/PUFA	1,29 (0,78)	0,002	1,85 (0,53)
n6/n3	5,55 (2,66)	ns	4,55 (1,23)
C16/C18:2	1,63 (1,32)	0,001	3,48 (2,21)
C18:2/C20:4	4,87 (4,29)	0,000	0,74 (0,35)

rados en las membranas, pero todos los insaturados y sus correspondientes familias son más abundantes en el suero, incluso la suma de trans, con diferencias significativas, excepto en la familia n-3.

Discusión

La falta de relación entre los porcentajes de cada ácido graso en suero y fosfolípidos de membrana, e incluso las sumas de las familias de ácidos interconectados entre sí, se debe probablemente a la presencia de los mismos en la dieta y a los complejos procesos que sufren en el metabolismo celular (fig. 1).

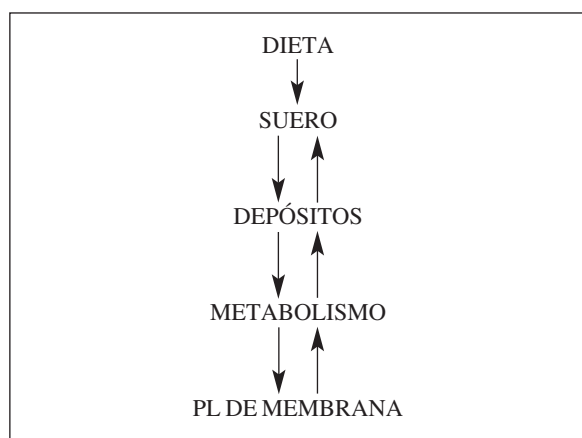


Fig. 1.—Factores que pueden influir en la concentración de ácidos grasos en suero y en fosfolípidos de membranas.

Las concentraciones de ácidos grasos en suero sanguíneo son biomarcadores de la ingesta de grasas en la dieta¹⁴, mientras que las concentraciones de ácidos grasos en fosfolípidos de membrana son el resultado de la ingesta de lípidos y el correcto funcionamiento del metabolismo lipídico. Por tanto, reflejan mejor el estado del organismo respecto al metabolismo de síntesis, degradación e interconversión entre los distintos ácidos grasos¹⁵.

Con todo ello, parece que se puede asociar más directamente la ingesta de los sujetos y la composición lipídica analizando el perfil de los mismos en suero. Mientras que el estado de los depósitos tisulares causados por la dieta a largo plazo y la situación metabólica, pueden estar más acordes con los niveles de los ácidos grasos presentes en las estructuras más estables, como los fosfolípidos de las membranas celulares^{16,17}. La composición de los ácidos grasos de los lípidos de membrana de eritrocitos puede reflejar mejor la composición general de ácidos grasos del organismo, que la composición de ácidos grasos de los lípidos plasmáticos¹⁵. Efectivamente, en los datos presentes se observa una diferencia significativa en la práctica totalidad de los niveles de ácidos grasos en suero y en los fosfolípidos de las membranas de eritrocitos.

En relación con algún ácido graso concreto, cabe destacar el linoleico (C18:2n6) cuyo porcentaje es superior en suero que en los fosfolípidos, sin duda debido a su origen dietético exclusivo, ya que existe una correlación significativa entre la dieta y dicho ácido¹⁸. Tampoco se observa relación entre la composición del ácido araquidónico entre ambas muestras, en concordancia con la correlación negativa entre éste y la ingesta de ácido eicosapentaenoico (EPA) + ácido docosahexaenoico (DHA) descrita por Kawabata¹⁹. Este hecho puede confirmar la no concordancia entre los datos en suero y fosfolípidos de membrana que se observan en los datos del presente estudio, debido a su acumulación en la membrana celular a largo plazo. A medio y a largo plazo, la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados se correlaciona bien con su concentración en ácidos grasos de membrana²⁰, pero no así en los perfiles en suero que están mucho más influenciados por la ingesta inmediata.

La relación n-6/n-3 no está en la muestra analizada dentro de los valores recomendados de entre 4/1 y 2/1, aunque es mayor la proporción, lo cual muestra una ingesta de n-6 superior o de n-3 inferior a las recomendaciones nutricionales¹.

Estos valores de normalidad de los ácidos grasos pueden servir para estudios comparativos en diferentes situaciones patológicas o carenciales en las que puedan verse afectados.

Referencias

1. Palou A, Picó C, Bonet ML, Serra F, Oliver P, Rodríguez AM y Ribot J. Lípidos dietéticos y salud. En: El libro Blanco de las Grasas en la Alimentación Funcional. Unilever, España 2008: 41-61.

2. Martínez M. Restoring the DHA levels in the brains of Zellweger patients. *J Mol Neurosci* 2001; 16 (2-3): 309-16.
3. MERCASA Alimentación en España 2009. Disponible en: http://www.munimerca.es/mercasa/alimentacion_2009/pdfs/02_05_consumo.pdp. Revisado y fecha.
4. Carrero JJ, Martín-Bautista E, Baró L, Fonollá J, Jiménez J, Boza JJ y López-Huertas E. Efectos cardiovasculares de los ácidos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr Hosp* 2005; XX (1): 63-9.
5. Piñeiro-Corrales G, Lago-Rivero N y Culebras-Fernández JM. Papel de los ácidos grasos omega-3 en la prevención de enfermedades cardiovasculares. *Nutr Hosp* 2013; 28 (1): 1-5.
6. Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharm* 2006; 60 (9): 502-7.
7. Carrillo L, Dalmau J, Martínez JR et al. Grasas de la dieta y salud cardiovascular. *Clin Invest Arterioscl* 2011; 23 (Suppl. 1): 1-36.
8. Fernstrom JD. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function. *Lipids* 1999; 34 (2): 161-9.
9. Moya M, Cortés E, Juste M et al. Fatty acid absorption in preterms on formulas with and without long-chain polyunsaturated fatty acids and in terms on formulas without these added. *Eur J Clin Nutr* 2001; 55 (9): 755-62.
10. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226 (1): 497-509.
11. Verkade HJ, Van Asselt WA, Vonk RJ et al. Fat absorption in premature infants: the effect of lard and antibiotics. *Eur J Pediatr* 1989; 149 (2): 126-9.
12. Van Der Steege G, Muskiet FA, Martín IA et al. Simultaneous quantification of total medium- and long-chain fatty acids in human milk by capillary gas chromatography with split injection. *J Chromatogr* 1987; 415 (1): 1-11.
13. Volmer M, Meiborg G, Muskiet FA. Simultaneous capillary gas chromatographic profiling of medium-and long-chain fatty acid methyl esters with split injection. Correction for injection-related discrimination by the "bracketing" method. *J Chromatogr* 1988; 434 (2): 385-94.
14. Uusitalo L, Nevalainen J, Salminen I et al. Fatty acids in serum and diet - a canonical correlation analysis among toddlers. *Matern Child Nutr* 2011 Nov 8. doi: 10.1111/j.1740-8709.2011.00374.x.
15. Jakobik V, Burus I, Decsi T. Fatty acid composition of erythrocyte membrane lipids in healthy subjects from birth to young adulthood. *Eur J Pediatr* 2009; 168 (2): 141-7.
16. Aguilar Cordero MJ, González Jiménez E, Sánchez Perona J et al. The Guadix study of the effects of a Mediterranean-diet breakfast on the postprandial lipid parameters of overweight and obese pre-adolescents. *Nutr Hosp* 2010; 25 (6): 1025-33.
17. Aguilar Cordero MJ, González Jiménez E, J. Sánchez Perona J et al. Obesidad y su relación con marcadores de inflamación y ácidos grasos de eritrocito en un grupo de adolescentes obesos. *Nutr Hosp* 2011; 27: 161-4.
18. Burrows T, Berthon B, Garg ML et al. A comparative validation of a child food frequency questionnaire using red blood cell membrane fatty acids. *Eur J Clin Nutr* 2012 Feb 29. doi: 10.1038/ejcn.2012.26.
19. Kawabata T, Hirota S, Hirayama T, Adachi N, Kaneko Y, Iwama N, Kamachi K, Araki E, Kawashima H, Kiso Y. Associations between dietary n-6 and n-3 fatty acids and arachidonic acid compositions in plasma and erythrocytes in young and elderly Japanese volunteers. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 138.
20. Orton HD, Szabo NJ, Clare-Salzler H, Norris JM. Comparison Between omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid intakes as assessed by a food frequency questionnaire and erythrocyte membrane fatty acid composition in young children. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62 (6): 733-8.
21. Campoy C, Martín-Bautista E, García-Valdés L, Florido J, Agil A, Lorente JA, Marcos A, López-Sabater MC, Miranda-León T, Sanz Y, Molina-Font JA; grupo PREOBE. Estudio de la influencia de la nutrición y genética maternas sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo fetal (Estudio PREOBE). *Nutr Hosp* 2008; 23 (6): 584-90.
22. Aguilar Cordero MJ, González Jiménez E, García García CJ, García López PA, Álvarez Ferre J, Padilla López CA, González Mendoza JL, Ocete Hita E. Obesidad de una población de escolares de Granada: evaluación de la eficacia de una intervención educativa. *Nutr Hosp* 2011; 26 (3): 636-41.