



Universidad Miguel Hernández de Elche

Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias

Médicas y Quirúrgicas

La ingesta de ácidos grasos *trans* y su asociación con sobrepeso y obesidad en niños de 4-5 años

Tesis Doctoral

Alexander Scholz

Director de tesis: Jesús Vioque López

Codirectora: Eva María Navarrete Muñoz

La presente Tesis Doctoral titulada “La ingesta de ácidos grasos *trans* y su asociación con sobrepeso y obesidad en niños de 4-5 años” es un compendio de los siguientes dos trabajos previamente publicados:

Dietary Intake of *Trans* Fatty Acids in Children Aged 4-5 in Spain: The INMA Cohort Study. Scholz A, Gimenez-Monzo D, Navarrete-Muñoz EM, Garcia-de-la-Hera M, Fernandez-Somoano A, Tardon A, Santa Marina L, Irazabal A, Romaguera D, Guxens M, Julvez J, Llop S, Lopez-Espinosa M-J, Vioque J. *Nutrients*. 2016;8(10) 625. doi: 10.3390/nu8100625

Association between *trans* fatty acid intake and overweight including obesity in 4 to 5-year-old children from the INMA study. Scholz A, Navarrete-Muñoz EM, García-de-la-Hera M, Fernandez-Somoano A, Tardon A, Santa-Marina L, Pereda-Pereda E, Romaguera D, Guxens M, Beneito A, Iñiguez C, Vioque J. *Pediatr Obes*. 2019; 14(9):e12528. doi: 10.1111/ijpo.12528.



Jesús Vioque López, Doctor en Medicina y Catedrático de la Universidad Miguel Hernández de Elche y Eva María Navarrete Muñoz, Doctora en Salud Pública y Ayudante Doctora de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

CERTIFICAN,

que D. Alexander Scholz ha realizado bajo nuestra supervisión su memoria de tesis doctoral titulada: “La ingesta de ácidos grasos *trans* y su asociación con sobrepeso y obesidad en niños de 4-5 años”, cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo en forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al grado de Doctor.

Lo que certificamos en San Juan de Alicante, a tres de febrero de dos mil veintiuno.

Fdo. Jesús Vioque López

Fdo. Eva María Navarrete Muñoz



Prof. Vicente Francisco Gil Guillen, Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

AUTORIZA,

la defensa y presentación de la Tesis Doctoral, “La ingesta de ácidos grasos *trans* y su asociación con sobrepeso y obesidad en niños de 4-5 años” realizada por D. Alexander Scholz bajo la dirección del Dr. Jesús Vioque López y codirección de la Dra. Eva María Navarrete Muñoz. De acuerdo a la información recibida sobre las evaluaciones previas realizadas en cumplimiento de la normativa general vigente y la propia de la Universidad Miguel Hernández y según lo certificado por las personas que han realizado la dirección y tutoría, la tesis cumple los requisitos para proceder a su defensa pública.

Lo certifico en San Juan de Alicante, a tres de febrero de dos mil veintiuno.

Fdo. Vicente Francisco Gil Guillen

1 PRESENTACIÓN

La presente tesis doctoral se atiene a la Normativa de Estudios de Doctorado de la Universidad Miguel Hernández (UMH) siguiendo el formato de presentación de tesis mediante artículos científicos para optar a la mención de Doctor por la UMH, a través del programa de Doctorado de Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas.

La tesis se ha desarrollado en el grupo de Epidemiología de la Nutrición (EPINUT) del Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología de la UMH liderado por el profesor Jesús Vioque. Esta tesis se integra dentro del proyecto “Infancia y MedioAmbiente” (INMA), un estudio prospectivo de cohortes madres-hijos, cuyo objetivo es evaluar los factores ambientales incluyendo los dietéticos, que influyen en la salud infantil. Para la realización de la tesis doctoral, se han utilizado los datos recogidos en la visita de seguimiento de los niños a los 4-5 años con el fin de describir la ingesta de ácidos grasos *trans* a esta edad y explorar su asociación con sobrepeso y obesidad infantil.

En el año 2014, durante la realización del Máster en Salud Pública de la UMH, me incorporé como investigador al grupo EPINUT después de licenciarme en medicina. Inicialmente realicé el trabajo investigador en el contexto de dos becas de investigación de la UMH y posteriormente compaginé la investigación a tiempo parcial mientras realizaba la residencia en Medicina Interna en el Hospital General Universitario de Alicante.

La tesis doctoral se compone de varios apartados. En primer lugar, en la introducción se muestran los antecedentes sobre obesidad infantil y ácidos grasos *trans*. A continuación, se presentan la justificación, las hipótesis y los objetivos. Posteriormente se desarrolla la metodología, describiendo la población estudiada, las variables principales, incluyendo la estimación de la ingesta de los nutrientes como los ácidos grasos *trans*, la definición de sobrepeso y obesidad infantil, así como el análisis estadístico. En el siguiente apartado se presentan los resultados. Por último, se presenta la discusión que compara los resultados con la literatura científica existente para finalizar con las conclusiones y las implicaciones en Salud Pública de la tesis

doctoral. En el anexo se encuentran las copias de las publicaciones científicas en las que la tesis doctoral se basa.

Primera publicación:

Título: Dietary Intake of *Trans* Fatty Acids in Children Aged 4-5 in Spain: The INMA Cohort Study

Autores: Alexander Scholz, Daniel Giménez Monzo, Eva María Navarrete Muñoz, Manuela García de la Hera, Ana Fernández Somoano, Adonina Tardón, Loreto Santa Marina, Amaia Irazábal, Dora Romaguera, Mónica Guxens, Jordi Julvez, Sabrina Llop, María José López Espinosa, Jesús Vioque

Revista: *Nutrients*. 2016;8(10)625. doi: 10.3390/nu8100625

Factor de impacto del JCR en 2015 de 3.759, ocupando la posición 16/80 en la categoría Nutrition & Dietetics (Q1)

Segunda publicación:

Título: Association between *trans* fatty acid intake and overweight including obesity in 4 to 5-year-old children from the INMA study

Autores: Alexander Scholz, Eva María Navarrete Muñoz, Manuela García de la Hera, Ana Fernández Somoano, Adonina Tardón, Loreto Santa Marina, Eva Pereda Pereda, Dora Romaguera, Mònica Guxens, Andrea Beneito, Carmen Iñiguez, Jesús Vioque

Revista: *Pediatric Obesity*. 2019;14(9):e12528. doi: 10.1111/ijpo.12528

Factor de impacto del JCR en 2018 de 3.713, ocupando la posición 10/125 en la categoría Pediatrics (D1/Q1)

2 ÍNDICE

1	Presentación	5
2	Índice	7
3	Lista de abreviaturas.....	9
4	Lista de figuras y tablas.....	10
5	Resumen	12
5.1	Antecedentes y objetivos	12
5.2	Métodos.....	13
5.3	Resultados.....	14
5.4	Conclusiones	15
6	Summary.....	16
6.1	Background and objectives.....	16
6.2	Methods.....	17
6.3	Results.....	18
6.4	Conclusions	18
7	Introducción	19
7.1	Sobrepeso y obesidad infantil.....	19
7.1.1	Definición de sobrepeso y obesidad infantil	19
7.1.2	Epidemiología del sobrepeso y de la obesidad infantil	20
7.1.3	Etiología de la obesidad infantil	24
7.1.4	Comorbilidades y consecuencias de la obesidad infantil	28
7.2	Ácidos grasos <i>trans</i>	29
7.2.1	Definición y fuentes de ácidos grasos <i>trans</i>	29
7.2.2	La ingesta de ácidos grasos <i>trans</i> y sus consecuencias	30
7.3	Asociación entre la ingesta de ácidos grasos <i>trans</i> y obesidad.....	33

8	Justificación	35
9	Hipótesis y objetivos	37
10	Metodología	38
10.1	Diseño del estudio y participantes	38
10.2	Evaluación dietética y valoración de la ingesta de ácidos grasos <i>trans</i>	38
10.3	Evaluación de sobrepeso y obesidad infantil	39
10.4	Covariables.....	40
10.5	Análisis estadístico	40
	Resultados	42
10.6	Resultados del primer artículo.....	42
10.7	Resultados del segundo artículo.....	48
11	Discusión	53
11.1	Limitaciones	56
11.2	Fortalezas.....	57
12	Conclusiones	58
13	Implicaciones en Salud Pública	59
14	Referencias bibliográficas	60
15	Anexos	71
15.1	Publicación 1	71
15.2	Publicación 2	82
15.3	Cuestionario de frecuencia de alimentos	103
16	Agradecimientos	108

3 LISTA DE ABREVIATURAS

UMH	Universidad Miguel Hernández de Elche
EPINUT	Grupo de investigación de epidemiología de la nutrición
INMA	Infancia y Medio Ambiente
AGT	Ácidos grasos <i>trans</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
IOTF	<i>International Obesity Task Force</i> (grupo de trabajo internacional de obesidad)
OR	Odds ratio
IMC	Índice de masa corporal
CDC	<i>Centers for Disease Control</i> (centros para el control de enfermedades)
NAFLD	<i>Non-alcoholic fatty liver disease</i> (enfermedad del hígado graso no alcohólico)
SAHS	Síndrome de apneas-hipopneas del sueño
LDL	<i>Low density lipoprotein</i> (lipoproteína de baja densidad)
HDL	<i>High density lipoprotein</i> (lipoproteína de alta densidad)
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> (análisis de la varianza)

4 LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Figura 1	Evolución de la prevalencia global de sobrepeso y obesidad, estandarizada por edad en niños y niñas de 2-19 años entre 1980 y 2013.	20
Figura 2	Evolución de la prevalencia de sobrepeso y obesidad en España en niños entre 2 y 17 años.	21
Figura 3	Tasa de incidencia de sobrepeso y obesidad en España en niños entre 2 y 17 años según sexo y edad.	22
Figura 4	Modelo intergeneracional de obesidad.	24
Figura 5	Resumen esquemático de la compleja relación de factores que pueden contribuir al desarrollo de sobrepeso y obesidad infantil.	26
Figura 6	Estructura y características de importantes ácidos grasos tanto saturados como insaturados en configuración <i>cis</i> y <i>trans</i> .	28
Figura 7	Ingesta de ácido grasos <i>trans</i> totales o naturales e industriales de 27 países del mundo.	29
Tabla 1	Características de la ingesta de ácido grasos <i>trans</i> en total, industriales y naturales de los niños del estudio INMA a los 4-5 años.	42
Figura 8	Contribución de grupos de alimentos a la ingesta de ácido grasos <i>trans</i> en total, industriales y naturales.	44
Tabla 2	Asociación entre características de los padres y de los niños y de la ingesta de ácido grasos <i>trans</i> en total, industriales y naturales.	46

Tabla 3	Características de los padres y de los niños de 4-5 años del estudio INMA según su estado de peso.	48
Tabla 4	Asociación entre los cuartiles de la ingesta de ácido grasos <i>trans</i> en total, industriales, así como naturales y sobrepeso, incluyendo obesidad, en los niños de 4-5 años del estudio INMA.	50
Figura 9	Análisis de sensibilidad de la asociación entre el cuartil más alto de la ingesta de ácido grasos <i>trans</i> industriales y sobrepeso incluyendo obesidad.	51

5 RESUMEN

5.1 ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

El sobrepeso y la obesidad infantil se han convertido en un grave problema de salud pública a nivel mundial en las últimas décadas debido al aumento de su prevalencia. Según la definición aplicada, la edad y la región estudiada, la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil oscila entre 10-40%. El sobrepeso y la obesidad en la infancia se asocian a sobrepeso y obesidad en la adolescencia y en la vida adulta, así como a un aumento de la morbilidad y mortalidad. Por ejemplo, los niños con sobrepeso y obesidad son más propensos a desarrollar enfermedades como diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, enfermedades musculoesqueléticas, depresión y ansiedad. Hasta la fecha, se han descrito numerosos factores de riesgo para el desarrollo de obesidad infantil, aunque solamente existe evidencia consistente para la asociación entre obesidad infantil y factores genéticos, así como bajos niveles de actividad física pero no para factores dietéticos.

No obstante, en población adulta, la ingesta de tipos específicos de grasa se ha asociado a obesidad, en particular, la ingesta de ácidos grasos *trans* (AGT). AGT son isómeros geométricos de ácidos grasos insaturados que poseen al menos un doble enlace carbono-carbono no conjugado en configuración *trans* y pueden ser de origen natural o industrial. Recientemente ha crecido la evidencia que la ingesta de AGT de origen natural o industrial puede tener diferentes efectos. En este sentido, se ha mostrado que una mayor ingesta de AGT industriales está asociada a obesidad visceral y a un mayor riesgo cardiovascular en adultos. Sin embargo, la ingesta de AGT naturales no se ha asociado a cambios en el tamaño, la forma o la composición corporal en adultos.

Debido a los efectos negativos de AGT descritos, muchos países han limitado legalmente el contenido de productos dietéticos de AGT y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que menos del 1% de la energía ingerida provenga de AGT. Sin embargo, la información publicada sobre las fuentes y las cantidades de la ingesta

de AGT industriales y naturales en niños que se encuentran en etapa preescolar, así como su asociación con sobrepeso y obesidad en esta población es escasa.

Por ello, el objetivo de esta tesis es describir la ingesta de AGT en total, industriales y naturales en niños de 4-5 años en España y explorar la asociación entre la ingesta de AGT y sus subtipos y sobrepeso, incluyendo obesidad, en esta población.

5.2 MÉTODOS

Se han analizado de forma transversal los datos obtenidos entre 2009 y 2012 de 1829 niños de 4-5 años del estudio INfancia y Medio Ambiente (INMA), un estudio de cohorte multicéntrico prospectivo de madres e hijos en España. A fin de recoger los datos, profesionales de la salud realizaron entrevistas con los niños y los padres y tomaron mediciones antropométricas directas del peso corporal y de la estatura de los niños mediante procedimientos estandarizados. Se calculó el índice de masa corporal y se definió sobrepeso incluyendo obesidad de acuerdo con los criterios de la International Obesity Task Force (IOTF). Además, se recogieron al inicio del estudio variables sociodemográficas de las familias.

Por otro lado, se estimó la ingesta dietética de alimentos de los niños con un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de alimentos validado. Se calculó la ingesta diaria habitual de cada nutriente incluyendo AGT en total, y de origen industrial o natural, multiplicando la frecuencia de la ingesta de cada alimento por el contenido de nutrientes de la porción especificada en el cuestionario teniendo en cuenta tablas de composición de alimentos actuales publicados.

En un primer estudio se realizaron análisis descriptivos para comparar la ingesta de AGT en g/día y en porcentaje de energía ingerida entre las cohortes del estudio. Además, se aplicaron análisis de regresión lineal múltiple para explorar la asociación entre las características de los padres y de los niños y la ingesta de AGT en total, industriales y naturales calculando los coeficientes de regresión β y sus correspondientes intervalos de confianza. Los modelos se ajustaron por posibles variables de confusión.

En un segundo estudio se describieron las características de los niños con peso normal y de los que tenían sobrepeso incluyendo obesidad. Asimismo, se emplearon análisis de regresión logística múltiple para investigar la asociación entre la ingesta de AGT en total, industriales y naturales y sobrepeso, incluyendo obesidad, calculando las odds ratios (OR) y sus correspondientes intervalos de confianza. Se emplearon dos modelos diferentes ajustados por distintas variables de confusión, además de realizar múltiples análisis de sensibilidad.

5.3 RESULTADOS

Las ingestas diarias medias de AGT en total, industriales y naturales fueron 1.36, 0.60 y 0.71 g/día respectivamente. Un 10% de los niños obtuvieron >1% de su ingesta de energía de AGT. Las principales fuentes de los AGT industriales fueron comida rápida, pan blanco y productos horneados procesados. Leche, carne roja y procesada y productos horneados procesados fueron las principales fuentes de AGT naturales.

Tener padres de países distintos de España se asoció significativamente a una mayor ingesta de AGT (en mg/día) naturales (β 45.5) y ver televisión (en horas/día) se asoció de manera significativa a una mayor ingesta de AGT industriales (β 18.3). Una mayor ingesta de frutas y verduras se asoció significativamente a una menor ingesta de AGT en total (β -85.5), industriales (β -46.6) y naturales (β -44.9), mientras que una mayor ingesta de bebidas azucaradas se asoció a una menor ingesta de AGT en total (β -27.6) y naturales (β -34.8).

Además, tras ajustar por los principales factores de confusión, el cuartil más alto de la ingesta de AGT industriales (> 0.7 g/día) se asoció a un mayor riesgo de tener sobrepeso y obesidad (OR 1.57, IC 95% 1.13-2.21, p trend para cuartiles 0.01). Por el contrario, no se observaron asociaciones significativas entre la ingesta de AGT naturales y sobrepeso incluyendo obesidad.

5.4 CONCLUSIONES

En niños españoles en edad preescolar, la ingesta de AGT en total fue relevante, teniendo en cuenta que el 10% de los niños estudiados sobrepasaron la ingesta recomendada por la OMS. Además, la ingesta de AGT en total e industriales se asoció a patrones alimentarios y estilos de vida menos saludables. Por último, una mayor ingesta de AGT industriales, pero no de AGT naturales, se asoció a sobrepeso y obesidad.

6 SUMMARY

6.1 BACKGROUND AND OBJECTIVES

Childhood overweight and obesity have become serious health problems due to the worldwide increasing prevalence in recent decades. Depending on the applied classification, the age and the region, the prevalence of childhood overweight including obesity ranges from 10-40%. Overweight and obesity in children is associated with overweight and obesity in adolescents and adults and an increased morbidity and mortality. Overweight and obese children are more likely to develop diseases like type 2 diabetes, cardiovascular diseases, musculoskeletal diseases, depression, and anxiety. There are numerous risk factors for the development of childhood obesity, although there is only strong consistent evidence for the association between childhood obesity and genetic factors, as well as low levels of physical activity but not for dietary factors. However, in adults, the intake of specific fat types is associated with obesity, particularly the intake of *trans* fatty acids (TFA). TFA are geometric isomers of unsaturated fatty acids that have at least one unconjugated carbon-carbon double bond in a *trans* configuration and can be of natural or industrial origin. Recently the evidence has grown that the intake of TFA of natural or industrial origin can have different effects. It has been shown that a higher intake of industrial TFA is associated with visceral obesity and a higher cardiovascular risk in adults. However, the intake of natural TFA has not been associated with changes in body size, shape, or composition. Due to the negative effects of TFA described, many countries have limited the content of TFA of dietary products by law and the World Health Organization (WHO) recommends that less than 1% of the energy ingested comes from TFA. However, the published information about the sources and amounts of intake of industrial and natural TFA in preschool children and its association with overweight and obesity in this population is scarce. Therefore, the objective of this thesis is to describe the intake of total, industrial and natural TFA in 4- to 5-year-old children in Spain and to explore in this population the association between the intake of TFA and its subtypes and overweight, including obesity.

6.2 METHODS

For this thesis, data from 1829 4 to 5-year-old children from the Infancia y Medio Ambiente (INMA) study, a prospective multicenter cohort study of mothers and children in Spain, was obtained between 2009 and 2012, and cross-sectional analyses were performed.

Professionals conducted interviews with parents and took direct anthropometric measurements of the children's body weight and height. Body mass index was calculated, and overweight including obesity was defined according to the criteria of the International Obesity Task Force (IOTF). In addition, sociodemographic variables of the parents were collected at the beginning of the study. The children's dietary food intake was estimated with a validated semi-quantitative food frequency questionnaire. The usual daily intake of each nutrient including total, industrial, and natural TFA was calculated by multiplying the intake frequency of each food by the nutrient content of the portion specified in the questionnaire, considering current food composition tables.

In a first study, descriptive analyzes were performed to compare TFA intake in g/day and in percentage of energy ingested among the study cohorts. In addition, multiple linear regression analyzes were applied to explore the association between the characteristics of parents and children and total, industrial, and natural TFA intake (in mg/day), calculating the β regression coefficients and its corresponding 95% confidence intervals. The models were adjusted for possible confounding variables.

In a second study, the characteristics of children with normal weight and overweight including obesity were described. Likewise, multiple logistic regression was used to investigate the association between total, industrial and natural TFA intake and overweight, including obesity, calculating the Odds ratios (OR) and its corresponding 95% confidence intervals. Two different models were applied adjusting for different possible confounding variables. Additionally, different sensitivity analyzes were performed.

6.3 RESULTS

The average daily intakes of total, industrial, and natural TFA were 1.36, 0.60 and 0.71 g/day, respectively. About 10% of children ingested >1% of their energy intake from TFA. The main sources of industrial TFA were fast food, white bread, and processed baked goods. Milk, red and processed meat, and processed baked goods were the main sources of natural TFA. Having parents from countries other than Spain was significantly associated with a higher intake of natural TFA (in mg/day) (β 45.5) and watching television was significantly associated with a higher intake of industrial TFA (β 18.3). A higher intake of fruits and vegetables was significantly associated with a lower total (β -85.5), industrial (β -46.6) and natural (β -44.9) TFA intake, while a higher intake of sugar sweetened beverages was associated with a lower total (β -27.6) and natural (β -34.8) TFA intake.

In addition, after adjusting for main risk factors, the highest quartile of industrial TFA intake (>0.7 g/day) was associated with a higher risk of overweight and obesity (OR 1.57, 95% CI 1.13-2.21, p for trend for quartiles 0.01). However, no significant associations between natural TFA intake and overweight including obesity were observed.

6.4 CONCLUSIONS

In Spanish preschool children, the total TFA intake was relevant considering that about 10% exceed the intake recommended by the WHO. Total and industrial TFA intake was associated with less healthy eating patterns and lifestyles. Furthermore, higher industrial, but not natural TFA intake, was associated with overweight and obesity.

7 INTRODUCCIÓN

7.1 SOBREPESO Y OBESIDAD INFANTIL

7.1.1 Definición de sobrepeso y obesidad infantil

El sobrepeso y la obesidad se definen por un exceso de grasa corporal, aunque ante la complejidad de medir directamente la grasa corporal se han establecido medidas indirectas como el índice de masa corporal (IMC) que permite estimar el exceso de grasa corporal y con ello la presencia de sobrepeso y obesidad (Kumar y Kelly, 2017). El IMC se calcula dividiendo el peso corporal en kilogramos por el cuadrado de la altura en metros. Es una medida ampliamente usada y aceptada que estima en niños a partir de 2 años adecuadamente la grasa corporal (Freedman y Sherry, 2009). Entre sus limitaciones destaca que tiende a sobreestimar la grasa corporal en niños con baja altura o masa muscular elevada, y a infraestimar la grasa corporal en niños con masa muscular reducida, por ejemplo, en el contexto de baja actividad física (Javed et al., 2015). Otras medidas indirectas establecidas incluyen la relación entre el peso y la estatura que es particularmente usada para determinar la grasa corporal en niños menores de dos años (Furlong et al., 2016) y medidas de la distribución de la grasa corporal como la circunferencia de cintura o la relación entre la cintura y la cadera (Taylor et al., 2000). Existen varias clasificaciones de sobrepeso y obesidad infantil basadas en puntos de corte a nivel poblacional para la edad y el sexo según el IMC. Una de las clasificaciones más ampliamente utilizada en los estudios de investigación de base poblacional es la propuesta por la International Obesity Task Force (IOTF), que se basa en límites del IMC específicos para la edad y el sexo que se corresponden a los puntos de corte de sobrepeso y obesidad en adultos (Cole et al., 2000). Otras clasificaciones utilizadas en algunos estudios incluyen la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que se basa en la desviación del IMC de la mediana estándar de crecimiento de la OMS (de Onis et al., 2007), así como la clasificación de los Centers for Disease Control (CDC) de Estados Unidos basada en percentiles del IMC específicos para la edad y el sexo (Kuczmarski et al., 2000). Como consecuencia, dependiendo de la clasificación utilizada, los resultados de los estudios

pueden variar lo que limita su comparabilidad (Monasta et al., 2011; de Onis et al., 2007; López-Sánchez et al., 2019). Se ha comprobado que los criterios de la IOTF son más específicos y los criterios de la OMS son más sensibles a la hora de detectar la presencia de sobrepeso y obesidad infantil (Valerio et al., 2017; Neovius et al., 2004).

7.1.2 Epidemiología del sobrepeso y de la obesidad infantil

El sobrepeso y la obesidad infantil se han convertido en un problema grave de salud pública a nivel mundial en las últimas décadas debido principalmente al aumento de su prevalencia (Lobstein et al., 2015; Abarca-Gómez et al., 2017). En muchas regiones del mundo la prevalencia de la obesidad infantil se duplicó o incluso triplicó entre 1970 y 2000 (Han et al., 2010; Wang y Lobstein, 2006) aunque la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil varía considerablemente según la clasificación empleada, la zona geográfica estudiada y además incrementa con la edad (Ogden et al., 2016). Un estudio del año 2013 reveló que, en los países desarrollados, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 2-19 años ha aumentado de 16.9% en niños y 16.2% en niñas en 1980 a 23.8% en niños y 22.6% en niñas en 2013 (Ng et al., 2014). Asimismo, la prevalencia ha aumentado en los países en desarrollo de 8.1% en niños y 8.4% en niñas en 1980 a 12.9% en niños y 13.4 en niñas en 2013. En total, los datos de este estudio indican un aumento del 47.1% de la prevalencia mundial de sobrepeso y obesidad en niños de 2-19 años entre 1980 y 2013. En la figura 1 se visualiza la evolución de la prevalencia estandarizada por edad de sobrepeso y obesidad en niños y niñas de 2-19 años de 1980 a 2013 a nivel global. En niños en edad preescolar de 0 a 5 años la prevalencia mundial estimada de sobrepeso y obesidad aumentó de 4.2% en 1990 a 6.7% en 2010 y 9.1% en 2020, aunque se aprecian diferencias considerables entre los diferentes países (de Onis et al., 2010). También aumentó la prevalencia mundial de sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes de 5-19 años entre 1975 y 2016 en niñas de 0.7% a 5.6% y en niños de 0.9% a 7.8% (Abarca-Gómez et al., 2017). No obstante, los datos de este estudio indican que desde el año 2000 en diferentes países desarrollados el aumento de la prevalencia de sobrepeso y obesidad ha bajado lo que puede indicar que la prevalencia está llegando en algunos países a una meseta, aunque en un nivel alto (Abarca-Gómez et al., 2017).

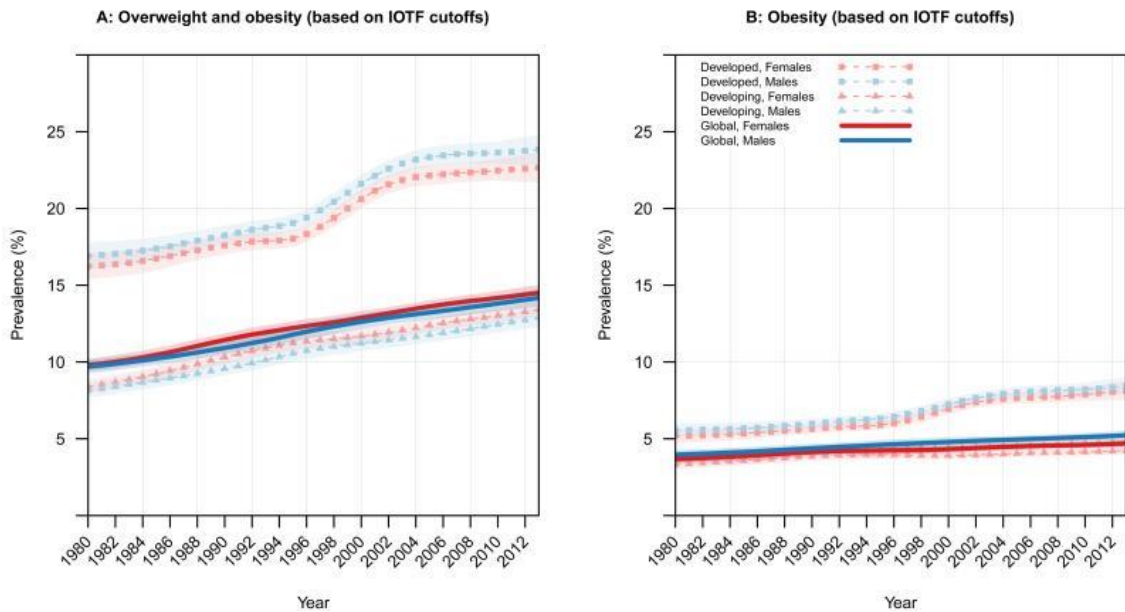


Figura 1: Evolución de la prevalencia global de sobrepeso y obesidad, estandarizada por edad en niños y niñas de 2-19 años entre 1980 y 2013. De Ng et al., 2014.

En Europa varió, según datos de la década de 1990 y principios de la década de 2000, la prevalencia de sobrepeso en niños de 7 a 11 años entre un 10% en Rusia y un 36% en Italia (Lobstein y Frelut, 2003). Un metaanálisis publicado en el año 2019 que incluye 32 estudios publicados entre 2006 y 2016 con un total de aproximadamente 200.000 niños preescolares de 2-7 años de 27 países europeos concluyó que la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue del 18% con una prevalencia más elevada en los países del sur de Europa (Garrido-Miguel et al., 2019). Asimismo, un estudio del año 2019 reveló que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 7-19 años en el sur de Europa fue del 32.3% (López-Sánchez et al., 2019). Además, otro metaanálisis del año 2019 que analiza 103 estudios con un total de aproximadamente 480.000 niños de 2 a 13 años de 28 países europeos describe que entre 1999 y 2016 la prevalencia de sobrepeso y obesidad se mantuvo estable en el oeste de Europa en un 19% y en Europa central en un 15% (Garrido-Miguel et al., 2019). No obstante, en la península ibérica disminuyó la prevalencia del 30% al 26% pero en el resto del mediterráneo aumentó del 23% al 25%.

En España, según datos de la OMS del año 2016 la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil fue de 34.1% en niños de 5-19 años (WHO, 2016). Según la Encuesta Nacional de Salud de España del año 2017 que se basa en datos autorreferidos la

prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 2-17 años fue 28,6% (Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2017). Un estudio español del año 2020 analizó los datos de la historia electrónica de salud de 1.1 millones niños de 2-17 años de Cataluña entre 2006 y 2016 (de Bont et al., 2020). Como se puede observar en la figura 2, la prevalencia de sobrepeso y obesidad oscila entre aproximadamente 10% en niños de 2-5 años y hasta aproximadamente 40% en niños de 12-17 años. Además, se puede apreciar una disminución estadísticamente significativa pero leve a lo largo del periodo estudiado en ambos sexos y todos los rangos de edad.

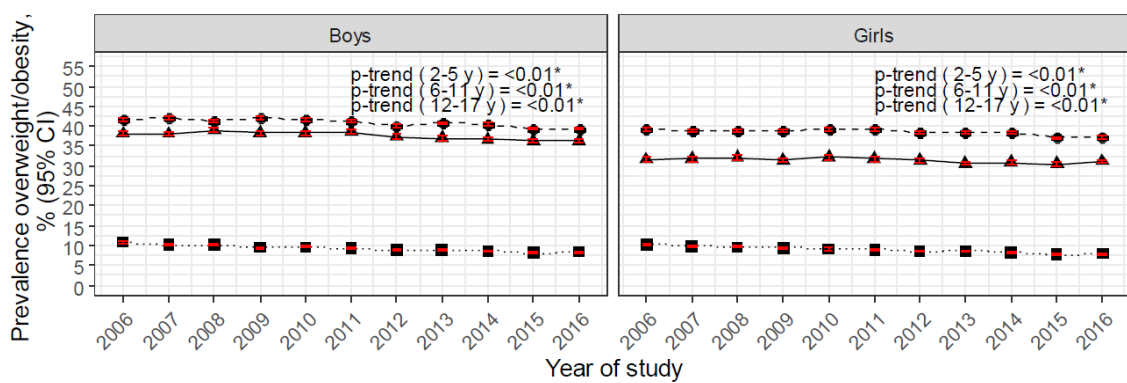


Figura 2: Evolución de la prevalencia de sobrepeso y obesidad en España en niños entre 2 y 17 años. Los cuadrados representan los datos de 2-5 años, los triángulos los datos de 6-11 años y los círculos de 12-17 años. De de Bont et al., 2020.

En la figura 3 se muestra la tasa de incidencia de la detección de sobrepeso y obesidad según la edad de la población catalana estudiada, siendo esta más alta a los 6-7 años tanto en niños como en niñas.

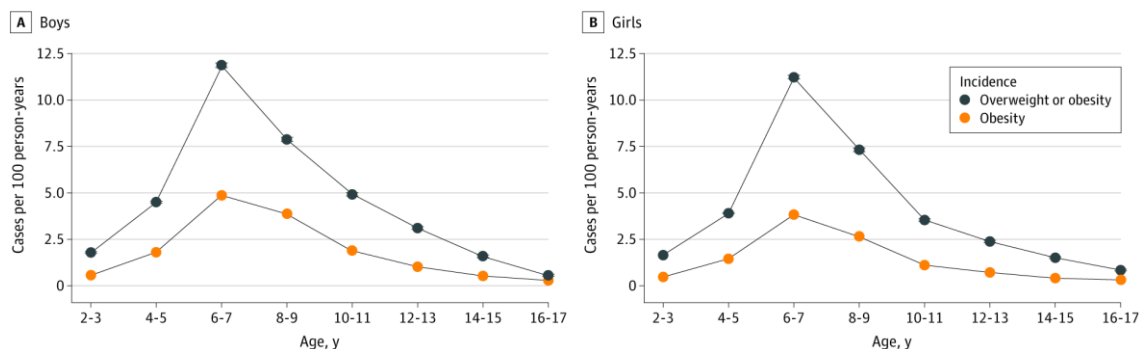


Figura 3: Tasa de incidencia de sobrepeso y obesidad en España en niños entre 2 y 17 años según sexo y edad. De de Bont et al., 2020.

Aparte de las diferencias de la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil que pueden existir según la edad, el sexo y la región geográfica se ha demostrado que varía también según factores étnicos y socioeconómicos (Kumar y Kelly, 2017). En niños preescolares estadounidenses se ha demostrado que la prevalencia de obesidad es más alta en población norteamericana nativa, hispanicos y negros en comparación con blancos no hispanicos o asiáticos (Anderson y Whitaker, 2009). Además, la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil en EE. UU. es más alta en poblaciones con bajos ingresos (Eagle et al., 2012). En España, se ha mostrado que tanto la prevalencia como la tasa de incidencia de sobrepeso y obesidad son más altas en zonas socialmente desfavorecidas como en zonas urbanas y en niños con nacionalidad no española (de Bont et al., 2020).

En resumen, a pesar de las diferencias metodológicas entre los estudios se puede concluir que la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil ha aumentado progresivamente en todas las regiones del mundo y todos los rangos de edad durante las últimas décadas y, aunque últimamente se está apreciando una meseta en algunas zonas, está en un nivel preocupante afectando aproximadamente entre un 10% y un 40% de la población infantil.

7.1.3 Etiología de la obesidad infantil

La etiología de sobrepeso y obesidad infantil es compleja y multifactorial dado que se han identificado numerosos factores de riesgo genéticos, ambientales y ecológicos que se interrelacionan (Kumar y Kelly, 2017).

En los últimos años, múltiples estudios tanto con modelos animales, estudios con familias y más recientemente, estudios con técnicas moleculares (*genome wide association studies*), han evidenciado que los factores genéticos juegan un papel importante en el desarrollo de sobrepeso y obesidad infantil (Chesi y Grant, 2015). En algunos casos alteraciones monogenéticas pueden producir obesidad infantil, pero, en la mayoría de los casos, es el resultado de la interacción de múltiples genes que influyen en la percepción de hambre y saciedad, en la regulación de los adipocitos y en el control del gasto energético (Ang et al., 2013). También existen factores epigenéticos que pueden propagar la aparición de obesidad infantil (Chang y Neu, 2015). A favor de una influencia genética importante apunta el hallazgo que los hijos de padres obesos tienen un mayor riesgo de desarrollar obesidad en comparación con hijos de padres sin obesidad, aunque parcialmente podrían contribuir factores socioculturales y ambientales (Whitaker et al., 1997).

Además, existen enfermedades endocrinas que pueden contribuir al desarrollo de obesidad infantil, como el exceso de glucocorticoides, hipotiroidismo o el déficit de la hormona de crecimiento (Kumar y Kelly, 2017). Igualmente, otras enfermedades como lesiones hipotalámicas pueden en ocasiones causar obesidad infantil. La toma de diferentes medicamentos como ciertos antidepresivos, antipsicóticos o antiepilépticos puede contribuir a la obesidad (Reekie et al., 2015; Hamed, 2015).

Asimismo, otros estudios han mostrado que distintos factores perinatales pueden asociarse a un aumento del sobrepeso y obesidad infantil. Por ejemplo, los hijos de madres con diabetes gestacional tienen un mayor peso al nacer y un mayor riesgo de desarrollar obesidad (McMillen et al., 2009). Esto se debe a la hiperinsulinemia fetal en respuesta a glucemias maternas y fetales elevadas que estimula el aumento del tejido adiposo fetal (Oken y Gillman 2003). Dado que niños con obesidad son más propensos a tener obesidad en la edad adulta incluyendo a futuras madres donde a su vez la

obesidad es un factor de riesgo para desarrollar una tolerancia alterada de glucosa durante el embarazo o incluso una diabetes gestacional, se ha propuesto un modelo intergeneracional de obesidad que resume este círculo vicioso (figura 4) (McMillen et al., 2009). Este modelo, aunque sea una simplificación de los complejos procesos relacionados con el desarrollo de obesidad tanto en la edad infantil como adulta, ilustra la importancia de intervenciones en diferentes niveles para poder disminuir la prevalencia de obesidad a cualquier edad.



Figura 4: Modelo intergeneracional de obesidad. Modificado de McMillen et al., 2009.

Además, hay una asociación entre la ganancia de peso durante el embarazo y la cantidad de grasa corporal del recién nacido (Hull et al., 2011). También hay evidencia derivada de estudios longitudinales que una mayor ganancia de peso durante el embarazo se asocia a un mayor IMC infantil a todas las edades y un mayor riesgo de obesidad en la edad adulta, independientemente del peso materno previo al embarazo (Schack-Nielsen et al., 2010) o factores genéticos (Ludwig y Currie, 2010).

Por otro lado, el riesgo de desarrollar sobrepeso u obesidad es más alto si una persona con un perfil genético de riesgo se expone a factores de riesgo ambientales, siendo uno de los factores ambientales más importantes la nutrición. Tras el nacimiento, el primer contacto con alimentos ya puede ser importante en este sentido, dado que la lactancia materna se ha asociado en algunos estudios a un menor riesgo de obesidad infantil (Arenz et al., 2004). Por otra parte, se ha demostrado que la adopción de un

estilo de alimentación típico de países industrializados con comidas de alta densidad energética es un factor de riesgo para desarrollar obesidad infantil (Pérez-Escamilla et al., 2012). Así, hay evidencia que el consumo de nutrientes hipercalóricos como bebidas azucaradas incluyendo zumos (Gonzalez-Palacios et al., 2019; Malik et al., 2013; DeBoer et al., 2013) y comida rápida (Mancino et al., 2014) se asocian a obesidad infantil. Dado que muchos niños pasan una parte considerable de su tiempo fuera de casa, en muchos casos ingieren una proporción importante de las calorías diarias en instituciones como colegios y se ha demostrado que la organización de la alimentación en este ámbito puede influir en el desarrollo de obesidad infantil (Heelan et al., 2015; Welker et al., 2016). Otras conductas como saltarse el desayuno u otras comidas o comer fuera de casa, también se han asociado a obesidad infantil (Antonogeorgos et al., 2012; Fulkerson et al., 2008).

Además, una alimentación caracterizada por una ingesta elevada de calorías suele ir acompañada a menudo de hábitos sedentarios, lo que aumenta la brecha energética (*energy gap*) que se produce cuando hay una diferencia entre la ingesta energética y el gasto energético (Han et al., 2010). En este sentido, bajos niveles de actividad física (Jiménez-Pavón et al., 2010), como el elevado uso de televisión, ordenadores, tabletas, móviles y videojuegos (Marshall et al., 2004) se han asociado a obesidad infantil. Por otra parte, algunos estudios muestran que un menor tiempo y una menor calidad de sueño se han asociado también a obesidad infantil (Jiang et al., 2009; Sekine et al., 2002; Al Mamun et al., 2007).

A modo de resumen, la figura 5 sintetiza gráficamente la interrelación de los factores más importantes que se han asociado a obesidad infantil en diferentes estudios. Sin embargo, una revisión sistemática del año 2013 que incluyó 61 estudios prospectivos concluyó que solamente existía evidencia sólida para la asociación entre obesidad infantil y factores genéticos, así como una actividad física baja (Pate et al., 2013). Curiosamente, la evidencia no era concluyente para la asociación entre factores dietéticos incluyendo la ingesta de bebidas azucaradas y la ingesta de grasas (Pate et al., 2013). Además, el efecto de la ingesta de grasas en general sobre el peso corporal en niños fue analizado en una revisión Cochrane, siendo los resultados no concluyentes (Naude et al., 2018). Sin embargo, estudios en adultos han demostrado

que una mayor ingesta de tipos específicos de grasas se asocia a un aumento de peso, en particular, la ingesta de ácidos grasos *trans* (Mozaffarian, et al., 2009; Thompson et al., 2011).

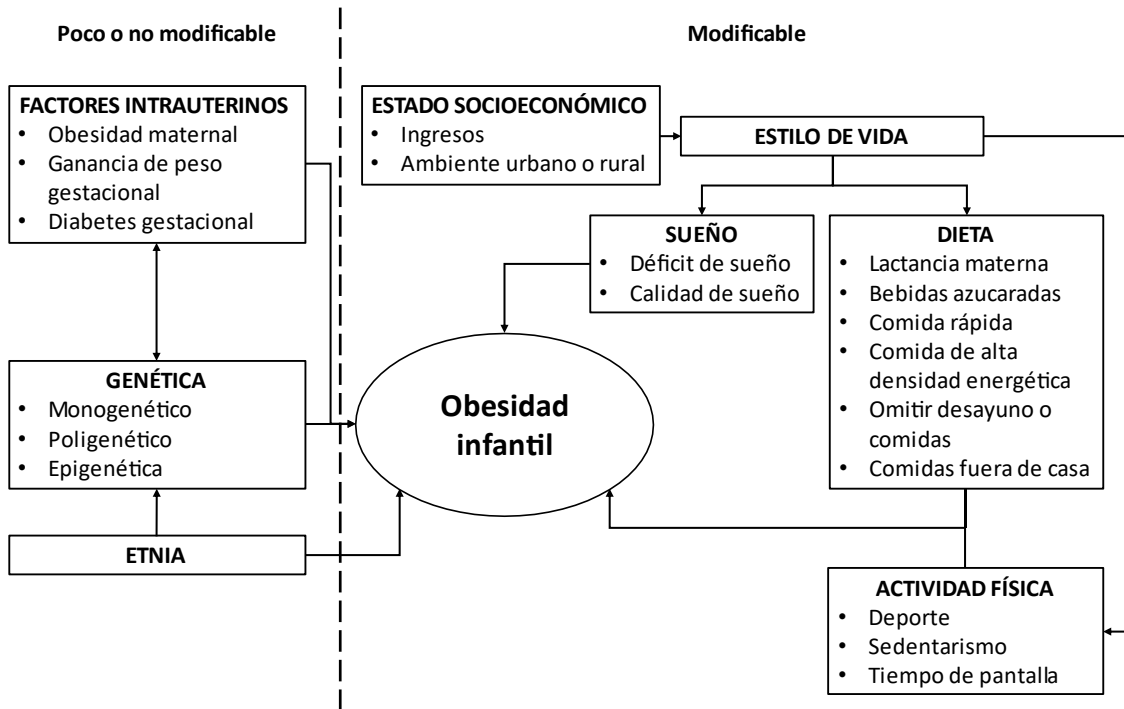


Figura 5: Resumen esquemático de la compleja relación de factores que pueden contribuir al desarrollo de sobrepeso y obesidad infantil. Modificado de Ang et al., 2013.

7.1.4 Comorbilidades y consecuencias de la obesidad infantil

El sobrepeso y la obesidad infantil se asocian a sobrepeso y obesidad tanto en la adolescencia como en la edad adulta llevando consigo un aumento de la morbilidad y mortalidad en la vida adulta (Han et al., 2010; Bjørge et al., 2008; Lakshman et al., 2012). A continuación, se detallan algunas de las comorbilidades más importantes.

Los niños con sobrepeso y obesidad son más propensos a desarrollar enfermedades como diabetes mellitus tipo 2, hipertensión y dislipemia, el síndrome metabólico y por tanto tienen un mayor riesgo cardiovascular (Molnár, 2004; Sorof y Daniels, 2002; Friedemann et al., 2012). Además, el sobrepeso y la obesidad infantil se asocian a cardiopatías como hipertrofia ventricular izquierda y disfunción sistólica o diastólica (Crowley et al., 2011; Chinali et al., 2006) así como a la enfermedad del hígado graso no alcohólico (*Non-alcoholic fatty liver disease* o NAFLD) en niños que puede variar de una esteatosis hepática a una esteatohepatitis o incluso cirrosis hepática (Feldstein et al., 2009). La enfermedad del hígado graso no alcohólico se ha convertido en la hepatopatía más frecuente en niños (Lavine y Schwimmer, 2004). Al nivel pulmonar, la obesidad infantil se ha asociado al síndrome de apnea-hipopnea del sueño (SAHS) con un aumento de la gravedad con un IMC más alto (Spilsbury et al., 2015; Kalra e Inge, 2006). Además, se ha mostrado una asociación positiva entre obesidad infantil y asma bronquial (Papoutsakis et al., 2013). La obesidad infantil afecta también al sistema musculoesquelético porque reduce la movilidad y aumenta el riesgo de fracturas y tanto el dolor articular como el desalineamiento de las extremidades inferiores (Chan y Chen, 2009; Pomerantz et al., 2010). Por otro lado, la obesidad infantil tiene un gran impacto psicosocial y se asocia a una autoestima baja y depresión (Griffiths et al., 2010).

En consecuencia, la obesidad infantil contribuye a una sobrecarga de los sistemas de salud importante y aumenta los costes sanitarios considerablemente (Branca et al., 2007).

7.2 ÁCIDOS GRASOS *TRANS*

7.2.1 Definición y fuentes de ácidos grasos *trans*

Los ácidos grasos *trans* (AGT) son isómeros geométricos de ácidos grasos insaturados que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono no conjugado en configuración *trans* (Nishida y Uauy, 2009). Los AGT dietéticos pueden ser de origen natural o industrial. Los AGT industriales se producen artificialmente por la hidrogenación parcial de aceites vegetales insaturados (Bhardwaj et al., 2011). Este proceso ocurre cuando se calientan los aceites vegetales, por ejemplo, durante el proceso de freír. Además, se usa la hidrogenación parcial de aceites vegetales insaturados industrialmente para endurecer los aceites vegetales en productos como la margarina o la manteca. Las ventajas del uso industrial de los aceites vegetales endurecidos incluyen el bajo coste y una vida útil más larga de los productos. Las principales fuentes dietéticas de AGT industriales descritas son las margarinas, los productos comercialmente horneados, la comida rápida o frita, los bocadillos y otros alimentos preparados (Mozaffarian et al., 2006). Por otro lado, los AGT naturales se ingieren a través del consumo de carne o productos lácteos de animales rumiantes en los que los microorganismos presentes en el rumen producen pequeñas cantidades de AGT (Bhardwaj et al., 2011). Los AGT industriales principales son isómeros de ácido elaídico y el principal AGT natural es el ácido vaccénico (de Souza et al., 2015). En la figura 6 se exponen ejemplos de ácidos grasos saturados e insaturados *cis* y *trans*.

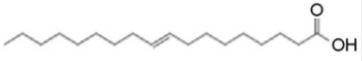
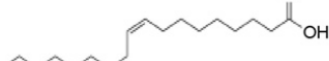
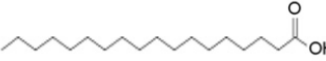
Ácido elaídico Ácido graso <i>trans</i> insaturado principal, típico de aceites vegetales parcialmente	Ácido oleico Ácido graso <i>cis</i> insaturado, compone 55-80% de aceite de oliva	Ácido esteárico Ácido graso saturado, típico de grasa animal
		

Figura 6: Estructura y características de importantes ácidos grasos tanto saturados como insaturados en configuración *cis* y *trans*. Modificado de Bhardwaj et al., 2011.

7.2.2 La ingesta de ácidos grasos *trans* y sus consecuencias

Una revisión sistemática del año 2017 que analizó datos de 27 países que fueron publicados a partir del año 1995 reveló que la ingesta de AGT en adultos varía entre 0.3% y 4.2% de la energía ingerida (Wanders et al., 2017). Teniendo en cuenta que la OMS recomienda que la ingesta total de AGT no sea por encima de 1% de la energía ingerida, en siete países del estudio se registró una ingesta por encima de este límite (WHO, 2015). En la figura 7 se visualiza gráficamente la ingesta de AGT de los 27 países estudiados.

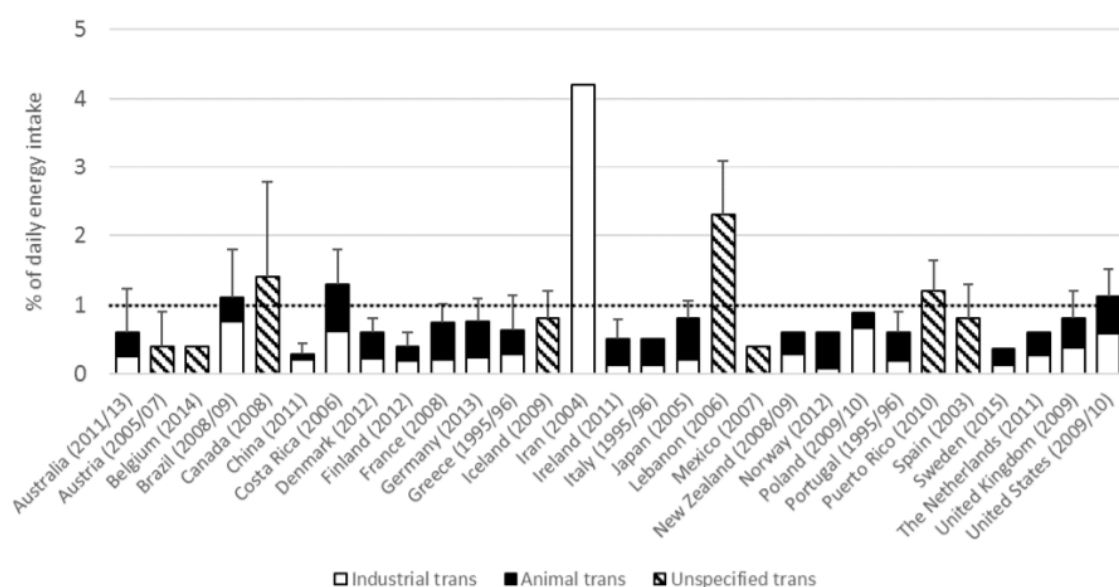


Figura 7: Ingesta de ácido grasos *trans* totales o naturales e industriales de 27 países del mundo. De Wanders et al., 2017.

Los datos sobre la ingesta de AGT en España se basan en dos estudios. En primer lugar, el “Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación” llevado a cabo en el año 1991 que contó con una muestra representativa y 21.555 participantes de 0 a 70 años reveló que la ingesta media de AGT fue de 2.1 g/día, correspondiendo a 0.7% de la energía ingerida (Valera et al., 1995). En segundo lugar, existe un estudio más reciente basado en datos publicados en 2003 con 516 participantes de Cataluña, donde la ingesta de AGT fue de 2.0 g/día, correspondiendo a 0.84% de la energía ingerida (Mayneris-Perxachs et al., 2010).

La cuantificación de la ingesta de AGT resulta importante ya que se ha demostrado que una ingesta elevada de AGT se asocia en adultos a un aumento del riesgo cardiovascular, principalmente debido a una alteración del perfil lipídico y de lipoproteínas en sangre (Mozaffarian, 2016).

Así, hay evidencia consistente que la ingesta de AGT aumenta el colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL colesterol), la lipoproteína ApoB, los triglicéridos, la lipoproteína (a) y disminuye el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL colesterol) y la lipoproteína ApoA1 (Mozaffarian et al., 2009; Mozaffarian et al., 2006). Además, existe evidencia de efectos no lipídicos, dado que una elevada ingesta de AGT se ha asociado a un estado proinflamatorio, disfunción endotelial y un empeoramiento de la sensibilidad a la insulina (Mozaffarian et al., 2009; Mozaffarian et al., 2006). Por otro lado, la ingesta de AGT se ha asociado también a sobrepeso y obesidad, pero, debido a que esta asociación es uno de los puntos principales de esta tesis, se describe en el siguiente apartado con más detalle. Finalmente, estudios epidemiológicos realizados en adultos han mostrado que una mayor ingesta de AGT se ha asociado a una mayor mortalidad, tanto total como cardiovascular (de Souza et al., 2015).

Un aspecto interesante que ha ganado importancia recientemente es que los AGT de origen industrial podrían tener diferentes efectos que los AGT de origen natural a pesar de contar con una estructura química similar. La mayoría de los estudios iniciales valoraron los AGT en total sin distinguir entre AGT industriales y naturales o asumían que la proporción de los AGT naturales ingerida era pequeña (Mozaffarian, 2016). Así, los autores de un metaanálisis que describió una asociación significativa entre enfermedad coronaria y la ingesta de AGT en total e industriales, pero no de AGT naturales, concluyeron que podría haber una diferencia entre los subtipos de los AGT o que este hallazgo se podría deber a una ingesta baja de AGT naturales (Bendsen et al., 2011; Brouwer et al., 2010). No obstante, en otro estudio se mostró que concentraciones plasmáticas más altas de AGT naturales se han asociado a una menor concentración plasmática de triacilglicerol, menor presión arterial y menor riesgo de diabetes mellitus tipo 2, en sintonía con la idea que los subtipos de AGT podrían tener diferentes efectos (Da Silva et al., 2015). Estos hallazgos fueron concluyentes con un estudio que analizó la composición de la membrana de eritrocitos de más de 3.000

participantes observando que un biomarcador de la ingesta de AGT de origen lácteo se asoció a un menor riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y muerte cardíaca súbita (Mozaffarian, 2016). No obstante, se requieren más estudios para caracterizar mejor las posibles diferencias a largo plazo entre la ingesta de AGT de origen natural o industrial.

Debido a los efectos negativos de la ingesta de AGT industriales y para el total de AGT evidenciados por estudios epidemiológicos, muchos países han limitado legalmente el contenido de AGT de los alimentos. La eficacia de estas medidas se aprecia en la revisión sistemática del año 2017 citada inicialmente, donde los datos disponibles sobre la evolución de la ingesta de AGT en el tiempo indican una disminución sustancial de la ingesta de AGT industriales desde el año 1995 en 20 países (Wanders et al., 2017). Consecuentemente, según los datos más recientes de este estudio, en 16 de 21 países con datos disponibles sobre las fuentes de los AGT, la ingesta de AGT naturales sobrepasa la ingesta de AGT industriales (Wanders et al., 2017).

Las conclusiones presentadas hasta el momento se han derivado de estudios realizados en adultos dado que en niños hay pocos datos sobre la ingesta de AGT publicados y no se han llevado a cabo estudios experimentales u observacionales de tipo prospectivo sobre los efectos de la ingesta de AGT sobre la mortalidad o el riesgo cardiovascular en niños (Te Morenga y Montez, 2017). Un estudio transversal canadiense en niños de 5 a 6 años del año 2013 reveló que la ingesta media de AGT en total era del 0,71% de la energía ingerida y que el 12% de los participantes sobrepasó el 1% de la energía ingerida que es la ingesta máxima recomendada no sobrepasar por la OMS (Mulder et al., 2013). Los autores concluyeron que se deberían de realizar más esfuerzos para permitir la selección de alimentos con un bajo contenido de AGT a fin de reducir la ingesta de AGT en niños. Sin embargo, la información publicada sobre las fuentes y las cantidades de la ingesta de AGT para niños en edad preescolar es escasa y, a pesar de la búsqueda exhaustiva de la literatura al respecto, no se ha encontrado ningún estudio publicado hasta el momento que distinga entre la ingesta de AGT industriales y AGT naturales en esta población (Innis, 2006; Bauer y Waldrop, 2009).

7.3 ASOCIACIÓN ENTRE LA INGESTA DE ÁCIDOS GRASOS *TRANS* Y OBESIDAD

Además de las consecuencias de la ingesta de AGT para la salud que se han presentado previamente existe evidencia que la ingesta de AGT juega un papel en el desarrollo de la obesidad. En adultos, dos grandes estudios observacionales prospectivos han demostrado una asociación entre la ingesta de ácidos grasos *trans* y el aumento de peso. Un estudio de cohorte prospectivo con más de 16.000 varones estadounidenses entre 40 y 75 años y un seguimiento de 9 años reveló que la sustitución de grasas poliinsaturadas o de hidratos de carbono por AGT en la dieta se asoció a un aumento de la circunferencia de cadera (Koh-Banerjee et al., 2003). En otro estudio estadounidense con más de 40000 mujeres de 41 a 68 años de la Nurses' Health Study la ingesta de AGT se asoció a un aumento de peso tras un seguimiento de 8 años (Field et al., 2007). En ambos estudios y, tras ajustar por calorías ingeridas, la asociación entre la ingesta de AGT y obesidad fue 7 veces mayor que la asociación entre la ingesta de grasas en total y obesidad y 4 veces mayor que la asociación entre la ingesta de ácidos grasos saturados y obesidad (Wallace y Mozaffarian, 2009).

Debido a limitaciones éticas, la realización de ensayos controlados comparando distintas ingestas de AGT en seres humanos no sería factible. No obstante, existe un estudio de intervención doble ciego aleatorizada en 54 mujeres postmenopáusicas sanas con un seguimiento de 16 semanas, en el que un grupo de mujeres recibió aceite de soja parcialmente hidrogenado (con un elevado contenido de AGT) y otro grupo control con aceite vegetal (sin AGT) mostró que las mujeres que tomaron el aceite de soja parcialmente hidrogenado tuvieron un aumento de grasa corporal total y de circunferencia de cadera en comparación con el grupo control, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos (Bendsen et al., 2011). No obstante, las limitaciones principales del estudio fueron el bajo número de participantes y la corta duración del seguimiento.

También existen estudios realizados en animales que han descubierto una asociación entre la ingesta de AGT y la obesidad. En un ensayo clínico aleatorizado controlado en 42 monos con un seguimiento de 6 años una dieta rica en AGT se asoció de manera significativa tanto a un mayor aumento de peso como a más obesidad visceral, en

comparación con una dieta de control basada en ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (Kavanagh et al., 2007). Además, en otro estudio con ratas la ingesta de una dieta rica en AGT se asoció a un aumento de grasa abdominal significativo en comparación con una dieta de control isocalórica (Axen et al., 2003).

De nuevo, los estudios previamente citados no distinguieron entre AGT de origen industrial o natural, pero como en el apartado previo descrito se ha comprobado que la ingesta de los diferentes tipos de AGT puede tener efectos diferentes dado que la ingesta de AGT naturales no se asocia a un aumento del riesgo cardiovascular (Mozaffarian et al., 2009). En concordancia con estos hallazgos, en un estudio de cohorte danés con más de 30000 participantes de 50 a 64 años la ingesta de AGT naturales no se ha asociado a cambios en el tamaño, la forma o la composición corporal tras un seguimiento de 5 años (Hansen et al., 2016).

En población infantil la evidencia publicada sobre la asociación de la ingesta de AGT y sobrepeso u obesidad infantil es escasa. Un estudio prospectivo realizado en Colombia con 668 niños de 5 a 12 años no encontró una asociación significativa entre la concentración sérica de AGT y el aumento de peso después de una mediana de seguimiento de 30 meses (Baylin et al., 2015). Sin embargo, aunque fue un estudio prospectivo y se utilizaron biomarcadores, los resultados se basaron en una única determinación de AGT en suero durante el reclutamiento, lo que refleja sólo la ingesta de AGT a corto plazo. Los autores señalaron que debido a este motivo podría haber aumentado el error de medición, lo que podría explicar los resultados obtenidos. En cualquier caso, hasta el momento actual no existen otros estudios sobre la asociación entre la ingesta de AGT y sobrepeso u obesidad en niños publicados.

8 JUSTIFICACIÓN

Como se ha detallado previamente, el sobrepeso y la obesidad infantil son problemas graves de salud pública a nivel mundial. La prevalencia ha aumentado paulatinamente en los últimos años en todo el mundo hasta situarse en muchos países en torno al 40%. Dado que se asocia a numerosas enfermedades en la edad infantil y también en la edad adulta, las intervenciones que podrían contribuir a disminuir su prevalencia podrían beneficiar a toda la sociedad. Antes de planificar intervenciones para prevenir o disminuir este problema de salud pública, es necesario conocer su magnitud y entender los detalles complejos del problema. Esto incluye la obtención de información sobre la prevalencia de obesidad infantil en diferentes edades y en diferentes zonas y explorar también los factores asociados, tanto socioculturales como individuales. Existen múltiples estudios sobre la etiología y la prevalencia de obesidad infantil pero los estudios que componen esta tesis añaden información valiosa a la evidencia existente. Por ejemplo, un factor que se ha asociado a varios problemas de salud incluyendo la obesidad en adultos es la ingesta de AGT, pero todavía hoy no existen muchos datos publicados sobre las características de su ingesta y sus efectos en edad infantil. Es por ello, que esta tesis se justifica por diferentes motivos:

En primer lugar, se distingue por primera vez en población infantil preescolar entre la ingesta de AGT industriales y naturales. Esto permite una descripción detallada de la ingesta de los AGT y sus subtipos en esta población, incluyendo la exploración de factores que se asocian a la ingesta de cada subtipo. Además, se investiga por primera vez en esta población la asociación de la ingesta de los diferentes subtipos de AGT y sobrepeso incluyendo obesidad infantil.

Así, el carácter novedoso de la información obtenida en esta tesis puede contribuir a un mejor conocimiento de la ingesta de AGT en niños preescolares de varias áreas geográficas de España que participan en el estudio INMA y su posible influencia sobre el sobrepeso y la obesidad infantil.

Finalmente, como la ingesta de AGT resulta un factor modificable, la información derivada de esta tesis puede contribuir a mejorar posibles estrategias de promoción de salud infantil.

9 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En esta tesis se plantea la hipótesis que una mayor ingesta de ácidos grasos *trans*, mayoritariamente de origen industrial, se asocia a un mayor riesgo de sobrepeso y obesidad en niños de 4-5 años.

En paralelo con esta hipótesis el **objetivo general** de la tesis fue describir la ingesta de ácidos grasos *trans* en niños de 4-5 años en España e investigar la asociación entre la ingesta de ácidos grasos *trans* y sobrepeso, incluyendo obesidad, en esta población.

Los **objetivos específicos** de la tesis fueron:

1. Describir la ingesta de ácidos grasos *trans* en total, industriales y naturales en niños de 4-5 años y determinar los principales alimentos que contribuyen a su ingesta.
2. Explorar la asociación entre variables sociodemográficas (edad materna, edad paterna, país de origen de los padres, nivel educativo de la madre, clase social de la madre, actividad física del niño, horas de ver la televisión del niño, ingesta de frutas y verduras del niño, ingesta de bebidas azucaradas del niño), y la ingesta total de ácidos grasos *trans*, y según su origen industriales y naturales.
3. Explorar la asociación entre la ingesta de ácidos grasos *trans* tanto en total, como de origen industrial y natural, y el sobrepeso incluyendo obesidad, en niños de 4-5 años.

El primer y el segundo objetivo específico se abordaron en un primer artículo científico y el tercer objetivo específico en un segundo artículo científico, ambos publicados en revistas científicas internacionales de alto impacto.

10 METODOLOGÍA

10.1 DISEÑO DEL ESTUDIO Y PARTICIPANTES

El proyecto INMA (INfancia y Medio Ambiente) es un estudio de cohorte de base poblacional prospectivo multicéntrico que se ha realizado con madres y sus hijos en las regiones de Asturias, Gipuzkoa, Sabadell y Valencia con un protocolo de estudio común. Su objetivo es estudiar el efecto de la dieta y los factores ambientales durante el embarazo y la primera infancia sobre el crecimiento, el desarrollo y la salud infantil (Guxens et al., 2012). Para este fin, entre noviembre de 2003 y agosto de 2008 se reclutaron 2644 mujeres embarazadas que aceptaron participar. Finalmente 2506 madres y sus recién nacidos cumplieron los criterios de inclusión y se incluyeron en el estudio. De estos niños, 1829 (73.0%) fueron evaluados a los 4-5 años entre 2009 y 2012. Las madres que se perdieron durante el seguimiento no mostraron diferencias significativas en las variables antropométricas, el consumo de tabaco y alcohol y la calidad de la dieta, incluyendo el consumo de frutas y verduras. Sin embargo, las madres participantes eran ligeramente mayores, tenían más estudios universitarios y eran de una clase social más alta que las madres que se perdieron durante el seguimiento. Las madres que participaron dieron su consentimiento informado por escrito y el estudio fue aprobado por los comités de ética de los centros involucrados en el estudio (Hospital La Fe, Valencia; Hospital de Zumárraga, Gipuzkoa; CEIC-Parc de Salut Mar, Barcelona; Hospital Universitario Central de Asturias).

10.2 EVALUACIÓN DIETÉTICA Y VALORACIÓN DE LA INGESTA DE ÁCIDOS GRASOS *TRANS*

Se utilizó un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de alimentos para evaluar la dieta habitual de los niños. Se pidió a los padres que indicarán con qué frecuencia, en promedio, sus hijos habían consumido la porción especificada o el tamaño de la porción para cada alimento del cuestionario durante el último año. El cuestionario tuvo nueve respuestas posibles, desde "nunca o menos de una vez por mes" a "seis o más por día". El cuestionario se derivó de una versión para adultos previamente

validada con las madres que participan en el estudio INMA (Vioque et al., 2013). El cuestionario se modificó para incluir alimentos y tamaños de porciones adecuados para niños de 4 a 5 años y fue validado con tres recordatorios de 24 horas y varios biomarcadores en una muestra de 169 niños de 4 a 5 años de la cohorte de Valencia (Vioque et al., 2016). El rango de los coeficientes de reproducibilidad y validez del cuestionario fue similar a lo que está descrito en la literatura (Ortiz-Andrellucchi et al., 2009). Con respecto a la reproducibilidad y la validez del cuestionario para la ingesta de AGT, se utilizaron tres recordatorios de 24 horas con un período de 6-9 meses entre dos cuestionarios y se obtuvieron coeficientes de correlación de 0,44 y 0,23 para la reproducibilidad y validez respectivamente (Vioque et al., 2016).

Los valores de nutrientes de los alimentos se obtuvieron principalmente de las tablas de composición de alimentos del Departamento de Agricultura de EE. UU. (U.S. Department of Agriculture, 2015) y otras fuentes españolas (Palma et al., 2008). Para el contenido de AGT de alimentos españoles y fuentes con información detallada sobre el contenido de AGT en total, industriales y naturales en alimentos se consultaron diversas fuentes (Leth et al., 1998; Larqué et al., 2003; Vicario et al., 2003; Fernández-San Juan, 2009; Kuhnt et al., 2011; U.S. Department of Agriculture, 2015). Se calcularon las ingestas diarias habituales de nutrientes para cada niño multiplicando la frecuencia del uso de cada alimento por el contenido de nutrientes de la porción especificada en el cuestionario. Posteriormente se sumaron todos los alimentos para obtener la ingesta total de nutrientes para cada participante. La ingesta diaria habitual de AGT se expresó en g/día. Además, se estimó la ingesta de energía en kcal/día para cada participante y se utilizó el método residual para estimar los valores de ingesta de nutrientes ajustados a la ingesta de calorías (Willett, 2013). También se estimó la ingesta diaria habitual de frutas y verduras, así como la ingesta de bebidas azucaradas en g/día.

10.3 EVALUACIÓN DE SOBREPESO Y OBESIDAD INFANTIL

En la visita de los 4 a 5 años profesionales de la salud entrenados tomaron mediciones antropométricas directas del peso corporal y la estatura de los niños siguiendo protocolos estandarizados (Guxens et al., 2012). El IMC de los niños se calculó

dividiendo el peso en kilogramos por la altura en metros al cuadrado. Los niños se clasificaron con sobrepeso u obesidad según los criterios de la IOTF utilizando los puntos de corte específicos para la edad y el sexo (Cole et al., 2000). Los niños clasificados de bajo peso se agruparon junto con niños con peso normal, ya que la mayoría (81%) de los niños con bajo peso tenían sólo bajo peso leve (grado 1 de 3 según los criterios IOTF).

10.4 COVARIABLES

Las siguientes variables de los padres se recogieron al inicio del estudio: nivel educativo de la madre (ninguno o primario, secundario, universitario); clase social de la madre (bajo, medio, alto); país de origen de los padres (España, otros países); IMC de la madre antes del embarazo (kg/m²) y IMC del padre (kg/m²). Además, se recogieron las siguientes variables de los niños en la visita de los 4-5 años: sexo (masculino, femenino); edad (años); actividad física (bajo, medio, alto) y ver televisión (horas/día).

10.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico R, versión 3.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria). Todas las pruebas estadísticas fueron bilaterales y los p valores <0.05 se consideraron estadísticamente significativos.

Para el análisis del primer artículo, se excluyeron los participantes con datos faltantes para las variables de interés. Los datos a la edad de 4-5 años se analizaron de manera transversal incluyendo 1793 niños (98,0%) en el análisis final. Se realizaron análisis descriptivos para comparar la ingesta de AGT en g/día y en porcentaje de energía ingerida entre las cohortes del estudio aplicando análisis de varianza (ANOVA) para variables continuas y pruebas de Chi al cuadrado para variables categóricas. Asimismo, se utilizó regresión lineal múltiple para estimar coeficientes de regresión ajustados e intervalos de confianza del 95% (IC 95%) para explorar la asociación entre las características de los padres y los niños y la ingesta de AGT en total, industriales y naturales (en mg/día). Para explorar los factores asociados a la ingesta de AGT y controlar para las posibles variables de confusión todos los modelos multivariantes se

ajustaron por la edad de los padres, país de origen, nivel educativo de la madre, clase social de la madre, sexo del niño, edad del niño, actividad física del niño, horas de ver la televisión, ingesta de frutas y verduras, ingesta de bebidas azucaradas e ingesta de energía.

Para el análisis del segundo artículo, se excluyeron los niños con ingestas calóricas no plausibles (n=79) que se identificaron mediante la aplicación de la fórmula propuesta por Goldberg et al. (Goldberg et al., 1991) con el punto de corte adaptado para niños europeos de 2 a 6 años publicado por Börnhorst et al. (Börnhorst et al., 2013). Además, se excluyeron 6 participantes con datos faltantes para las variables de interés. Finalmente se incluyeron 1774 niños (96.9%) en el análisis, que se realizó de manera transversal a los 4-5 años. A fin de comparar las características de los niños con peso normal y los que tenían sobrepeso, incluyendo obesidad, se realizaron análisis descriptivos univariantes. También se aplicaron análisis de varianza (ANOVA) para variables continuas y pruebas de Chi al cuadrado para variables categóricas. Además, para explorar la asociación entre la ingesta de AGT en total, industriales y naturales (expresada en cuartiles) y sobrepeso incluyendo obesidad, se utilizó regresión logística múltiple para estimar valores p, odds ratios (OR) ajustados e intervalos de confianza del 95%. Para ello, se realizaron dos modelos diferentes: un modelo basal (modelo 1) ajustado por sexo, edad, ingesta total de energía y cohorte de estudio y un segundo modelo (modelo 2) adicionalmente ajustado por factores de riesgo de obesidad infantil (nivel educativo de la madre, clase social de la madre, IMC de la madre, IMC del padre, país de origen de los padres, actividad física, horas de ver la televisión, consumo de frutas y verduras y consumo de bebidas azucaradas). Además, se realizaron seis análisis de sensibilidad diferentes, en tres casos agregando una variable al modelo 2 (pequeño para la edad gestacional según el peso, lactancia materna y tabaquismo durante el embarazo, respectivamente), en un caso incluyendo a los niños con una ingesta de calorías no plausible (n=79) y en otro caso excluyendo a los niños con bajo peso (n=98). Asimismo, en otro análisis de sensibilidad se excluyeron a los niños con sobrepeso (n=249) y se compararon solamente los niños con obesidad (n=98) con los de peso normal (n=1397).

RESULTADOS

La tesis se presenta como compendio de publicaciones, basándose en dos artículos previamente publicados en revistas de alto impacto. A continuación, se resumen los resultados de ambos artículos. Además, en el anexo se encuentran los textos de ambos artículos originales.

10.6 RESULTADOS DEL PRIMER ARTÍCULO

En la tabla 1 se describe ingesta de AGT en total, industriales y naturales de los niños del estudio INMA a los 4-5 años. La ingesta diaria media de AGT en total fue de 1.36 g/día (mediana 1.30 g/día) y las ingestas medias correspondientes de AGT industriales y naturales fueron de 0.60 y 0.71 g/día, respectivamente. Por lo tanto, más de la mitad de la ingesta total de AGT provino de AGT naturales. Se observaron diferencias significativas de la ingesta media diaria de AGT entre las cohortes. Valencia mostró la mayor ingesta total e industrial de AGT y Guipuzcoa la menor ingesta de todos los tipos de AGT ($p < 0,05$). Con respecto a la ingesta de energía proporcionada por AGT en relación con la ingesta energética total, el 10% de los niños obtuvo al menos el 1% de su ingesta energética de AGT; este porcentaje osciló entre el 6,5% en niños de Sabadell y el 14,6% en niños de Valencia. También se observaron diferencias estadísticamente significativas para varias características de padres e hijos entre las cohortes.

Tabla 1. Características de la ingesta de ácidos grasos *trans* (AGT) en total, industriales y naturales de los niños del estudio INMA a los 4-5 años.

	Todas las cohortes (n = 1793)		Asturias (n = 387)		Gipuzkoa (n = 395)		Sabadell (n = 429)		Valencia (n = 582)	
	g/día	% de energía	g/día	% de energía	g/día	% de energía	g/día	% de energía	g/día	% de energía
Ingesta de AGT en total										
Media	1.36	0.77	1.40	0.76	1.22	0.74	1.35	0.74	1.43	0.81
Desviación típica	0.45	0.17	0.47	0.16	0.38	0.17	0.41	0.17	0.50	0.18
P10	0.85	0.56	0.89	0.56	0.77	0.54	0.89	0.56	0.86	0.59
P25	1.03	0.65	1.08	0.65	0.93	0.62	1.07	0.63	1.06	0.68
P50	1.30	0.75	1.32	0.74	1.17	0.74	1.29	0.73	1.38	0.80
P75	1.60	0.87	1.59	0.86	1.46	0.85	1.60	0.83	1.73	0.92
P90	1.95	1.00	1.97	0.99	1.67	0.98	1.90	0.94	2.11	1.05
Ingesta de AGT industriales										
Media	0.60	0.34	0.54	0.30	0.54	0.33	0.63	0.35	0.65	0.37
Desviación típica	0.27	0.13	0.26	0.11	0.21	0.11	0.27	0.13	0.30	0.13
P10	0.31	0.20	0.28	0.17	0.31	0.21	0.35	0.21	0.33	0.21
P25	0.42	0.26	0.38	0.22	0.39	0.25	0.45	0.26	0.45	0.28
P50	0.55	0.32	0.49	0.29	0.50	0.32	0.57	0.33	0.59	0.35
P75	0.73	0.40	0.64	0.35	0.66	0.38	0.76	0.41	0.81	0.44
P90	0.94	0.50	0.85	0.43	0.81	0.46	0.98	0.52	1.06	0.55
Ingesta de AGT naturales										
Media	0.71	0.40	0.82	0.45	0.64	0.39	0.65	0.36	0.72	0.41
Desviación típica	0.28	0.12	0.31	0.13	0.26	0.12	0.23	0.10	0.28	0.11
P10	0.40	0.26	0.48	0.29	0.36	0.23	0.40	0.23	0.41	0.27
P25	0.51	0.32	0.59	0.35	0.46	0.30	0.49	0.29	0.52	0.34
P50	0.67	0.39	0.80	0.43	0.60	0.38	0.62	0.35	0.70	0.40
P75	0.86	0.47	0.97	0.53	0.76	0.46	0.79	0.43	0.88	0.48
P90	1.10	0.56	1.21	0.62	0.97	0.55	0.95	0.49	1.11	0.56

En la figura 8 se visualiza la contribución de los grupos de alimentos principales en la ingesta de AGT en total, industriales y naturales. Las principales fuentes de la ingesta de AGT en total de los niños fueron leche (21%), bollería industrial (16%), dulces (12%), comida rápida (12%), pan blanco (10%), carne roja y procesada (8%) y yogur (7%). Los principales contribuyentes a la ingesta de AGT industriales fueron comida rápida (25%), pan blanco (23%), bollería industrial (20%) y dulces (19%), representando aproximadamente el 87% de la ingesta de AGT industriales. Los contribuyentes más importantes a la ingesta de AGT naturales fueron leche (37%), seguido de carne roja y procesada (13%), bollería industrial (13%), yogur (12%) y queso (10%).

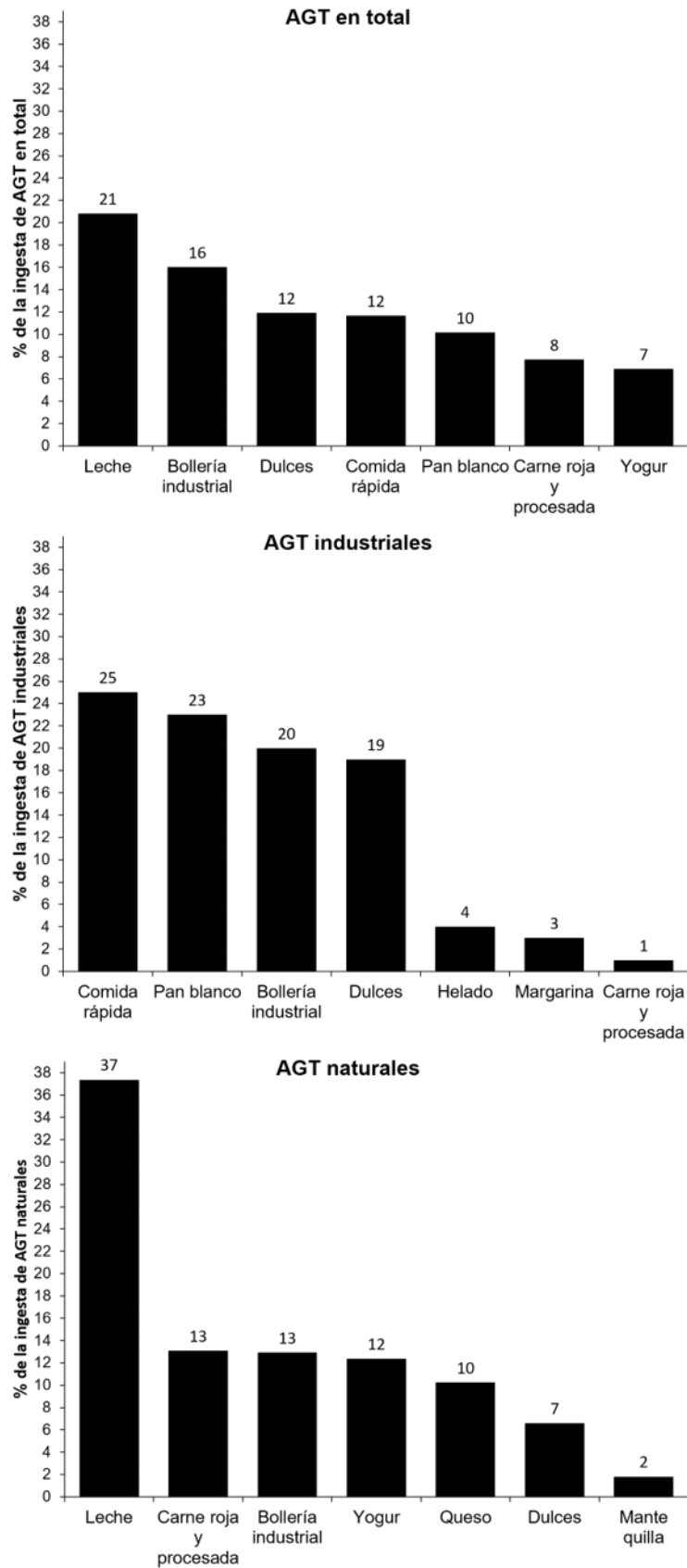


Figura 8: Contribución de grupos de alimentos a la ingesta de ácido grasos trans en total, industriales y naturales.

La tabla 2 resume la asociación entre características tanto de los padres como de los niños y de la ingesta de AGT en total, industriales y naturales. Tener padres no originarios de España se asoció a una mayor ingesta de AGT (en mg/día) en total (β 45.5, IC del 95% 1.3; 89.6) y naturales (β 65.7, IC del 95% 37.4; 94.0). Ver televisión (horas/día) se asoció a una mayor ingesta de AGT industriales (β 18.3, IC 95% 5.9; 30.7). La ingesta de frutas y verduras (por cada 100g/día) se asoció inversamente a la ingesta de AGT en total, industriales y naturales (β -85.5, β -46.6 y β -36.9, respectivamente; $p < 0.05$). Una mayor ingesta de bebidas azucaradas (por cada 100g/día) se asoció a una menor ingesta de AGT en total (β -27.6) y naturales (β -34.8) ($p < 0.05$).

Tabla 2. Asociación entre características de los padres y de los niños y de la ingesta de ácidos grasos *trans* en total, industriales y naturales.

	AGT en total (mg/día)			AGT industriales (mg/día)			AGT naturales (mg/día)		
	β^a	95% CI	I ² , %	β^a	95% CI	I ² , %	β^a	95% CI	I ² , %
Características de los padres									
Edad maternal, años	-1.6	-11.8; 8.6	81.3 ^c	0.7	-4.4; 5.8	57.8	-2.2	-7.4; 2.9	64.7 ^c
Edad paternal, años	-0.6	-4.2; 3.1	59.6	-0.5	-3.2; 2.3	0.0	-0.3	-6.1; 5.5	81.0 ^c
País de origen no España	45.5	1.3; 89.6	0.0	-13.6	-47.8; 20.5	0.0	65.7	37.4; 94.0	0.0
Nivel educativo de la madre									
Primaria	ref	ref		ref	ref		ref	ref	
Secundaria	-11.0	-48.1; 26.0	25.6	-1.5	-42.9; 40.0	53.0	-17.6	-42.1; 6.9	25.9
Universidad	-8.0	-82.6; 66.6	61.3	15.3	-49.7; 19.2	35.2	13.9	-16.8; 44.6	44.0
Clase social de la madre									
Baja	ref	ref		ref	ref		ref	ref	
Media	11.1	-28.2; 50.3	0.0	0.4	-28.1; 29.6	26.3	5.0	-21.9; 31.9	0.0
Alta	-1.1	-43.0; 40.8	31.2	-20.4	-51.5; 10.7	20.4	16.0	-12.7; 44.7	0.0
Características de los niños									
Nivel de actividad física									
Sedentario	ref	ref		ref	ref		ref	ref	
Activo	-1.0	-28.7; 26.6	0.0	-16.4	-37.0; 4.2	0.0	12.2	-6.5; 30.9	0.0
Ver la televisión, horas/día	16.0	-0.5; 32.6	39.9	18.3	5.9; 30.7	0.0	-2.9	-13.9; 8.1	22.4
Ingesta de frutas y verduras, 100g/día	-85.5	-104.8; -66.1	63.6 ^c	-46.6	-61.9; -31.3	67.7 ^c	-36.9	-44.9; -28.9	40.3
Ingesta de bebidas azucaradas, 100g/día	-27.6	-41.1; -14.0	0.0	8.5	-1.7; 18.7	0.0	-34.8	-43.6; -26.0	0.0

ref = categoría de referencia

^a Los modelos de regresión de cada cohorte fueron combinados con técnicas de metaanálisis. Todos los modelos fueron ajustados por el sexo de los niños, su edad, ingesta energética media diaria, además de todas las variables de la tabla.

^b Se usaron el modelo de metaanálisis de efectos fijos cuando I² era < 50% y el modelo de metaanálisis de efectos aleatorios cuando I² era ≥ 50%.

^c p_{Cochran Q} < 0.05 del test de heterogeneidad

10.7 RESULTADOS DEL SEGUNDO ARTÍCULO

En la tabla 3 se presentan las características de los padres y niños (n = 1744) del estudio INMA según el estado ponderal de los niños. La prevalencia de sobrepeso incluyendo obesidad en los niños fue del 19,9%. La prevalencia de sobrepeso incluyendo obesidad en padres de niños con sobrepeso incluyendo obesidad fue significativamente mayor que en niños con peso normal, con una diferencia mayor para las madres que para los padres. Además, destaca que el porcentaje de niños que ven la televisión más de una hora al día es 8,4 puntos mayor en los niños con sobrepeso incluyendo obesidad que en los niños con peso normal. Asimismo, se observa una mayor ingesta de frutas y verduras, así como una mayor ingesta de calorías en total en los niños con sobrepeso incluyendo obesidad, en comparación con los niños con peso normal.

Tabla 3: Características de los padres y de los niños de 4-5 años del estudio INMA según su estado de peso.

	Normopeso (n=1397)	Sobrepeso incluyendo obesidad (n=347)	p ^a
Nivel educativo maternal (universidad), %	38.1	33.4	0.172
Clase social maternal (baja), %	24.8	21.6	0.134
IMC maternal (≥25), %	22.9	40.1	<0.001
IMC paternal (≥25), %	53.5	68.1	<0.001
País de origen no España, %	10.5	13.0	0.173
Características de los niños			
Sexo (femenino), %	47.6	54.8	0.017
Edad, años, media (DE)	4.41 (0.18)	4.42 (0.21)	0.102
Actividad física (alta), %	15.9	13.3	0.289
Ver la televisión, > 1 hora/día, %	58.4	66.8	0.016
Ingesta de frutas y verduras, g/día, media (DE)	217 (121)	233 (131)	0.029
Ingesta de bebidas azucaradas ^b , g/día, media (DE)	82 (107)	91 (133)	0.223
Ingesta total de calorías/día, media (DE)	1594 (331)	1634 (352)	0.047
Ingesta de AGT en total ^b , g/día, media (DE)	1.31 (0.29)	1.35 (0.29)	0.071
Ingesta de AGT industriales ^b , g/día, media (DE)	0.58 (0.22)	0.60 (0.22)	0.070
Ingesta de AGT naturales ^b , g/día, media (DE)	0.69 (0.20)	0.69 (0.20)	0.467

^a p valores de pruebas de chi al cuadrado para variables categóricas y de análisis de varianza (ANOVA) para variables continuas

^b ingestas absolutas crudas

La Tabla 4 muestra los resultados del análisis de regresión logística que revela la asociación entre los cuartiles de la ingesta de AGT en total, naturales e industrial y el sobrepeso, incluyendo obesidad, en los niños. Al aplicar el modelo basal (modelo 1), se observa una asociación significativa entre la ingesta de AGT industriales y el sobrepeso, incluyendo obesidad, comparando el cuartil más alto con el cuartil más bajo de la ingesta de AGT industriales (OR 1.57, IC 95% 1.13-2.21, p de tendencia 0.012). Tras ajustar por los principales factores de riesgo de sobrepeso infantil (modelo 2), la asociación entre la ingesta de AGT en total y el sobrepeso, incluyendo obesidad, fue similar al comparar el cuartil más alto de la ingesta con el cuartil más bajo (OR 1.44, IC 95%: 1.00-2.08, p de tendencia 0.027). Al aplicar el modelo 2 y, comparando el cuartil más alto con el cuartil más bajo de la ingesta de AGT industriales, se encontró una mayor asociación con el sobrepeso, incluyendo obesidad, (OR 1.63, IC 95% 1.14-2.34, p de tendencia 0.010). Sin embargo, no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los cuartiles de la ingesta de AGT naturales y el sobrepeso, incluyendo obesidad.

Tabla 4: Asociación entre los cuartiles de la ingesta de ácido grasos *trans* en total, industriales, así como naturales y sobrepeso, incluyendo obesidad, en los niños de 4-5 años del estudio INMA.

Cuartiles de la ingesta de AGT	Normopeso (n=1397) vs. sobrepeso incluyendo obesidad (n=347)			Normopeso (n=1397) vs. sobrepeso incluyendo obesidad (n=347)		
	MODELO 1 ^b			MODELO 2 ^c		
	OR ^a	IC 95%	p	OR ^a	IC 95%	p
AGT en total, g/día						
Q1 (<1.11)	1.00	(referencia)		1.00	(referencia)	
Q2 (1.11-1.30)	0.87	0.61; 1.23	0.434	0.88	0.61; 1.27	0.494
Q3 (1.31-1.50)	0.99	0.70; 1.40	0.958	1.08	0.75; 1.55	0.690
Q4 (>1.50)	1.32	0.95; 1.84	0.104	1.44	1.00; 2.08	0.052
p de tendencia			0.070			0.027
AGT industriales, g/día						
Q1 (<0.44)	1.00	(referencia)		1.00	(referencia)	
Q2 (0.44-0.55)	1.03	0.73; 1.46	0.859	1.05	0.73; 1.51	0.787
Q3 (0.56-0.70)	1.00	0.70; 1.42	0.994	1.06	0.74; 1.53	0.740
Q4 (>0.70)	1.57	1.13; 2.21	0.008	1.63	1.14; 2.34	0.008
p de tendencia			0.012			0.010
AGT naturales, g/día						
Q1 (<0.55)	1.00	(referencia)		1.00	(referencia)	
Q2 (0.55-0.68)	1.16	0.83; 1.63	0.391	1.20	0.84; 1.71	0.316
Q3 (0.69-0.81)	1.21	0.87; 1.71	0.260	1.27	0.89; 1.82	0.185
Q4 (>0.81)	0.97	0.68; 1.38	0.862	1.07	0.73; 1.56	0.741
p de tendencia			0.931			0.682

^a las OR se obtuvieron con regresión logística

^b ajustado por sexo, edad, ingesta total de energía y cohorte del estudio

^c ajustado adicionalmente por nivel educativo maternal, clase social maternal, IMC maternal, IMC paternal, país de origen de los padres, actividad física, horas de televisión, ingesta de frutas y verduras e ingesta de bebidas azucaradas

La Figura 9 muestra un análisis de sensibilidad de la asociación entre el cuartil más alto de la ingesta de AGT industriales y el sobrepeso incluyendo la obesidad en comparación con normopeso. No se observaron cambios significativos al incluir a los niños con valores extremos de la ingesta calórica calculada (n=79), al excluir a los niños con bajo peso (n=98), o cuando el modelo 2 se ajustó adicionalmente por las variables pequeño para la edad gestacional según peso, lactancia materna o tabaquismo durante el embarazo, respectivamente. Al excluir a los niños con sobrepeso (n=249) comparando solo los niños con obesidad (n=98) con los niños con peso normal (n=1397), la OR se atenuó ligeramente (1,41 frente a 1,63 para sobrepeso incluyendo obesidad) pero el intervalo de confianza se amplió y la asociación no fue estadísticamente significativa.

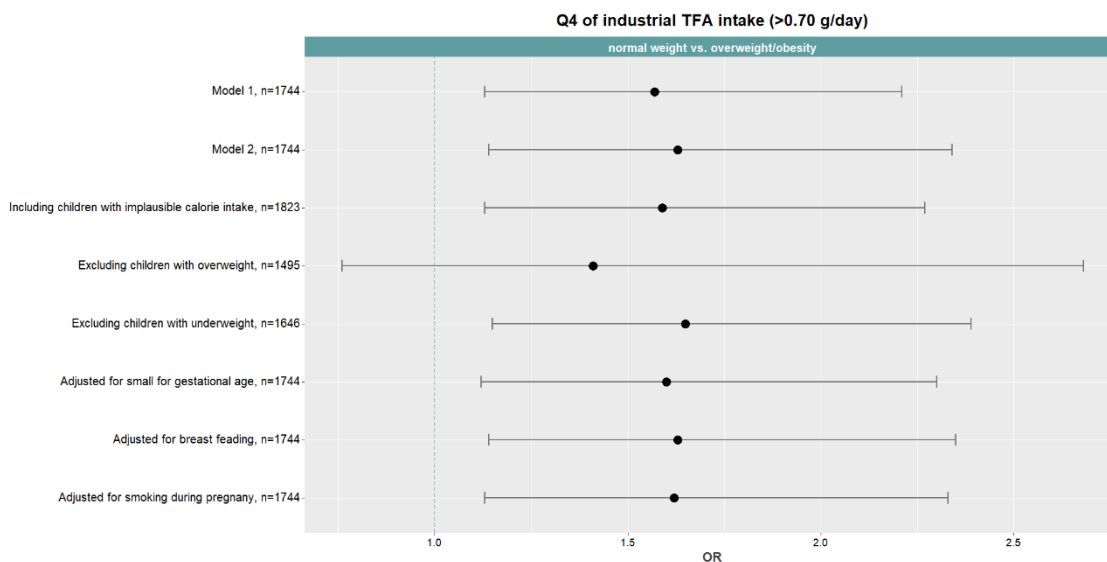


Figura 9: Análisis de sensibilidad de la asociación entre el cuartil más alto de la ingesta de ácido grasos trans industriales y sobrepeso incluyendo obesidad. Todos los modelos mostrados se basan en el Modelo 2, excepto el Modelo 1.

11 DISCUSIÓN

En esta tesis se ha descrito, por primera vez, en niños de edad preescolar la ingesta de AGT, distinguiendo entre AGT industriales y naturales. Además, se ha explorado en esta población la asociación entre la ingesta de los subtipos de AGT y sobrepeso incluyendo obesidad.

En los niños de 4-5 años del estudio INMA la ingesta media de AGT en total fue de 1.36 g/día correspondiendo a 0.77% de la energía ingerida. Ligeramente más del 50% de la ingesta total de AGT fue de origen natural y aproximadamente el 10% de los niños obtuvieron más del 1% de su ingesta energética de AGT, superando así el límite recomendado por la OMS (WHO, 2015). Estos resultados son comparables con un estudio canadiense con 100 niños de 5-6 años (Mulder et al., 2013), aunque dicho estudio sólo reportó la ingesta de AGT en porcentaje de la energía ingerida y no la ingesta de AGT en valores absolutos. El porcentaje medio de la ingesta de energía proporcionada AGT fue del 0.71% en el estudio canadiense siendo por lo tanto similar a los datos presentados (0,77%). También fue comparable el porcentaje de niños que excedió el 1% de la ingesta de energía de AGT (12% vs. 10%).

En el caso de los niños del estudio INMA, el 52% de los AGT ingeridos fueron de origen natural. La ingesta media de AGT industriales reportado en algunos estudios en poblaciones adultas ha sido aproximadamente 2.5 veces más alto que la de AGT naturales (de Souza et al., 2015). No obstante, recientemente se ha observado un descenso de la ingesta de AGT industriales, debido a restricciones legales de su uso y, en una revisión sistemática del año 2017, se concluyó que en la mayoría de los países con datos recientes disponibles la ingesta de AGT naturales es más alta que la ingesta de AGT industriales (Wanders et al., 2017). Por un lado, la ingesta relativamente alta de AGT naturales encontrados de nuestro estudio en los niños preescolares podría reflejar una diferencia en la alimentación entre niños y adultos, debiéndose por tanto a una ingesta relativamente mayor de productos lácteos. Por otro lado, también podría deberse en parte al descenso del contenido de AGT de alimentos observado durante los últimos años.

En cualquier caso, las principales fuentes de la ingesta total de AGT en la población estudiada fueron similares a las del estudio canadiense (Mulder et al., 2013b). Con respecto a la ingesta de AGT industriales se observó que las principales fuentes fueron la comida rápida, el pan blanco, los productos horneados y dulces procesados, siendo estos alimentos

los que contribuyeron a casi el 90% de la ingesta. La importante contribución del pan blanco a la ingesta de AGT industriales es interesante y posiblemente se deba al alto consumo de pan blanco en la población española, pero también subraya la importancia del pan y de los productos de panadería como posibles fuentes de AGT industriales. Adicionalmente, las principales fuentes de AGT industriales descritos confirman que la ingesta de AGT industriales marca una dieta altamente procesada, lo que podría contribuir a los efectos negativos para la salud observados en muchos estudios. Por otra parte, los principales contribuyentes a la ingesta de AGT naturales fueron la leche y los productos lácteos, alimentos muy importantes en la dieta de los niños en edad preescolar.

Tener padres de un país de origen diferente a España se asoció significativamente a una mayor ingesta total de AGT, dato que se basó principalmente en una mayor ingesta de AGT naturales. Los padres que no contaban con la nacionalidad española procedían de diferentes países europeos y fuera de Europa, pudiendo las diferencias observadas deberse a los diferentes hábitos dietéticos de cada país.

Curiosamente, el hecho de ver más horas de televisión por parte de los niños se asoció a una mayor ingesta de AGT industriales, pero no naturales. Este hallazgo puede explicarse por la asociación bien establecida entre ver televisión y el consumo de comida rápida o de una dieta deficiente en general (Matheson et al., 2004; Miller et al., 2008; Utter et al., 2006). Por el contrario, una mayor ingesta de frutas y verduras se asoció a una menor ingesta de AGT en total, industriales y naturales, lo que podría indicar que el consumo de alimentos industriales y naturales que contienen AGT fue reemplazado por frutas y verduras. Esta asociación podría ser similar a la asociación inversa entre la ingesta de frutas y verduras y la ingesta de grasa que fue reportada en varios estudios (Agudo y Pera, 1999; Dennison et al., 1998). En este sentido, se observó una asociación inversa entre la ingesta de bebidas azucaradas y la ingesta total de AGT que se basó en una menor ingesta de AGT naturales, que podría ser secundaria a un reemplazo de la leche por bebidas azucaradas, que fue demostrado previamente en un estudio con niños de 3-7 años (Keller et al., 2009).

En paralelo, en los niños del estudio INMA una mayor ingesta de AGT industriales se asoció de manera significativa a sobrepeso incluyendo obesidad, ya que se observó una clara asociación al comparar el cuartil más alto con el más bajo de la ingesta de AGT industriales. Para la ingesta de AGT en total esta asociación no fue estadísticamente significativa al

ajustar por factores de riesgo importantes. Sin embargo, se observó una tendencia estadísticamente significativa. No se encontró una asociación significativa entre la ingesta de AGT naturales y el sobrepeso.

Estos hallazgos sugieren una asociación no lineal entre la ingesta principalmente de AGT industriales y sobrepeso incluyendo obesidad. La escasa cantidad de literatura publicada sobre la asociación entre la ingesta de AGT y sobrepeso en niños limita la comparación de estos resultados. Existe un estudio prospectivo de Colombia con un total de 668 niños de 5-12 años donde no se encontró una asociación entre concentraciones séricas de AGT y ganancia de peso después de una mediana de seguimiento de 30 meses (Baylin et al., 2015). Sin embargo, aunque fue un estudio prospectivo y se utilizaron biomarcadores, los resultados se basaron en una sola determinación de AGT séricos durante el reclutamiento, lo que refleja solamente la ingesta de AGT a corto plazo. Los autores afirmaron que este hecho podría haber aumentado el error de medición y así podría explicar la ausencia de asociaciones significativas. Además, los resultados de esta tesis son consistentes con los resultados de dos grandes estudios observacionales prospectivos en adultos que han demostrado la asociación entre la ingesta de AGT y el aumento de peso, aunque estos estudios no diferenciaron entre AGT industriales y naturales (Koh-Banerjee et al., 2003; Field et al., 2007). Sin embargo, como previamente se ha comentado, se ha asumido inicialmente que en adultos la ingesta de AGT industriales contribuye a la mayoría de la ingesta de AGT en total (Mozaffarian et al., 2009; Mozaffarian 2016; Bendsen et al., 2011). No obstante, en los últimos años la ingesta de AGT industriales ha disminuido en muchas partes del mundo y actualmente en muchos países la ingesta de AGT naturales es igual o mayor que la ingesta de AGT de origen industrial (Wanders et al., 2017).

En esta tesis, la asociación entre sobrepeso y AGT se basan en la ingesta de AGT industriales y no se observa una asociación significativa para AGT naturales. Este descubrimiento es consistente con hallazgos recientes que sugieren que la ingesta de AGT industriales y naturales podría tener diferentes efectos. Por un lado, la ingesta de AGT industriales se ha asociado a resistencia a la insulina, cardiopatía isquémica, muerte súbita (Mozaffarian, 2016), así como aumento de la adiposidad visceral y peso corporal (Micha y Mozaffarian, 2009) Por el contrario, la ingesta de AGT naturales no se ha asociado a cardiopatía isquémica, lo que inicialmente ha sido explicado por una ingesta relativamente baja de AGT

naturales por adultos (Bendsen et al., 2011). No obstante, estudios recientes han revelado que concentraciones plasmáticas más altas de AGT naturales se asocian a una menor concentración plasmática de triacilglicerol, menor presión arterial y menor riesgo de diabetes tipo 2 (Da Silva et al., 2015). En consonancia con estos resultados, en un estudio de cohorte prospectivo con 267 daneses entre 35 y 65 años, la ingesta de AGT naturales no se asoció a cambios en el peso corporal, circunferencia de la cadera y cintura, o porcentaje de grasa corporal (Hansen et al., 2016). Por lo tanto, los resultados de esta tesis son consistentes con los hallazgos descritos sobre los diferentes efectos metabólicos de los subtipos de AGT en adultos, aunque deben ser confirmados en futuros estudios prospectivos.

11.1 LIMITACIONES

Esta tesis tiene varias limitaciones. En primer lugar, podría haber ocurrido un posible error de medición debido al uso de cuestionarios de frecuencia de alimentos y tablas de composición de alimentos, teniendo en cuenta una disminución del contenido de AGT en los alimentos en los últimos años. Sin embargo, el cuestionario fue validado y se utilizaron tablas de composición de alimentos recientemente publicadas y complementadas con datos de análisis de alimentos españoles para minimizar las posibles discrepancias. Además, se puede suponer que el error de medición sería no diferencial, por lo tanto, no debería haber influido en los efectos observados en los modelos de regresión.

Por otra parte, el análisis transversal de los datos a los 4-5 años no permite hacer inferencia causal, lo que significa que no se puede asumir que la mayor ingesta de AGT provoca una mayor prevalencia de sobrepeso infantil. No obstante, esta asociación es señalada por primera vez en esta población distinguiendo AGT industriales y naturales, lo que permite generar una hipótesis, aunque los resultados deberían ser confirmados en estudios prospectivos.

Asimismo, a pesar de ajustar por múltiples variables en los modelos de regresión, no se puede descartar una potencial confusión residual por otras variables que no se midieron en el estudio. Dado que la ingesta de AGT industriales se asocia a patrones dietéticos poco saludables que podrían contribuir a la asociación observada entre la ingesta de AGT

industriales y sobrepeso incluyendo obesidad, la asociación verdadera entre la ingesta de AGT industriales y sobrepeso y obesidad infantil podría ser menos acentuada a la observada en esta tesis.

Otra limitación es la existencia de diferentes definiciones de obesidad infantil, como por ejemplo la definición propuesta por la OMS (de Onis et al., 2007). Dado que la aplicación de otras definiciones puede llevar a diferentes resultados, es importante considerar las características de las definiciones existentes a la hora de interpretar los resultados de los estudios publicados sobre obesidad infantil. En este sentido, los criterios IOTF de sobrepeso y obesidad infantil utilizados en esta tesis han demostrado ser los más específicos, siendo este hecho una ventaja al explorar factores de riesgo asociados a la obesidad (Valerio et al., 2017; de Onis y Lobstein, 2010).

11.2 FORTALEZAS

A pesar de las limitaciones presentadas en el apartado previo, la presente tesis cuenta con una serie de fortalezas que justifican su importancia.

En primer lugar, la tesis contribuye a una mejor comprensión de la ingesta de AGT en niños en edad preescolar y de su relación con sobrepeso y obesidad. Se describe de manera detallada la ingesta de AGT en esta población, distinguiendo por primera vez AGT industriales de naturales. Esta distinción es especialmente importante porque se está reduciendo en muchos países la ingesta de AGT industriales y cada vez hay más evidencia sobre efectos diferentes de la ingesta de AGT industriales y naturales. Así, los datos de esta tesis pueden contribuir a la actualización de programas para la prevención del desarrollo de sobrepeso y obesidad infantil.

En segundo lugar, los datos y las conclusiones derivadas de esta tesis se basan en un estudio multicéntrico con datos de alta calidad por lo que la información generada es valiosa y podría ser la base de futuras investigaciones de carácter prospectivo.

12 CONCLUSIONES

1. La ingesta de ácidos grasos *trans* en total en niños de 4-5 años de España fue considerable, superando el 10% el límite recomendado por la OMS.
2. Ligeramente menos de la mitad de la ingesta de ácidos grasos *trans* en total se debió a ácidos grasos *trans* de origen industrial (0.60 g/día) y algo más de la mitad de la ingesta de ácidos grasos *trans* se debió a ácidos grasos *trans* de origen natural (0.71 g/día).
3. Los principales aportadores de ácidos grasos *trans* industriales fueron pan blanco (25%), comida rápida (23%), productos horneados procesados (20%) y dulces (19%).
4. Los principales aportadores de ácidos grasos *trans* naturales fueron leche (37%), carne roja y procesada (13%), productos horneados procesados (13%), yogures (12%) y quesos (10%).
5. Tener padres no originarios de España se asoció a una mayor ingesta de ácidos grasos *trans* en total y naturales. Ver más horas de televisión se asoció a una mayor ingesta de ácidos grasos *trans* industriales. Una mayor ingesta de frutas y verduras se asoció inversamente a la ingesta de ácidos grasos *trans* en total, industriales y naturales. Una mayor ingesta de bebidas azucaradas se asoció a una menor ingesta de ácidos grasos *trans* en total y naturales.
6. Una mayor ingesta de ácidos grasos *trans* industriales se asoció a sobrepeso, incluyendo obesidad.
7. No se observó una asociación ente la ingesta de ácidos grasos *trans* naturales y sobrepeso, incluyendo obesidad.

13 IMPLICACIONES EN SALUD PÚBLICA

Esta tesis contribuye a una mejor comprensión de la ingesta de ácidos grasos *trans* en total, tanto industriales como naturales en niños de 4-5 años. Para lograr de manera efectiva una reducción de la ingesta de ácidos grasos *trans*, resulta fundamental conocer suficientemente sus fuentes. Por este motivo la tesis puede contribuir a la reducción de la ingesta de ácidos grasos *trans* en total o de sus subtipos en población infantil. En este sentido, se podrían tener en cuenta los resultados de esta tesis para actualizar consejos y guías de la alimentación de niños en edad preescolar.

Además, los resultados de esta tesis respaldan los hallazgos de varios estudios previos, que han mostrado que los efectos negativos de la ingesta de ácidos grasos *trans* se basan sobre todo en la ingesta de ácidos grasos *trans* industriales. En cualquier caso, el carácter transversal del presente proyecto de investigación no permite establecer causalidad, pero permite ser la base sobre la que se asienten futuras investigaciones prospectivas.

No obstante, los hallazgos de esta tesis, unidos a la evidencia ya publicada sobre los diferentes efectos de ácidos grasos *trans* industriales y naturales, sugieren que se deberían actualizar las recomendaciones alimentarias, incluyendo los de la OMS, estableciendo no sólo un límite de la ingesta de ácidos grasos *trans* en total, sino también fijando un límite específico para la ingesta de ácidos grasos *trans* industriales.

14 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca-Gómez L, Abdeen Z, Hamid Z, Abu-Rmeileh N, Acosta-Cazares B, Acuin C et al. Worldwide Trends in Body-Mass Index, Underweight, Overweight, and Obesity from 1975 to 2016: A Pooled Analysis of 2416 Population-Based Measurement Studies in 128·9 Million Children, Adolescents, and Adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627-2642. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32129-3.
- Agudo A, Pera G. Vegetable and Fruit Consumption Associated with Anthropometric, Dietary and Lifestyle Factors in Spain. EPIC Group of Spain. *European Prospective Investigation into Cancer. Public Health Nutr*. 1999;2(3):263-71. doi: 10.1017/s136898009900035x.
- Al Mamun A, Lawlor D, Cramb S, O'Callaghan M, Williams G, Najman J. Do Childhood Sleeping Problems Predict Obesity in Young Adulthood? Evidence from a Prospective Birth Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2007;166(12):1368-73. doi: 10.1093/aje/kwm224.
- Anderson S, Whitaker R. Prevalence of Obesity among US Preschool Children in Different Racial and Ethnic Groups. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2009;163(4):344-8. doi: 10.1001/archpediatrics.2009.18.
- Ang Y, Bee S, Bee K, Mohd Ismail. Multifactorial Influences of Childhood Obesity. *Curr Obes Rep*. 2013;2:10–22. doi: 10.1007/s13679-012-0042-7.
- Antonogeorgos G, Panagiotakos DB, Papadimitriou A, Priftis KN, Anthracopoulos M, Nicolaidou P. Breakfast Consumption and Meal Frequency Interaction with Childhood Obesity. *Pediatr Obes*. 2012;7(1):65-72. doi: 10.1111/j.2047-6310.2011.00006.x.
- Arenz S, Ruckerl R, Koletzko B, von Kries R. Breast-Feeding and Childhood Obesity--a Systematic Review. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(10):1247-56. doi: 10.1038/sj.ijo.0802758.
- Axen K, Dikeakos A, Sclafani A. High Dietary Fat Promotes Syndrome X in Nonobese Rats. *J Nutr*. 2003;133(7):2244-9. doi: 10.1093/jn/133.7.2244.
- Bauer L, Waldrop J. Trans Fat Intake in Children: Risks and Recommendations. *Pediatr Nurs*. 2009;35(6):346-51.
- Baylin A, Perng W, Mora-Plazas M, Marin C, Villamor E. Serum Trans Fatty Acids Are Not Associated with Weight Gain or Linear Growth in School-Age Children. *J Nutr*. 2015;145(9):2102-8. doi: 10.3945/jn.115.210468.

- Bendsen NT, Chabanova E, Thomsen HS, Larsen TM, Newman JW, Stender S et al. Effect of Trans Fatty Acid Intake on Abdominal and Liver Fat Deposition and Blood Lipids: A Randomized Trial in Overweight Postmenopausal Women. *Nutr Diabetes*. 2011;1(1):e4. doi: 10.1038/nutd.2010.4.
- Bendsen NT, Christensen R, Bartels EM, Astrup A. Consumption of Industrial and Ruminant Trans Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(7):773-83. doi: 10.1038/ejcn.2011.34.
- Bhardwaj S, Passi SJ, Misra A. Overview of Trans Fatty Acids: Biochemistry and Health Effects. *Diabetes Metab Syndr*. 2011;5(3):161-4. doi: 10.1016/j.dsx.2012.03.002.
- Tone B, Engeland A, Tverdal A, Smith G. Body Mass Index in Adolescence in Relation to Cause-Specific Mortality: A Follow-up of 230,000 Norwegian Adolescents. *Am J Epidemiol*. 2008;168(1):30-7. doi: 10.1093/aje/kwn096.
- de Bont J, Díaz Y, Casas M, García-Gil M, Vrijheid M, Duarte-Salles T. Time Trends and Sociodemographic Factors Associated With Overweight and Obesity in Children and Adolescents in Spain. *JAMA Netw Open*. 2020;3(3):e201171. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.1171.
- Börnhorst C, Huybrechts I, Ahrens W, Eiben G, Michels N, Pala V, Molnár D et al. Prevalence and Determinants of Misreporting among European Children in Proxy-Reported 24 h Dietary Recalls. *Br J Nutr*. 2013;109(7):1257-65. doi: 10.1017/S0007114512003194.
- Branca, F, Nikogosian H, Lobstein T. The Challenge of Obesity in the WHO European Region and the Strategies for Response: Summary. World Health Organization. 2007. Recuperado de: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0010/74746/E90711.pdf. Accedido el 20 de mayo de 2020.
- Brouwer IA, Wanders AJ, Katan MB. Effect of Animal and Industrial Trans Fatty Acids on HDL and LDL Cholesterol Levels in Humans - A Quantitative Review. *PLoS One*. 2010;5(3):e9434. doi: 10.1371/journal.pone.0009434.
- Chan G, Chen C. Musculoskeletal Effects of Obesity. *Curr Opin Pediatr*. 2009;21(1):65-70. doi: 10.1097/MOP.0b013e328320a914.
- Chang L, Neu J. Early Factors Leading to Later Obesity: Interactions of the Microbiome, Epigenome, and Nutrition. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2015;45(5):134-42. doi: 10.1016/j.cppeds.2015.03.003.
- Chesi A, Grant SFA. The Genetics of Pediatric Obesity. *Trends Endocrinol Metab*. 2015 Dec;26(12):711-721. doi: 10.1016/j.tem.2015.08.008.

- Chinali M, de Simone G, Roman MJ, Lee ET, Best LG, Howard BV et al. Impact of Obesity on Cardiac Geometry and Function in a Population of Adolescents: The Strong Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(11):2267-73. doi: 10.1016/j.jacc.2006.03.004.
- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000;320(7244):1240-3. doi: 10.1136/bmj.320.7244.1240.
- Crowley D, Khoury PR, Urbina EM, Ippisch HM, Kimball TR. Cardiovascular Impact of the Pediatric Obesity Epidemic: Higher Left Ventricular Mass Is Related to Higher Body Mass Index. *J Pediatr*. 2011;158(5):709-714.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2010.10.016.
- Da Silva M, Julien P, Pérusse L, Vohl MC, Rudkowska I. Natural Rumen-Derived Trans Fatty Acids Are Associated with Metabolic Markers of Cardiac Health. *Lipids*. 2015;50(9):873-82. doi: 10.1007/s11745-015-4055-3.
- de Onis M, Garza C, Onyango AW, Borghi E. Comparison of the WHO Child Growth Standards and the CDC 2000 Growth Charts. *J Nutr*. 2007;137(1):144-8. doi: 10.1093/jn/137.1.144.
- de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO Growth Reference for School-Aged Children and Adolescents. *Bull World Health Organ*. 2007;85(9):660-7. doi: 10.2471/blt.07.043497.
- de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO Growth Reference for School-Aged Children and Adolescents. *Bull World Health Organ*. 2007;85(9):660-7. doi: 10.2471/blt.07.043497.
- de Onis M, Lobstein T. Defining Obesity Risk Status in the General Childhood Population: Which Cut-Offs Should We Use? *Int J Pediatr Obes*. 2010;5(6):458-60. doi: 10.3109/17477161003615583.
- de Onis M, Blössner M, Borghi E. Global Prevalence and Trends of Overweight and Obesity among Preschool Children. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(5):1257-64. doi: 10.3945/ajcn.2010.29786.
- de Souza RJ, Mente A, Maroleanu A, Cozma AI, Ha V, Kishibe T et al. Intake of Saturated and Trans Unsaturated Fatty Acids and Risk of All Cause Mortality, Cardiovascular Disease, and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *BMJ*. 2015;351:h3978. doi: 10.1136/bmj.h3978.
- DeBoer MD, Scharf RJ, Demmer RT. Sugar-Sweetened Beverages and Weight Gain in 2- to 5-Year-Old Children. *Pediatrics*. 2013;132(3):413-20. doi: 10.1542/peds.2013-0570.
- Dennison BA, Rockwell HL, Baker SL. Fruit and Vegetable Intake in Young Children. *J Am Coll Nutr*. 1998;17(4):371-8. doi: 10.1080/07315724.1998.10718778.

- Eagle TF, Sheetz A, Gurm R, Woodward AC, Kline-Rogers E, Leibowitz R et al. Understanding Childhood Obesity in America: Linkages between Household Income, Community Resources, and Children's Behaviors. *Am Heart J.* 2012;163(5):836-43. doi: 10.1016/j.ahj.2012.02.025.
- Feldstein AE, Charatcharoenwitthaya P, Treeprasertsuk S, Benson JT, Enders FB, Angulo P. The Natural History of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children: A Follow-up Study for up to 20 Years. *Gut.* 2009;58(11):1538-44. doi: 10.1136/gut.2008.171280.
- Fernández-San Juan PM. Trans Fatty Acids (TFA): Sources and Intake Levels, Biological Effects and Content in Commercial Spanish Food. *Nutr Hosp.* 2009;24(5):515-20.
- Field AE, Willett WC, Lissner L, Colditz GA. Dietary Fat and Weight Gain among Women in the Nurses' Health Study. *Obesity.* 2007;15(4):967-76. doi: 10.1038/oby.2007.616.
- Freedman DS, Sherry B. The Validity of BMI as an Indicator of Body Fatness and Risk among Children. *Pediatrics.* 2009;124 Suppl 1:S23-34. doi: 10.1542/peds.2008-3586E.
- Friedemann C, Heneghan C, Mahtani K, Thompson M, Perera R, Ward AM. Cardiovascular Disease Risk in Healthy Children and Its Association with Body Mass Index: Systematic Review and Meta-Analysis. *BMJ.* 2012;345:e4759. doi: 10.1136/bmj.e4759.
- Fulkerson JA, Neumark-Sztainer D, Hannan PJ, Story M. Family Meal Frequency and Weight Status among Adolescents: Cross-Sectional and 5-Year Longitudinal Associations. *Obesity.* 2008;16(11):2529-34. doi: 10.1038/oby.2008.388. Epub 2008 Aug 14.
- Furlong KR, Anderson LN, Kang H, Lebovic G, Parkin PC, Maguire JL, O'Connor DL et al. BMI-for-Age and Weight-for-Length in Children 0 to 2 Years. *Pediatrics.* 2016;138(1):e20153809. doi: 10.1542/peds.2015-3809.
- Garrido-Miguel M, Cavero-Redondo I, Álvarez-Bueno C, Rodríguez-Artalejo F, Moreno LA, Ruiz JA et al. Prevalence and Trends of Overweight and Obesity in European Children From 1999 to 2016: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Pediatr.* 2019;173(10):e192430. doi: 10.1001/jamapediatrics.2019.2430.
- Garrido-Miguel M, Oliveira A, Cavero-Redondo I, Álvarez-Bueno C, Pozuelo-Carrascosa DP, Soriano-Cano A et al. Prevalence of Overweight and Obesity among European Preschool Children: A Systematic Review and Meta-Regression by Food Group Consumption. *Nutrients.* 2019;11(7):1698. doi: 10.3390/nu11071698.
- Goldberg GR, Black AE, Jebb SA, Cole TJ, Murgatroyd PR, Coward WA, Prentice AM. Critical Evaluation of Energy Intake Data Using Fundamental Principles of Energy Physiology: 1. Derivation of Cut-off Limits to Identify under-recording. *Eur J Clin Nutr.* 1991 Dec;45(12):569-81.

- Gonzalez-Palacios S, Navarrete-Muñoz EM, García-de-la-Hera M, Torres-Collado L, Santa-Marina L, Amiano P et al. Sugar-Containing Beverages Consumption and Obesity in Children Aged 4-5 Years in Spain: The INMA Study. *Nutrients*. 2019;11(8):1772. doi: 10.3390/nu11081772.
- Griffiths LJ, Parsons TJ, Hill AJ. Self-Esteem and Quality of Life in Obese Children and Adolescents: A Systematic Review. *Int J Pediatr Obes*. 2010;5(4):282-304. doi: 10.3109/17477160903473697.
- Guxens M, Ballester F, Espada M, Fernández MF, Grimalt JO, Ibarluzea J et al. Cohort Profile: The INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project». *Int J Epidemiol*. 2012;41(4):930-40. doi: 10.1093/ije/dyr054.
- Hamed SA. Antiepileptic Drugs Influences on Body Weight in People with Epilepsy *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2015;8(1):103-14. doi: 10.1586/17512433.2015.991716.
- Han JC, Lawlor DA, Kimm S. Childhood Obesity. *Lancet*. 2010;375(9727):1737-48. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60171-7.
- Hansen CP, Heitmann BL, Sørensen T, Overvad K, Jakobsen MU. Intake of Ruminant Trans-Fatty Acids, Assessed by Diet History Interview, and Changes in Measured Body Size, Shape and Composition. *Public Health Nutr*. 2016;19(3):494-502. doi: 10.1017/S1368980015001858.
- Heelan KA, Barte RT, Nihiser A, Sherry B. Healthier School Environment Leads to Decreases in Childhood Obesity: The Kearney Nebraska Story. *Child Obes*. 2015;11(5):600-7. doi: 10.1089/chi.2015.0005.
- Hull HR, Thornton JC, Ji Y, Paley C, Rosenn B, Mathews P, Navder K, Yu A, Dorsey K, Gallagher D. Higher Infant Body Fat with Excessive Gestational Weight Gain in Overweight Women. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;205(3):211.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2011.04.004.
- Innis SM. Trans Fatty Intakes during Pregnancy, Infancy and Early Childhood. *Atheroscler Suppl*. 2006;7(2):17-20. doi: 10.1016/j.atherosclerosissup.2006.04.005.
- Javed A, Jumean M, Murad MH, Okorodudu D, Kumar S, Somers VK, Sochor O, Lopez-Jimenez F. Diagnostic Performance of Body Mass Index to Identify Obesity as Defined by Body Adiposity in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pediatr Obes*. 2015;10(3):234-44. doi: 10.1111/ijpo.242.
- Jiang F, Zhu S, Yan C, Jin X, Bandla H, Shen X. Sleep and Obesity in Preschool Children. *J Pediatr*. 2009;154(6):814-8. doi: 10.1016/j.jpeds.2008.12.043.
- Jiménez-Pavón D, Kelly J, Reilly JJ. Associations between Objectively Measured Habitual Physical Activity and Adiposity in Children and Adolescents: Systematic Review. *Int J Pediatr Obes*. 2010;5(1):3-18. doi: 10.3109/17477160903067601.

- Kalra M, Inge T. Effect of Bariatric Surgery on Obstructive Sleep Apnoea in Adolescents. *Paediatr Respir Rev.* 2006;7(4):260-7. doi: 10.1016/j.prrv.2006.08.004.
- Kavanagh K, Jones KL, Sawyer J, Kelley K, Carr JJ, Wagner JD et al. Trans Fat Diet Induces Abdominal Obesity and Changes in Insulin Sensitivity in Monkeys. *Obesity.* 2007;15(7):1675-84. doi: 10.1038/oby.2007.200.
- Keller KL, Kirzner J, Pietrobelli A, St-Onge MP, Faith MS. Increased Sweetened Beverage Intake Is Associated with Reduced Milk and Calcium Intake in 3- to 7-Year-Old Children at Multi-Item Laboratory Lunches. *J Am Diet Assoc.* 2009;109(3):497-501. doi: 10.1016/j.jada.2008.11.030.
- Koh-Banerjee P, Chu NF, Spiegelman D, Rosner B, Colditz G, Willett W et al. Prospective Study of the Association of Changes in Dietary Intake, Physical Activity, Alcohol Consumption, and Smoking with 9-y Gain in Waist Circumference among 16 587 US Men. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(4):719-27. doi: 10.1093/ajcn/78.4.719.
- Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Guo SS, Wei R et al. CDC Growth Charts: United States. *Adv Data.* 2000;(314):1-27.
- Kuhnt K, Baehr M, Rohrer C, Jahreis G. Trans Fatty Acid Isomers and the Trans-9/Trans-11 Index in Fat Containing Foods. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2011;113(10):1281-1292. doi: 10.1002/ejlt.201100037.
- Kumar S, Kelly AS. Review of Childhood Obesity: From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(2):251-265. doi: 10.1016/j.mayocp.2016.09.017.
- Lakshman R, Elks CE, Ong KK. Childhood Obesity. *Circulation.* 2012;126(14):1770-9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.047738.
- Larqué E, Garaulet M, Pérez-Llamas F, Zamora S, Tebar FJ. Fatty acid composition and nutritional relevance of most widely consumed margarines in Spain. *Grasas y Aceites.* 2003;54(1). doi: 10.3989/gya.2003.v54.i1.279.
- Lavine JE, Schwimmer JB. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the Pediatric Population. *Clin Liver Dis.* 2004;8(3):549-58. doi: 10.1016/j.cld.2004.04.010.
- Leth T, Ovesen L, Hansen K. Fatty Acid Composition of Meat from Ruminants, with Special Emphasis on Trans Fatty Acids. *J Am Oil Chem Soc.* 1998;75(8):1001-5. doi: 10.1007/s11746-998-0278-2.
- Lobstein T, Frelut ML. Prevalence of Overweight among Children in Europe. *Obes Rev.* 2003;4(4):195-200. doi: 10.1046/j.1467-789x.2003.00116.x.
- Lobstein T, Jackson-Leach R, Moodie ML, Hall KD, Gortmaker SL, Swinburn BA et al. Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. *Lancet.* 2015;385(9986):2510-20. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61746-3.

- López-Sánchez GF, Sgroi M, D'Ottavio S, Díaz-Suárez A, González-Víllora S, Veronese N et al. Body Composition in Children and Adolescents Residing in Southern Europe: Prevalence of Overweight and Obesity According to Different International References. *Front Physiol.* 2019;10:130. doi: 10.3389/fphys.2019.00130.
- Ludwig DS, Currie J. The Association between Pregnancy Weight Gain and Birthweight: A within-Family Comparison. *Lancet.* 2010;376(9745):984-90. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60751-9.
- Malik VS, Pan A, Willett WC, Hu FB. Sugar-Sweetened Beverages and Weight Gain in Children and Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(4):1084-102. doi: 10.3945/ajcn.113.058362.
- Mancino L, Todd JE, Guthrie J, Lin BH. Food Away from Home and Childhood Obesity. *Curr Obes Rep.* 2014;3(4):459-69. doi: 10.1007/s13679-014-0121-z.
- Marshall SJ, Biddle SJH, Gorely T, Cameron N, Murdey I. Relationships between Media Use, Body Fatness and Physical Activity in Children and Youth: A Meta-Analysis. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28(10):1238-46. doi: 10.1038/sj.ijo.0802706.
- Matheson DM, Killen JD, Wang Y, Varady A, Robinson TN. Children's Food Consumption during Television Viewing. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(6):1088-94. doi: 10.1093/ajcn/79.6.1088.
- Mayneris-Perxachs J, Bondia-Pons I, Moltó-Puigmartí C, Pairó M, Castellote AI, López-Sabater MC. Diet and Plasma Evaluation of the Main Isomers of Conjugated Linoleic Acid and Trans-Fatty Acids in a Population Sample from Mediterranean North-East Spain. *Food Chem.* 123(2):296-305. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.04.035.
- McMillen IC, Rattanatray L, Duffield JA, Morrison JL, MacLaughlin SM, Gentili S, Muhlhausler BS. The Early Origins of Later Obesity: Pathways and Mechanisms. *Adv Exp Med Biol.* 2009;646:71-81. doi: 10.1007/978-1-4020-9173-5_8.
- Micha R, Mozaffarian D. Trans Fatty Acids: Effects on Metabolic Syndrome, Heart Disease and Diabetes. *Nat Rev Endocrinol.* 2009;5(6):335-44. doi: 10.1038/nrendo.2009.79.
- Miller SA, Taveras EM, Rifas-Shiman SL, Gillman MW. Association between Television Viewing and Poor Diet Quality in Young Children. *Int J Pediatr Obes.* 2008;3(3):168-76. doi: 10.1080/17477160801915935.
- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Encuesta Nacional de Salud de España 2017. Recuperado de: <https://www.mscbs.gob.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2017.htm>. Accedido el 20 de mayo de 2020.
- Molnár D. The Prevalence of the Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus in Children and Adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28 Suppl 3:S70-4. doi: 10.1038/sj.ijo.0802811.

- Monasta L, Lobstein T, Cole TJ, Vignerová J, Cattaneo A. Defining Overweight and Obesity in Pre-School Children: IOTF Reference or WHO Standard? *Obes Rev.* 2011;12(4):295-300. doi: 10.1111/j.1467-789X.2010.00748.x.
- Mozaffarian D, Aro A, Willett WC. Health Effects of Trans-Fatty Acids: Experimental and Observational Evidence. *Eur J Clin Nutr.* 2009;63 Suppl 2:S5-21. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602973.
- Mozaffarian D. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. *Circulation.* 2016;133(2):187-225. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018585.
- Mozaffarian D. Natural Trans Fat, Dairy Fat, Partially Hydrogenated Oils, and Cardiometabolic Health: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *Eur Heart J.* 2016;37(13):1079-81. doi: 10.1093/eurheartj/ehv595.
- Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett W. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2006;354(15):1601-13. doi: 10.1056/NEJMra054035.
- Mulder KA, Ferdinands AR, Richardson KJ, Innis SM. Sources of Trans and Saturated Fatty Acids in the Diets of Vancouver Children. *Can J Diet Pract Res.* 2013;74(1):7-13. doi: 10.3148/74.1.2013.7.
- Naude CE, Visser ME, Nguyen KA, Durao S, Schoonees A. Effects of Total Fat Intake on Bodyweight in Children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;7(7):CD012960. doi: 10.1002/14651858.CD012960.pub2.
- Neovius MG, Linné YM, Barkeling BS, Rossner SO. Sensitivity and Specificity of Classification Systems for Fatness in Adolescents. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(3):597-603. doi: 10.1093/ajcn/80.3.597.
- Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C et al. Global, Regional, and National Prevalence of Overweight and Obesity in Children and Adults during 1980-2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014;384(9945):766-81. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60460-8.
- Nishida C, Uauy R. WHO Scientific Update on Health Consequences of Trans Fatty Acids: Introduction». *Eur J Clin Nutr.* 2009;63 Suppl 2:S1-4. doi: 10.1038/ejcn.2009.13.
- Ogden CL, Carroll MD, Lawman HG, Fryar CD, Kruszon-Moran D, Kit BK et al. Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014. *JAMA.* 2016;315(21):2292-9. doi: 10.1001/jama.2016.6361.
- Ogden CL, Fryar CD, Hales CM, Carroll MD, Aoki Y, Freedman DS. Differences in Obesity Prevalence by Demographics and Urbanization in US Children and Adolescents, 2013-2016. *JAMA.* 2018;19;319(23):2410-2418. doi: 10.1001/jama.2018.5158.

- Oken E, Gillman MW. Fetal Origins of Obesity. *Obes Res.* 2003;11(4):496-506. doi: 10.1038/oby.2003.69.
- Ortiz-Andrellucchi A, Henríquez-Sánchez P, Sánchez-Villegas A, Peña-Quintana L, Mendez M, Serra-Majem L. Dietary Assessment Methods for Micronutrient Intake in Infants, Children and Adolescents: A Systematic Review. *Br J Nutr.* 2009;102 Suppl 1:S87-117. doi: 10.1017/S0007114509993163.
- Papoutsakis C, Priftis KN, Drakouli M, Prifti S, Konstantaki E, Chondronikola M et al. Childhood Overweight/Obesity and Asthma: Is There a Link? A Systematic Review of Recent Epidemiologic Evidence. *J Acad Nutr Diet.* 2013;113(1):77-105. doi: 10.1016/j.jand.2012.08.025.
- Pate RR, O'Neill JR, Liese AD, Janz KF, Granberg EM, Colabianchi N et al. Factors Associated with Development of Excessive Fatness in Children and Adolescents: A Review of Prospective Studies. *Obes Rev.* 2013;14(8):645-58. doi: 10.1111/obr.12035.
- Pérez-Escamilla R, Obbagy JE, Altman JM, Essery EV, McGrane MM, Wong YP et al. Dietary Energy Density and Body Weight in Adults and Children: A Systematic Review. *J Acad Nutr Diet.* 2012;112(5):671-84. doi: 10.1016/j.jand.2012.01.020.
- Pomerantz WJ, Timm NL, Gittelman MA. Injury Patterns in Obese versus Nonobese Children Presenting to a Pediatric Emergency Department. *Pediatrics.* 2010;125(4):681-5. doi: 10.1542/peds.2009-2367.
- Reekie J, Hosking SPM, Prakash C, Kao KT, Juonala M, Sabin MA. The Effect of Antidepressants and Antipsychotics on Weight Gain in Children and Adolescents. *Obes Rev.* 2015;16(7):566-80. doi: 10.1111/obr.12284.
- Schack-Nielsen L, Michaelsen KF, Gamborg M, Mortensen EL, Sørensen TIA. Gestational Weight Gain in Relation to Offspring Body Mass Index and Obesity from Infancy through Adulthood. *Int J Obes.* 2010;34(1):67-74. doi: 10.1038/ijo.2009.206.
- Sekine M, Yamagami T, Handa K, Saito T, Nanri S, Kawaminami K et al. A Dose-Response Relationship between Short Sleeping Hours and Childhood Obesity: Results of the Toyama Birth Cohort Study. *Child Care Health Dev.* 2002;28(2):163-70. doi: 10.1046/j.1365-2214.2002.00260.x.
- Skinner AC, Perrin EM, Moss LA, Skelton JA. Cardiometabolic Risks and Severity of Obesity in Children and Young Adults. *N Engl J Med.* 2015;373(14):1307-17. doi: 10.1056/NEJMoa1502821.
- Sorof J, Daniels S. Obesity Hypertension in Children: A Problem of Epidemic Proportions. *Hypertension.* 2002;40(4):441-7. doi: 10.1161/01.hyp.0000032940.33466.12.
- Spilsbury JC, Storfer-Isser A, Rosen CL, Redline S. Remission and Incidence of Obstructive Sleep Apnea from Middle Childhood to Late Adolescence. *Sleep.* 2015;38(1):23-9. doi: 10.5665/sleep.4318.

- Taylor RW, Jones IE, Williams SM, Goulding A. Evaluation of Waist Circumference, Waist-to-Hip Ratio, and the Conicity Index as Screening Tools for High Trunk Fat Mass, as Measured by Dual-Energy X-Ray Absorptiometry, in Children Aged 3–19 y. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(2):490-5. doi: 10.1093/ajcn/72.2.490.
- Te Morenga L, Montez JM. Health Effects of Saturated and Trans-Fatty Acid Intake in Children and Adolescents: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2017;12(11):e0186672. doi: 10.1371/journal.pone.0186672.
- Thompson AK, Minhane AM, Williams CM. Trans Fatty Acids and Weight Gain. *Int J Obes*. 2011;35(3):315-24. doi: 10.1038/ijo.2010.141.
- U.S. Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. 2015. Recuperado de: https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400535/DATA/sr27/sr27_doc.pdf Accedido el 20 de mayo de 2020.
- Utter J, Scragg R, Schaaf D. Associations between Television Viewing and Consumption of Commonly Advertised Foods among New Zealand Children and Young Adolescents. *Public Health Nutr*. 2006;9(5):606-12. doi: 10.1079/phn2005899.
- Valera G, Moreiras O, Carbajal A, Campo M. Estudio nacional de nutrición y alimentación 1991 (ENNA 3). Tomo I. Instituto Nacional de Estadística. 1995. Recuperado de: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-09-15-Moreiras-col-1995-ENNA-1-2-3.pdf>. Accedido el 20 de mayo de 2020.
- Valerio G, Balsamo A, Baroni MG, Brufani C, Forziato C, Grugni G et al. Childhood obesity classification systems and cardiometabolic risk factors: a comparison of the Italian, World Health Organization and International Obesity Task Force references. *Ital J Pediatr*. 2017;43(1):19. doi: 10.1186/s13052-017-0338-z.
- Vicario IM, Griguol V, León-Camacho M. Multivariate Characterization of the Fatty Acid Profile of Spanish Cookies and Bakery Products. *J Agric Food Chem*. 2003;51(1):134-9. doi: 10.1021/jf0258297.
- Vioque J, Gimenez-Monzo D, Navarrete-Muñoz EM, Garcia-de-la-Hera M, Gonzalez-Palacios S, Rebagliato M et al. Reproducibility and Validity of a Food Frequency Questionnaire Designed to Assess Diet in Children Aged 4-5 Years. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167338. doi: 10.1371/journal.pone.0167338.
- Vioque J, Navarrete-Muñoz EM, Gimenez-Monzó D, García-de-la-Hera M, Granado F, Young IS et al. Reproducibility and Validity of a Food Frequency Questionnaire among Pregnant Women in a Mediterranean Area. *Nutr J*. 2013;12:26. doi: 10.1186/1475-2891-12-26.
- Wallace SK, Mozaffarian D. Trans-Fatty Acids and Nonlipid Risk Factors. *Curr Atheroscler Rep*. 2009;11(6):423-33. doi: 10.1007/s11883-009-0064-0.

- Wanders AJ, Zock PL, Brouwer IA. Trans Fat Intake and Its Dietary Sources in General Populations Worldwide: A Systematic Review. *Nutrients*. 2017;9(8):840. doi: 10.3390/nu9080840.
- Wang Y, Lobstein T. Worldwide Trends in Childhood Overweight and Obesity. *Int J Pediatr Obes*. 2006;1(1):11-25. doi: 10.1080/17477160600586747.
- Welker E, Lott M, Story M. The School Food Environment and Obesity Prevention: Progress Over the Last Decade. *Curr Obes Rep*. 2016;5(2):145-55. doi: 10.1007/s13679-016-0204-0.
- Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting Obesity in Young Adulthood from Childhood and Parental Obesity. *N Engl J Med*. 1997;337(13):869-73. doi: 10.1056/NEJM199709253371301.
- WHO. Fats and fatty acids in human nutrition. 2015. Recuperado de: http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/fatsandfattyacids_humannutrition/en/. Accedido el 20 de mayo de 2020.
- WHO. Prevalence of overweight among children and adolescents - Estimates by country, among children aged 5-19 years. 2016. Recuperado de: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.BMIPLUS1C?lang=en>. Accedido el 20 de mayo de 2020.
- Willett W. *Nutritional Epidemiology*. 2013. Oxford University Press.

15 ANEXOS

15.1 PUBLICACIÓN 1

Dado que la primera publicación se ha publicado en una revista con acceso abierto se presenta a continuación la copia del artículo original.



Article

Dietary Intake of *Trans* Fatty Acids in Children Aged 4–5 in Spain: The INMA Cohort Study

Alexander Scholz ¹, Daniel Gimenez-Monzo ¹, Eva Maria Navarrete-Muñoz ^{1,2}, Manuela Garcia-de-la-Hera ^{1,2}, Ana Fernandez-Somoano ^{2,3}, Adonina Tardon ^{2,3}, Loreto Santa Marina ^{2,4,5}, Amaia Irazabal ⁴, Dora Romaguera ^{6,7}, Mònica Guxens ^{2,8,9,10}, Jordi Julvez ^{2,8}, Sabrina Llop ^{2,11}, Maria-Jose Lopez-Espinosa ^{2,11} and Jesus Vioque ^{1,2,*}

¹ Unit of Nutritional Epidemiology, Universidad Miguel Hernandez, Alicante 03550, Spain; scholz.alexander@gmail.com (A.S.); dgimenez@umh.es (D.G.-M.); enavarrete@umh.es (E.M.N.-M.); manoli@umh.es (M.G.-d.-l.-H.)

² CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid 28029, Spain; capua.uo@uniovi.es (A.F.-S.); atardon@uniovi.es (A.T.); ambien4ss-san@euskadi.eus (L.S.M.); mguxens@isglobal.org (M.G.); jjulvez@isglobal.org (J.J.); llop_sab@gva.es (S.L.); lopez_josp@gva.es (M.-J.L.-E.)

³ Department of Medicine, University of Oviedo, Oviedo 33006, Spain

⁴ BIODONOSTIA, Instituto de Investigación Biosanitaria, San Sebastián 20014, Spain; amaia-irazabal@hotmail.es

⁵ Subdirección Salud Publica Gipuzkoa, San Sebastián 20013, Spain

⁶ Instituto de Investigación Sanitaria de Palma (IdISPa), Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca 07120, Spain; d.romaguera-bosch@imperial.ac.uk

⁷ CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Madrid 28029, Spain

⁸ ISGlobal, Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Barcelona 08036, Spain

⁹ Pompeu Fabra University, Barcelona 08003, Spain

¹⁰ Department of Child and Adolescent Psychiatry/Psychology, Erasmus University Medical Centre-Sophia Children's Hospital, Rotterdam 3000CD, The Netherlands

¹¹ Epidemiology and Environmental Health Joint Research Unit, FISABIO-Universitat Jaume I-Universitat de València, Valencia 46020, Spain

* Correspondence: vioque@umh.es; Tel.: +34-96-591-9517

Received: 12 July 2016; Accepted: 29 September 2016; Published: 10 October 2016

Abstract: *Trans* fatty acid (TFA) intake has been identified as a health hazard in adults, but data on preschool children are scarce. We analyzed the data from the Spanish INMA Project to determine the intake of total, industrial and natural TFA, their main sources and the associated socio-demographic and lifestyle factors in children aged 4–5 ($n = 1793$). TFA intake was estimated using a validated Food Frequency Questionnaire, and multiple linear regression was used to explore associated factors. The mean daily intakes of total, industrial and natural TFA were 1.36, 0.60, and 0.71 g/day, respectively. Ten percent of the children obtained >1% of their energy intake from TFA. The main sources of industrial TFA were fast food, white bread and processed baked goods. Milk, red and processed meat and processed baked goods were the main sources of natural TFA. Having parents from countries other than Spain was significantly associated with higher natural TFA (in mg/day) intake (β 45.5) and television viewing was significantly associated with higher industrial TFA intake (β 18.3). Higher fruits and vegetables intake was significantly associated with lower intakes of all TFAs, whereas higher sweetened beverages intake was significantly associated with lower total and natural TFA intake. Thus, total and industrial TFA intake was associated with less healthy food patterns and lifestyles in Spanish preschool children.

Keywords: *trans* fatty acids; dietary fats; risk factors; preschool child

1. Introduction

Trans fatty acids (TFA) are geometrical isomers of unsaturated fatty acids and have at least one non-conjugated carbon-carbon double bond in the *trans* configuration [1]. Dietary TFA can be of natural (ruminant) or artificial origin. The artificial TFA are industrially produced by partial hydrogenation of unsaturated vegetable oils [2]. This process occurs when vegetable oils are heated and it is industrially used to harden vegetable oils into margarine and shortening. It also occurs during deep fat frying. The advantages of the industrial use of hardened vegetable oils include low costs and longer shelf lives. The main sources of industrial TFA are margarines, commercially baked products, deep-fried fast foods, packaged snack foods and other prepared foods [3]. On the other hand, natural TFA are ingested by the consumption of meat or dairy products from ruminant animals where small amounts of TFA are produced by microorganisms present in the rumen [2].

In adults, high TFA intake has been associated with an increased cardiovascular risk, mainly due to low density lipoprotein cholesterol increase, high-density lipoprotein cholesterol decrease, pro-inflammatory effects and the promotion of endothelial dysfunction [3,4]. Furthermore, high TFA intake may worsen insulin sensitivity [3,4]. However, the evidence for the relation between TFA intake and diabetes is not consistent [3]. Additionally, high TFA has been identified as a risk factor for weight gain or higher weight [4,5]. A recently published meta-analysis has confirmed that TFA intake is associated with all-cause mortality and coronary heart disease mortality [6]. The negative health effects of TFA have been attributed mainly to TFA in general or TFA of industrial origin and some studies have suggested that natural TFA might have beneficial properties [7]. Nevertheless, the role of the different TFA subtypes is not fully clear and further research is needed in order to understand whether the negative effects of TFA consumption depends on their industrial or natural origin, or both [8]. Because of the demonstrated health hazards, many countries have established legal limits regarding the content of TFA in foods and the World Health Organization recommends a consumption of less than 1% of energy from TFA [9].

A recent Canadian study of children aged 5–6 reported that the mean total TFA intake was 0.71 energy % and that 12% of the participants consumed >1% of the energy from TFA [10]; the authors concluded that more efforts should be undertaken to enable the selection of foods which are lower in TFA in order to further reduce the TFA intake in children. However, the published information about the sources and amounts of TFA intake for preschool children is scarce and, to our knowledge, no study has distinguished yet between industrial and natural TFA intake in this population [11,12].

Therefore, the objective of this study was to estimate the intake and major sources of total, industrial, and natural TFA as well as to identify the factors associated with a high TFA intake for children aged 4–5 from a Spanish multicenter prospective mother-child cohort study, the INMA-Project [13].

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Participants

The INMA project (*Infancia y Medio Ambiente*, Spanish for “Childhood and Environment”) is a Spanish multicenter prospective mother-child cohort study which consists of a network of birth cohorts with a common study protocol in the regions of Asturias, Guipuzcoa, Sabadell and Valencia. It aims to study the effect of diet and environmental factors during pregnancy and early childhood on child growth, development and health. The detailed study protocol was published elsewhere [13]. Briefly, between November 2003 and August 2008 pregnant women were recruited and 2644 women agreed to participate. Finally, 2506 mothers and their newborns met the inclusion criteria and were included in the study. Of these children 1829 (73.0%) were evaluated at the age of 4–5 years between 2009 and 2012. For the present analysis, we excluded the participants with missing data for the variables of interest. Finally, 1793 children (98.0%) were included (387 from Asturias, 395 from Guipuzcoa, 429 from Sabadell and 582 from Valencia) and the data at the age of 4–5 was cross-sectionally analyzed. The study was approved by the Ethical Committee of the Municipal Institute of Medical Investigation (DSP-JV 001-11)

and by the Ethical Committees of the centers involved in the study (Hospital La Fe, Valencia; Hospital de Zumarraga, Guipuzcoa; Hospital de Sabadell, Sabadell; Hospital Universitario Central de Oviedo, Asturias, Spain). The pregnant women were informed about the study and informed consent was obtained at each of the visits.

2.2. Dietary Assessment

We used a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) of 105 food items to assess the usual diet (available at: <http://bibliodieta.umh.es/files/2011/07/CFA105.pdf>). The FFQ was derived from an adult version of the FFQ previously validated among the mothers of the INMA Study [14]. The FFQ was modified to include foods and portion sizes appropriate to children aged 4–5 and further validated with three 24-h recalls and several biomarkers in a sample of 169 children aged 4–5 from the Valencia cohort [15]. To address the reproducibility and validity against the 24-h recalls Pearson's correlations adjusted for energy intakes were performed and the correlation coefficients were 0.44 and 0.23, respectively; in both cases statistically significant [15]. The range of the reproducibility and validity coefficients of the FFQ was similar to those observed for other FFQs in the literature [16].

Parents were asked to report how often, on average, their children had consumed the specified serving or portion size for each food item of the FFQ in the previous year. The questionnaire had nine possible responses, ranging from “never or less than once per month” to “six or more per day”.

Nutrient values were primarily obtained from food composition tables from the US Department of Agriculture [17], other published sources reporting information on TFA content in Spanish foods and other sources with detailed information for total, industrial and natural TFA in foods [18–22]. We calculated the usual daily nutrient intakes for each child by multiplying the frequency of the use of each food item by the nutrient content of the portion size specified in the FFQ. Then we added all foods to obtain the total nutrient intake for each participant. The usual daily intake of TFA was expressed in g/day and for the linear regression analysis it was converted into mg/day. Furthermore, we estimated the energy intake in kcal/day for each participant. We used the residual method to estimate calorie-adjusted values for the nutrient intakes [23]. The fruit and vegetable intake as well as the sweetened beverage intake were estimated and expressed in 100 g/day.

To estimate the main food sources of total, industrial and natural TFA intakes, we grouped the consumed foods as follows: White bread, fast food (French fries, pizza, pies, chips and other salty snacks), processed baked goods (including cakes and cupcakes, Maria biscuits, chocolate cookies, buns, croissants and donuts), sweets (including chocolates, hazelnut spread and instant chocolate drinks), ice cream, margarine, red and processed meat (including beef, pork, lamb, sausages and hamburger meat), milks (including whole milk, fat reduced milk, energy milk and milkshakes), yoghurts (including natural, sugared or with fruits and cheese yoghurts), cheese (hard cheese and cream cheese), butter and others. The contributions of each food or food group to the total, industrial and natural TFA intake were added and the results were presented graphically.

2.3. Covariates

The following parental information was collected at baseline in pregnancy: Maternal age (years), paternal age (years), country of origin (both parents from Spain, otherwise), mother's educational level (none or primary, secondary, university), mother's social class (based on the Spanish adaptation of the Register General's Social Class classification: low, IV-V; middle, III; high, I-II). Additionally, the following child characteristics were collected: sex (male, female), age (in years), parentally self-reported physical activity (sedentary, active) and TV viewing (in hours/day). The usual daily intake of fruit and vegetables (in units of 100 g/day) and sweetened beverages (in units of 100 g/day) among children at the age of 4–5 years were estimated from the FFQ administered to the parents.

2.4. Statistical Analysis

We performed descriptive analyses to compare both, the TFA intake in g/day and energy-percent, according to parental and children's characteristics and cohort. We applied one-way analysis of variance (ANOVA) for continuous variables and Chi-squared tests for categorical variables. We used multiple linear regression to estimate adjusted β regression coefficients and 95% confidence intervals in order to explore the association between parental and children's characteristics and the intake of total, industrial, and natural TFA (in mg/day). To explore the factors associated with TFA intake and to control for possible confounding variables, all multivariable models were adjusted for maternal age, paternal age, country of origin, mother's educational level, mother's social class, child's sex, child's age, parentally reported physical activity of the child, TV viewing, fruit and vegetable intake, sweetened beverage intake and mean daily energy intake. We used meta-analysis to obtain combined estimates from cohort specific linear regression models and the I^2 measure under the fixed effects hypothesis to explore heterogeneity among cohorts [24]. We applied the fixed-effects meta-analysis model when I^2 was $<50\%$ and the random-effects meta-analysis model when $I^2 \geq 50\%$. All the statistical analyses were conducted with the statistical software R, version 3.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). All statistical tests were bilateral and p -values < 0.05 were considered statistically significant.

3. Results

Table 1 shows detailed information about the intake of total, industrial and natural TFA. The mean daily intake for total TFA was 1.36 g/day (median 1.30 g/day) and the corresponding intakes for industrial and natural TFA were 0.60 and 0.71 g/day respectively. Thus, slightly more than half of the total TFA intake came from natural TFA. Significant differences were observed in mean daily intakes of TFA by cohort with Valencia showing the highest total and industrial TFA intake and Guipuzcoa the lowest intakes for all types of TFA ($p < 0.05$). Regarding the percentage of the total energy intake provided by TFA, 10% of the children obtained at least 1% of their energy intake from TFA which approximately corresponded to an absolute mean daily intake of 1.95 g/day; this percentage ranged from 6.5% in children from Sabadell to 14.6% in children from Valencia. Statistically significant differences were also observed for several parental and child characteristics among cohorts (see Supplementary Table S1).

Table 1. Intakes of total, industrial, and natural trans fatty acids (TFA) among children aged 4–5 years from the four cohorts of the INMA study.

	All Cohorts (<i>n</i> = 1793)		Asturias (<i>n</i> = 387)		Guipuzcoa (<i>n</i> = 395)		Sabadell (<i>n</i> = 429)		Valencia (<i>n</i> = 582)	
	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹
Total TFA intake										
Mean ²	1.36	0.77	1.40	0.76	1.22	0.74	1.35	0.74	1.43	0.81
S.D. ²	0.45	0.17	0.47	0.16	0.38	0.17	0.41	0.17	0.50	0.18
Percentile ³										
P10	0.85	0.56	0.89	0.56	0.77	0.54	0.89	0.56	0.86	0.59
P25	1.03	0.65	1.08	0.65	0.93	0.62	1.07	0.63	1.06	0.68
P50	1.30	0.75	1.32	0.74	1.17	0.74	1.29	0.73	1.38	0.80
P75	1.60	0.87	1.59	0.86	1.46	0.85	1.60	0.83	1.73	0.92
P90	1.95	1.00	1.97	0.99	1.67	0.98	1.90	0.94	2.11	1.05
Industrial TFA intake										
Mean ²	0.60	0.34	0.54	0.30	0.54	0.33	0.63	0.35	0.65	0.37
S.D. ²	0.27	0.13	0.26	0.11	0.21	0.11	0.27	0.13	0.30	0.13

Table 1. Cont.

	All Cohorts (n = 1793)		Asturias (n = 387)		Guipuzcoa (n = 395)		Sabadell (n = 429)		Valencia (n = 582)	
	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹	g/day	E% ¹
Percentile ³										
P10	0.31	0.20	0.28	0.17	0.31	0.21	0.35	0.21	0.33	0.21
P25	0.42	0.26	0.38	0.22	0.39	0.25	0.45	0.26	0.45	0.28
P50	0.55	0.32	0.49	0.29	0.50	0.32	0.57	0.33	0.59	0.35
P75	0.73	0.40	0.64	0.35	0.66	0.38	0.76	0.41	0.81	0.44
P90	0.94	0.50	0.85	0.43	0.81	0.46	0.98	0.52	1.06	0.55
Natural TFA intake										
Mean ²	0.71	0.40	0.82	0.45	0.64	0.39	0.65	0.36	0.72	0.41
S.D. ²	0.28	0.12	0.31	0.13	0.26	0.12	0.23	0.10	0.28	0.11
Percentile ³										
P10	0.40	0.26	0.48	0.29	0.36	0.23	0.40	0.23	0.41	0.27
P25	0.51	0.32	0.59	0.35	0.46	0.30	0.49	0.29	0.52	0.34
P50	0.67	0.39	0.80	0.43	0.60	0.38	0.62	0.35	0.70	0.40
P75	0.86	0.47	0.97	0.53	0.76	0.46	0.79	0.43	0.88	0.48
P90	1.10	0.56	1.21	0.62	0.97	0.55	0.95	0.49	1.11	0.56

¹ E%, energy percent (percentage of the total ingested energy); ² Mean and standard deviation of the daily TFA intake in g/day and as percentage of the total energy intake provided by TFA intake. The tests of analysis of variance were significant in all comparisons ($p < 0.05$); ³ Percentiles of the TFA intake: P10, P25, P50, P75, P90.

The principal food groups contributing to the total, industrial and natural TFA intake are presented in Figures 1–3, respectively. The major source of total TFA intake in children were milks (21%), processed baked goods (16%), sweets (12%), fast food (12%), white bread (10%), red and processed meat (8%) and yoghurts (7%). The major contributors to the industrial TFA intake were white bread (25%), fast food (23%), processed baked goods (20%) and sweets (19%), approximately accounting for 87% of the intake. The most important contributor to the intake of natural TFA were milks (37%), followed by red and processed meat (13%), processed baked goods (13%), yoghurts (12%) and cheeses (10%).

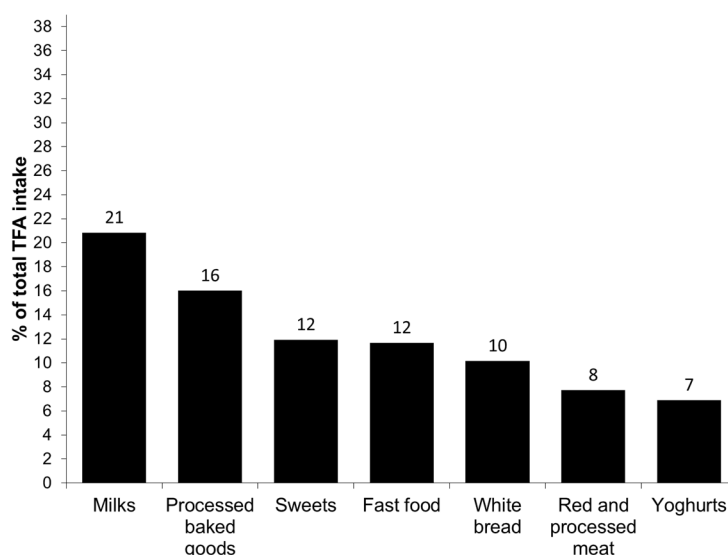


Figure 1. Main food sources of the intake of total *trans* fatty acids (TFA) in children aged 4–5 from the INMA Study.

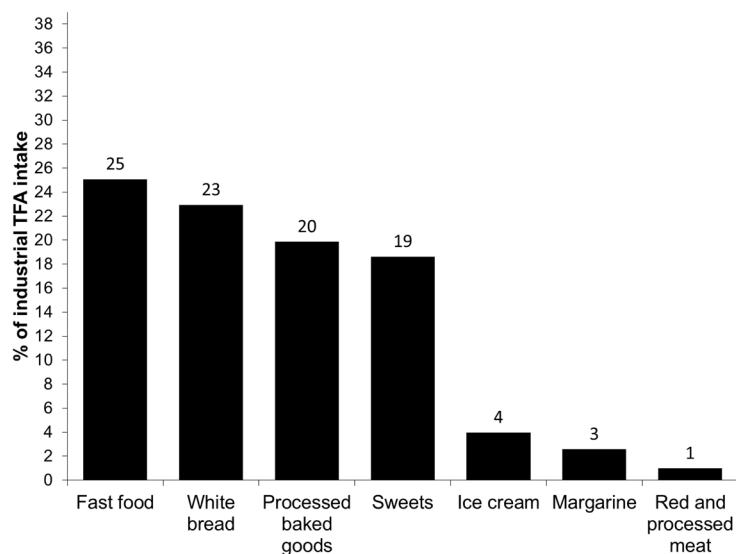


Figure 2. Main food sources of the intake of industrial *trans* fatty acids (TFA) in children aged 4–5 from the INMA Study.

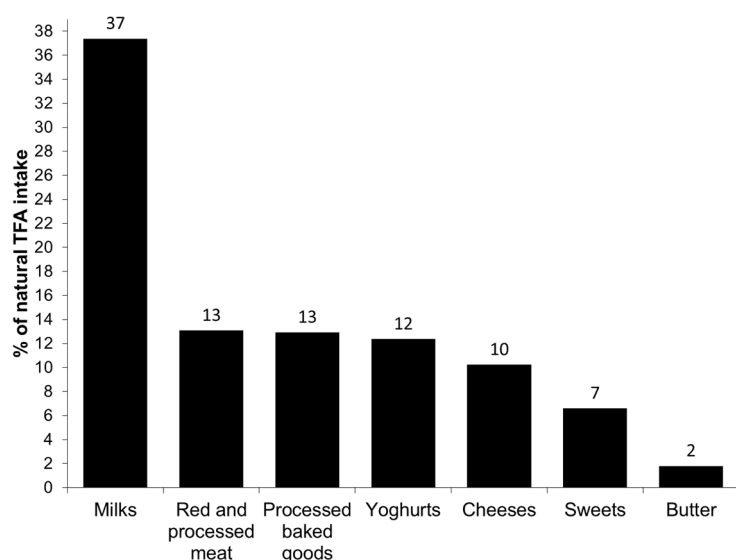


Figure 3. Main food sources of the intake of natural *trans* fatty acids (TFA) in children aged 4–5 from the INMA Study.

Table 2 shows the association between parental and child characteristics and the intakes of total, industrial and natural TFA (in mg/day). Having parents not originally from Spain was associated with a higher intake of total TFA (β 45.5, 95% CI 1.3; 89.6) and natural TFA (β 65.7, 95% CI 37.4; 94.0). TV viewing (hours/day) was associated with a higher industrial TFA intake (β 18.3, 95% CI 5.9; 30.7). The intake of fruits and vegetables (100 g/day) was inversely associated with the intakes of total, industrial and natural TFA (β -85.5 , β -46.6 , and β -36.9 , respectively; $p < 0.05$). A higher intake of sweetened beverages (100 g/day) was associated with a lower total (β -27.6) and natural (β -34.8) TFA intake ($p < 0.05$).

Table 2. Associations between parental and child characteristics and the intake of total, industrial, and natural *trans* fatty acid (TFA) among the children aged 4–5 years of the INMA Study.

	Total TFA (mg/Day)			Industrial TFA (mg/Day)			Natural TFA (mg/Day)		
	β^1	95% CI	$I^2, \%^2$	β^1	95% CI	$I^2, \%^2$	β^1	95% CI	$I^2, \%^2$
<i>Parental characteristics</i>									
Maternal age, years	−1.6	−11.8; 8.6	81.3 ³	0.7	−4.4; 5.8	57.8	−2.2	−7.4; 2.9	64.7 ³
Paternal age, years	−0.6	−4.2; 3.1	59.6	−0.5	−3.2; 2.3	0.0	−0.3	−6.1; 5.5	81.0 ³
Country of origin other than Spain	45.5	1.3; 89.6	0.0	−13.6	−47.8; 20.5	0.0	65.7	37.4; 94.0	0.0
Mother's educational level									
Primary or no education	ref.	ref.		ref.	ref.		ref.	ref.	
Secondary	−11.0	−48.1; 26.0	25.6	−1.5	−42.9; 40.0	53.0	−17.6	−42.1; 6.9	25.9
University	−8.0	−82.6; 66.6	61.3	15.3	−49.7; 19.2	35.2	13.9	−16.8; 44.6	44.0
Mother's social class									
Low	ref.	ref.		ref.	ref.		ref.	ref.	
Middle	11.1	−28.2; 50.3	0.0	0.4	−28.1; 29.6	26.3	5.0	−21.9; 31.9	0.0
High	−1.1	−43.0; 40.8	31.2	−20.4	−51.5; 10.7	20.4	16.0	−12.7; 44.7	0.0
<i>Child's characteristics</i>									
Physical activity (parentally reported)									
Sedentary	ref.	ref.		ref.	ref.		ref.	ref.	
Active	−1.0	−28.7; 26.6	0.0	−16.4	−37.0; 4.2	0.0	12.2	−6.5; 30.9	0.0
TV viewing, h/day	16.0	−0.5; 32.6	39.9	18.3	5.9; 30.7	0.0	−2.9	−13.9; 8.1	22.4
Fruit and vegetable intake, 100 g/day	−85.5	−104.8; −66.1	63.6 ³	−46.6	−61.9; −31.3	67.7 ³	−36.9	−44.9; −28.9	40.3
Sweetened beverage intake, 100 g/day	−27.6	−41.1; −14.0	0.0	8.5	−1.7; 18.7	0.0	−34.8	−43.6; −26.0	0.0

¹ The cohort specific linear regression models were combined using meta-analysis. All models were adjusted for the child's sex, age, energy intake and all variables in the table. ² We used the fixed-effects meta-analysis model when I^2 was <50% and the random-effects meta-analysis model when $I^2 \geq 50\%$. ³ $p_{\text{Cochran Q}} < 0.05$ from the test of heterogeneity.

4. Discussion

To our knowledge this is the first study that reports the intake of TFA in preschool children aged 4–5 years distinguishing industrial and natural TFA. We show that in this population more than 50% of the total TFA intake was of natural origin and that about 10% of the children of the INMA study obtained at least 1% of their energy intake from TFA, thus exceeding the limit recommended by the WHO [9].

Our results are in part comparable to those reported by a Canadian study with 100 children aged 5 to 6 [10], although this study did not report the absolute TFA intake. The mean percentage of energy intake provided by TFA was 0.71% in the Canadian study, and therefore similar than in our study (0.77%). The percentage of children exceeding 1% of the energy intake from TFA was also comparable to that in our study (12% vs. 10%). In a survey conducted in a Chinese population with participants aged 3 years and older, the reported intakes of total TFA among children from 3 to 6 years were much lower than those in our study; the mean daily TFA intake was 0.49 g/day which corresponded to 0.34% of their total energy intake, and less than 0.42% of the participants surpassed the limits recommended by the WHO [25].

In our study population 52% of the ingested TFA were of natural origin. The average intake of industrial TFA reported in most studies in adult populations has been about 2.5-fold higher than that of natural TFA [6]. The higher percentage of the intake of natural TFA reflects the differences between adults and children regarding their nutrition and may be due to a relative higher intake of dairy products. Moreover, this makes preschool children of special interest to study the effects of natural TFA on health outcomes. There is evidence that industrial TFA, but not natural TFA, are associated with a higher risk of coronary heart disease [6]. This could be explained by a true effect of the ingestion of industrial TFA, but also be the result of lower consumption levels of natural TFA in adults. Therefore, it has been suggested that more research is required to assess the impact of natural versus industrially produced TFA on health outcomes. Thus, preschool children may be an interesting study population because of the proportion of their natural and industrial TFA intakes.

The main food sources of the total TFA intake in our study were comparable to those reported by the Canadian study [10]. Regarding the industrial TFA intake, we observed that the main sources were fast food, white bread, processed baked goods and sweets, contributing to nearly 90% to its intake. The important contribution of white bread to the industrial TFA intake is interesting and probably due

to high white bread consumption in the Spanish study population, but also underlines the importance of bread and bakery products as TFA sources. Additionally, the main sources of industrial TFA obtained in the present study confirm that industrial TFA intake marks a highly processed diet which might contribute to negative health effects. On the other hand, the principal contributors to the natural TFA intake were milk and dairy products, foods highly important in the diet of preschool children.

Having parents from a country of origin other than Spain was significantly associated with a higher total TFA intake, which was based on a substantially higher natural TFA intake as no significant difference was observed for industrial TFA. The parents who were not from Spain came from many different European and non-European countries and the observed differences could be due to different dietary habits. Interestingly, more TV viewing was associated with a higher industrial, but not natural TFA intake. This finding can be explained by the well-established association between TV viewing and the consumption of fast food or poor diet in general [26–28]. Moreover, a higher intake of fruit and vegetables was associated with a lower intake of total, industrial and natural TFA which indicates that the consumption of industrial and natural TFA containing foods was probably replaced by fruits and vegetables. This association could be similar to the inverse association observed between fruit and vegetable intake and fat intake reported by several studies [29,30]. The inverse association between the intake of sweetened beverages and the total TFA intake was based on a lower intake of natural TFA, as no significant difference was observed with industrial TFA. The lower natural TFA intake is probably based on the replacement of milk by sweetened beverages in the diet of children with high sweetened beverage ingestion, which was also shown in a study carried out among three to seven-year-old children [31].

A limitation of this study may be that the estimates of TFA intakes were based on the children's food intakes reported by their parents using a FFQ. The reproducibility and validity of the FFQ was assessed for many foods and nutrients, including total TFA intake, against three 24-h recall but not for industrial and natural TFA intakes. However, we were not able to validate the biochemical validity of the FFQ against plasma concentration of total, industrial or natural TFA although it may not be adequate to use TFA in plasma as the reference method since there is evidence that TFA may selectively accumulate in some tissues; adipose tissue and liver generally contain higher concentrations of TFA than blood or other tissues, which could explain the lack of or very low correlations between TFA plasma concentration and the TFA intake reported by some studies [32,33]. Furthermore, an overestimation of total and industrial TFA intakes may have occurred in our study since the industrial TFA content in some foods (e.g., margarine) may have decreased during the last few years in Spain [19]. However, the food composition table primarily used was revised in 2015 [17], but some additional information was published between 2003 and 2011 [19–22], which may have led to an overestimation if compared to the current industrial TFA content of commercial products. Nevertheless, the data in our study was obtained between 2009 and 2012 and the internal validity of our study should not be affected by the latest changes in TFA contents.

Despite some limitations, to our knowledge this study is the first assessment of the TFA intake in children in Spain that distinguishes between industrial and natural sources. Additionally, it provides helpful information on TFA intake and the main food sources, which may be helpful to modify present legislations about the allowed TFA content of foods. Moreover, the information provided could help to design dietary guidelines in order to reduce the ingestion of TFA, ideally by replacing them by other *cis* unsaturated fatty acids [34].

5. Conclusions

The present study shows that the TFA intake is too high in a relevant proportion of children in Spain. It should be reduced to prevent possible future health problems, such as cardiovascular diseases or obesity. In contrast to findings in adult populations, the intake of natural TFA is higher than the industrial TFA intake. Further research is needed to investigate the specific effects of natural and

industrial TFA in the pathogenesis of diseases. Meanwhile, their exact roles remain unclear, parents should be aware of the main sources of TFA in order to reduce the total TFA intake of their children.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/8/10/625/s1>, Table S1: Parental and child characteristics of the children aged 4–5 years in all cohorts of the INMA Study.

Acknowledgments: Supported by Instituto Salud Carlos III (Red INMA G03/176 CB06/02/0041), Ministerio Sanidad y Fondos FEDER (FIS 03/1615; 04/1509; 04/1436; 05/1079; 06/1213; 06/0867; 07/0314; 11/01007; 13/1944, and 14/00891), Conselleria Sanitat, Generalitat Valenciana (ACOMP/2010/115; 084/2010). Miguel Servet-FEDER: MS11/0178 and MS15/0025.

Author Contributions: A.S. performed the statistical analysis of the data, interpreted the data and drafted the manuscript; D.G.M. determined the TFA content of the specific foods; E.M.N.M., M.G. and J.V. supervised the data management, the statistical analysis and the interpretation of the data and contributed to the design and execution of the study; A.F.S., A.T., L.S.M., A.I., D.R., M.G., J.J., S.L. and M.J.L.E. contributed to the design and execution of the study; all authors critically reviewed and revised the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Nishida, C.; Uauy, R. WHO Scientific Update on health consequences of *trans* fatty acids: Introduction. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63*, S1–S4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bhardwaj, S.; Passi, S.J.; Misra, A. Overview of *trans* fatty acids: Biochemistry and health effects. *Diabetes Metab. Syndr.* **2011**, *5*, 161–164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Mozaffarian, D.; Katan, M.B.; Ascherio, A.; Stampfer, M.J.; Willett, W.C. *Trans* Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *354*, 1601–1613. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Mozaffarian, D.; Aro, A.; Willett, W.C. Health effects of *trans*-fatty acids: Experimental and observational evidence. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63* (Suppl. S2), S5–S21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Thompson, A.K.; Minhane, A.-M.; Williams, C.M. *Trans* fatty acids and weight gain. *Int. J. Obes.* **2011**, *35*, 315–324. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- De Souza, R.J.; Mente, A.; Maroleanu, A.; Cozma, A.I.; Ha, V.; Kishibe, T.; Uleryk, E.; Budylowski, P.; Schünemann, H.; Beyene, J.; et al. Intake of saturated and *trans* unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ* **2015**, *351*, h3978. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kleber, M.E.; Delgado, G.E.; Lorkowski, S.; März, W.; von Schacky, C. *Trans* fatty acids and mortality in patients referred for coronary angiography: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *Eur. Heart J.* **2016**, *37*, 1072–1078. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Brouwer, I.A.; Wanders, A.J.; Katan, M.B. *Trans* fatty acids and cardiovascular health: Research completed? *Eur. J. Clin. Nutr.* **2013**, *67*, 541–547. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- World Health Organization (WHO). Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. Available online: http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/fatsandfattyacids_humannutrition/en/ (accessed on 16 March 2016).
- Mulder, K.A.; Ferdinands, A.R.; Richardson, K.J.; Innis, S.M. Sources of *trans* and saturated fatty acids in the diets of Vancouver children. *Can. J. Diet. Pract. Res.* **2013**, *74*, 7–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Innis, S.M. *Trans* fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. *Atheroscler. Suppl.* **2006**, *7*, 17–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bauer, L.R.; Waldrop, J. *Trans* fat intake in children: Risks and recommendations. *Pediatr. Nurs.* **2009**, *35*, 346–351. [[PubMed](#)]
- Guxens, M.; Ballester, F.; Espada, M.; Fernández, M.F.; Grimalt, J.O.; Ibarluzea, J.; Olea, N.; Rebagliato, M.; Tardón, A.; Torrent, M.; et al. INMA Project Cohort Profile: The INMA—Infancia y Medio Ambiente—(Environment and Childhood) Project. *Int. J. Epidemiol.* **2012**, *41*, 930–940. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Vioque, J.; Navarrete-Muñoz, E.-M.; Gimenez-Monzó, D.; García-de-la-Hera, M.; Granada, F.; Young, I.S.; Ramón, R.; Ballester, F.; Murcia, M.; Rebagliato, M.; et al. INMA-Valencia Cohort Study Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutr. J.* **2013**, *12*, 26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

15. Vioque, J.; Gimenez-Monzó, D.; Navarrete-Muñoz, E.M.; García-de-la-Hera, M.; Gonzalez-Palacios, S.; Rebagliato, M.; Ballester, F.; Murcia, M.; Iñiguez, C.; Granada, F. Reproducibility and validity of a Food Frequency Questionnaire designed to assess diet in children aged 4–5 years. *PLoS ONE* **2016**, in press.
16. Ortiz-Andrellucchi, A.; Henríquez-Sánchez, P.; Sánchez-Villegas, A.; Peña-Quintana, L.; Mendez, M.; Serra-Majem, L. Dietary assessment methods for micronutrient intake in infants, children and adolescents: A systematic review. *Br. J. Nutr.* **2009**, *102* (Suppl. S1), S87–S117. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. U.S. Department of Agriculture: Agricultural Research Service. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27*; U.S. Department of Agriculture: Washington, DC, USA, 2015.
18. Leth, T.; Ovesen, L.; Hansen, K. Fatty acid composition of meat from ruminants, with special emphasis on *trans* fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*, 1001–1005.
19. Larqué, E.; Garaulet, M.; Pérez-Llamas, F.; Zamora, S.; Tebar, F.J. Fatty acid composition and nutritional relevance of most widely consumed margarines in Spain. *Grasas Aceites* **2003**, *54*, 65–70.
20. Vicario, I.M.; Griguol, V.; León-Camacho, M. Multivariate characterization of the fatty acid profile of Spanish cookies and bakery products. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 134–139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Fernández-San Juan, P.M. *Trans* fatty acids (TFA): Sources and intake levels, biological effects and content in commercial Spanish food. *Nutr. Hosp.* **2009**, *24*, 515–520. [[PubMed](#)]
22. Kuhnt, K.; Baehr, M.; Rohrer, C.; Jahreis, G. *Trans* fatty acid isomers and the *trans*-9/*trans*-11 index in fat containing foods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *113*, 1281–1292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Willett, W. *Nutritional Epidemiology*; Oxford University Press: New York, NY, USA, 2013.
24. Higgins, J.P.T.; Thompson, S.G.; Deeks, J.J.; Altman, D.G. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* **2003**, *327*, 557–560. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Liu, A.D.; Li, J.W.; Liu, Z.P.; Zhou, P.P.; Mao, W.F.; Li, N.; Zhang, L. *Trans* Fatty Acid Levels in Foods and Intakes among Population Aged 3 Years and above in Beijing and Guangzhou Cities, China. *Biomed. Environ. Sci.* **2015**, *28*, 477–485. [[PubMed](#)]
26. Matheson, D.M.; Killen, J.D.; Wang, Y.; Varady, A.; Robinson, T.N. Children’s food consumption during television viewing. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79*, 1088–1094. [[PubMed](#)]
27. Miller, S.A.; Taveras, E.M.; Rifas-Shiman, S.L.; Gillman, M.W. Association between television viewing and poor diet quality in young children. *Int. J. Pediatr. Obes.* **2008**, *3*, 168–176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Utter, J.; Scragg, R.; Schaaf, D. Associations between television viewing and consumption of commonly advertised foods among New Zealand children and young adolescents. *Public Health Nutr.* **2006**, *9*, 606–612. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Agudo, A.; Pera, G. Vegetable and fruit consumption associated with anthropometric, dietary and lifestyle factors in Spain. EPIC Group of Spain. European Prospective Investigation into Cancer. *Public Health Nutr.* **1999**, *2*, 263–271. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Dennison, B.A.; Rockwell, H.L.; Baker, S.L. Fruit and vegetable intake in young children. *J. Am. Coll. Nutr.* **1998**, *17*, 371–378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Keller, K.L.; Kirzner, J.; Pietrobelli, A.; St-Onge, M.-P.; Faith, M.S. Increased sweetened beverage intake is associated with reduced milk and calcium intake in 3- to 7-year-old children at multi-item laboratory lunches. *J. Am. Diet. Assoc.* **2009**, *109*, 497–501. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Chisaguano, A.M.; Montes, R.; Castellote, A.I.; Morales, E.; Júlvez, J.; Vioque, J.; Sunyer, J.; López-Sabater, M.C. Elaidic, vaccenic, and ruminic acid status during pregnancy: Association with maternal plasmatic LC-PUFAs and atopic manifestations in infants. *Pediatr. Res.* **2014**, *76*, 470–476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Garland, M.; Sacks, F.M.; Colditz, G.A.; Rimm, E.B.; Sampson, L.A.; Willett, W.C.; Hunter, D.J. The relation between dietary intake and adipose tissue composition of selected fatty acids in US women. *Am. J. Clin. Nutr.* **1998**, *67*, 25–30. [[PubMed](#)]
34. Willett, W.; Mozaffarian, D. Ruminant or industrial sources of *trans* fatty acids: Public health issue or food label skirmish? *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *87*, 515–516. [[PubMed](#)]



15.2 PUBLICACIÓN 2

Dado que la segunda publicación se ha publicado en una revista sin acceso abierto se presenta a continuación la transcripción del artículo original.

**Association between *trans* fatty acid intake and overweight including obesity
in 4-5-year-old children from the INMA study**

Alexander Scholz¹, Eva Maria Navarrete-Muñoz^{1,2}, Manuela Garcia-de-la-Hera^{1,2}, Ana
Fernandez-Somoano^{2,3}, Adonina Tardon^{2,3}, Loreto Santa Marina^{2,4,5}, Eva Pereda-Pereda⁶,
Dora Romaguera^{7,8}, Mònica Guxens^{2,9,10,11}, Andrea Beneito¹², Carmen Iñiguez^{2,12,13}
and Jesus Vioque^{1,2}

¹ Unit of Nutritional Epidemiology, Universidad Miguel Hernandez, Alicante 03550, Spain;
scholz.alexander@gmail.com (A.S.); enavarrete@umh.es (E.M.N.-M.); manoli@umh.es
(M.G.-d.-l.-H.); vioque@umh.es (J.V.)

² CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid 28029, Spain;
fernandezsana@uniovi.es (A.F.-S.); atardon@uniovi.es (A.T.); ambien4ss-san@euskadi.eus
(L.S.M.); monica.guxens@isglobal.org (M.G.); beneito_and@gva.es (A.B.);
carmen.iniguez@uv.es (C.I.)

³ Department of Medicine, University of Oviedo, Oviedo 33006, Spain

⁴ BIODONOSTIA, Instituto de Investigación Biosanitaria, San Sebastián 20014, Spain;

⁵ Subdirección Salud Publica Gipuzkoa, San Sebastián 20013, Spain

⁶ Facultad de Psicología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, San Sebastián 20018, Spain;
eva.pereda@ehu.eus (E.P.)

⁷ Instituto de Investigacion Sanitaria de Palma (IdISPa), Hospital Universitario Son Espases,
Palma de Mallorca 07120, Spain; d.romaguera-bosch@imperial.ac.uk (D.R.)

⁸ CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Madrid 28029, Spain

⁹ ISGlobal, Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Barcelona 08036,
Spain

¹⁰ Pompeu Fabra University, Barcelona 08003, Spain

¹¹ Department of Child and Adolescent Psychiatry/Psychology, Erasmus University Medical
Centre-Sophia Children's Hospital, Rotterdam 3000CD, The Netherlands.

¹² Department of Statistics and Computational Research. Universitat de València, Valencia, Spain.

¹³ Epidemiology and Environmental Health Joint Research Unit, FISABIO–Universitat Jaume I–Universitat de València, Valencia 46020, Spain

Running title: *Trans* fatty acid intake and overweight in children

Key words: pediatric obesity, *trans* fatty acids, dietary fats, risk factors

Abstract

Background: *Trans* fatty acid (TFA) intake has been positively associated with obesity in adults, although the evidence in children is scarce. There is growing evidence that TFA of industrial or natural origin may have different effects.

Objectives: We aimed to explore the association between total, industrial and natural TFA intake and overweight including obesity in 4-5-year-old Spanish children.

Methods: We cross-sectionally analyzed data of 1744 children aged 4-5 from the INMA study, a prospective mother-child cohort study in Spain. We estimated the intake of total, industrial and natural TFA in grams per day (g/day) using a validated food frequency questionnaire and expressed it as quartiles. Overweight including obesity was defined according to the International Obesity Task Force criteria. We used multiple logistic regression to estimate adjusted odds ratios (OR) and confidence intervals (95%CI).

Results: After adjusting for major risk factors, the highest quartile of industrial TFA intake (>0.7g/day) was positively associated with overweight including obesity (OR 1.57, 95%CI 1.13-2.21, p trend for quartiles 0.01). No significant associations were observed between natural TFA intake and overweight including obesity.

Conclusions: In 4-5-year-old Spanish children, higher intake of industrial but not natural TFA was positively associated with overweight including obesity.

Introduction

Childhood overweight (including obesity when not otherwise specified) has become a serious problem due to its increasing worldwide prevalence over the past decades with an important impact on individual and public health (1,2). In high-income countries the prevalence of childhood overweight in 2013 was 23.8% in boys and 22.6% in girls (3).

Overweight in children is associated with overweight in adolescence as well as adulthood and an increased morbidity and mortality (4–6). The affected children are more likely to develop mostly preventable non-communicable diseases such as type 2 diabetes, cardiovascular diseases, musculoskeletal disorders and certain types of cancer (4).

Regarding the etiology of childhood overweight, numerous genetic and non-genetic risk factors have been identified (4,6). However, a systematic review from 2013 that included 61 prospective studies concluded that the evidence was only strong for the association between childhood obesity and genetic factors as well as low physical activity. In contrast, the evidence was mixed for other factors such as sedentary lifestyle and dietary factors including sugar-sweetened beverage consumption and high fat intake (7). Moreover, the effect of total fat intake on bodyweight in children was recently analyzed in a Cochrane review and the results were inconclusive (8).

Nevertheless, studies in adults have shown that higher intake of specific fat types is associated with weight gain, particularly the intake of *trans* fatty acids (TFA) (9,10). TFA are geometrical isomers of unsaturated fatty acids having at least one non-conjugated carbon-carbon double bond in the *trans* configuration which can be of natural or industrial origin (11). Industrial TFA are artificially produced by partial hydrogenation of unsaturated vegetable oils during heating or deep fat frying, whereas natural TFA are present in meat or dairy products from ruminant animals where small amounts of TFA are produced by microorganisms in the rumen (12). There is growing evidence that the intake of TFA of industrial or natural origin may have different effects (13,14). In adults, it is generally accepted that industrial TFA intake is associated with visceral adiposity and higher cardiovascular risk (15). In contrast, the intake of natural TFA has not been associated with changes in body size, shape or composition (16).

We showed in a recent study that 4-5-year-old Spanish children had a mean total TFA intake of 1.36 grams per day and that about ten percent of them exceeded the maximum daily intake of total TFA recommended by the World Health Organization (17). The main sources of

industrial TFA, which accounted to about 44% of the total TFA intake, were fast food, white bread and processed baked goods. Milk as well as red and processed meat were the main sources of natural TFA. However, the published literature about the association between TFA intake and childhood overweight is scarce and more studies are needed to investigate the role of TFA and its subtypes (18).

Therefore, we aimed to explore the association between the dietary intake of total, industrial and natural TFA and overweight including obesity in 4-5-year-old children in Spain.

Methods

Study design and participants

The INMA project (INfancia y Medio Ambiente, Spanish for “Environment and Childhood”) is a Spanish multicenter prospective population-based mother and child cohort study which consists of a network of birth cohorts with a common study protocol in the regions of Asturias, Gipuzkoa, Sabadell and Valencia. It aims to study the effects of diet and environmental factors during pregnancy and early childhood on child growth, development and health. The detailed study protocol was published elsewhere (19). Briefly, between November 2003 and August 2008 pregnant women were recruited and 2644 women agreed to participate. Finally, 2506 mothers and their newborns met the inclusion criteria and were included in the study. Of these children 1829 (73.0%) were evaluated at the age of 4–5 years between 2009 and 2012. The mothers lost to follow-up showed no significant difference in anthropometric variables, tobacco and alcohol use and diet quality including fruit and vegetable consumption. However, the participating mothers were slightly older, had more university studies and were from a higher social class than the mothers lost to follow-up. The mothers provided written informed consent and the study was approved by the Ethical Committees of the centers involved in the study (Hospital La Fe, Valencia; Hospital de Zumárraga, Gipuzkoa; CEIC-Parc de Salut Mar, Barcelona; Hospital Universitario Central de Asturias). For the present analysis, we excluded children with implausible calorie intake ($n=79$). These were identified by applying the formula proposed by Goldberg et al. (20) with the revised cut of points for European 2-6-year old children published by Börnhorst et al. (21). Moreover, we excluded 6 participants with missing data for the variables of interest. Thus, 1774 children (95.3%) were finally included in the analysis.

Assessment of overweight and obesity

When the children reached the age of 4-5 years, trained health professionals conducted personal interviews with the parents and took direct anthropometric measurements of the children’s bodyweight and height following standardized protocols. Children’s BMI was calculated by dividing weight in kilograms by square height in meters. Children were classified as having overweight or obesity using the age- and sex-specific cut-off points of the IOTF criteria that correspond to the cut-off points for overweight and obesity in adults (22). Children classified as having underweight were grouped together with children with normal

weight as the majority (81%) of the children with underweight had only slight underweight (grade 1 of 3 according to the IOTF criteria). To improve readability, we use throughout the paper the term overweight referring to children with overweight including obesity, if not otherwise specified.

Dietary Assessment including TFA

A semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) was used to assess the usual diet of the children previous to the interview (available at: <http://epinut.edu.umh.es/cfa-105-inma-infancia/>). Parents were asked to report how often, on average, their children had consumed the specified serving or portion size for each food item of the FFQ in the previous year. The questionnaire had nine possible responses, ranging from “never or less than once per month” to “six or more per day”. The FFQ was derived from an adult version of the FFQ previously validated among the mothers participating in the INMA Study (23). The FFQ was modified to include foods and portion sizes appropriate to children aged 4-5 and further validated with three 24-hour recalls and several biomarkers in a sample of 169 children aged 4-5 from the Valencia cohort (24). The range of the reproducibility and validity coefficients of the FFQ were similar to those observed for other FFQs in the literature (25). Regarding the reproducibility and validity of the FFQ for the intake of TFA, three 24-hour recalls in a 6-9-month period between two FFQs were used and the correlations were 0.44 and 0.23, respectively; in both cases statistically significant (24).

Nutrient values were primarily obtained from food composition tables from the US Department of Agriculture (26), other published sources reporting information on TFA content in Spanish foods and other sources with detailed information for total, industrial and natural TFA in foods (26–31). We calculated the usual daily nutrient intakes for each child by multiplying the frequency of the use of each food item by the nutrient content of the portion size specified in the FFQ. Then we added all foods to obtain the total nutrient intake for each participant. The usual daily intake of TFA was expressed in g/day. Furthermore, we estimated the energy intake in kcals/day for each participant. We used the residual method to estimate calorie-adjusted values for the nutrient intakes (32). The usual daily fruit and vegetable intake as well as the sweetened beverage intake were estimated and expressed in g/day.

Covariates

The following parental variables were collected at baseline when pregnant women enrolled in the study or later at child birth: mother's educational level (none or primary, secondary, university), mother's social class (low, middle, high), parental country of origin (Spain, other than Spain), pre-pregnancy mother's BMI (in kg/m²), father's BMI (in kg/m²), small for gestational age according to weight (no/yes), breast feeding (no/yes) and smoking during pregnancy (no/yes). Additionally, the following variables of the children were collected and included: small for gestational age according to weight (no/yes), breastfeeding (no/yes), sex (male, female), age (in years), physical activity (low, middle, high) and TV viewing (in hours/day) as reported by parents at the age 4-5 years.

Statistical analysis

To compare the characteristics of the 4-5-year-old children with normal weight and those with overweight we performed univariate descriptive analyses. Analyses of variance (ANOVA) were applied for continuous variables and Chi-squared tests for categorical variables. Additionally, to explore the association between total, industrial, and natural TFA intake (expressed in quartiles) and overweight multiple logistic regression was used to estimate adjusted odds ratios (OR), 95% confidence intervals (95% CI) and p values. Two different models were performed for all analyses: a basal model (model 1) adjusted for sex, age, total energy intake and study cohort and a second model (model 2) additionally adjusted for major risk factors of childhood obesity (mother's educational level, mother's social class, mother's BMI, father's BMI, parental country of origin, physical activity, TV viewing, fruit and vegetable intake and soft drink intake). We observed no heterogeneity between the four study cohorts ($I^2 = 0-3\%$). Thus, the four cohorts were combined and the regression models were adjusted for the variable study cohort. Furthermore, six different sensitivity analyses were performed, in three cases by adding a variable to model 2 (small for gestational age according to weight, breast feeding and smoking during pregnancy, respectively), in one case by including children with implausible calorie intake (n=79) and in one case by excluding children with underweight (n=98) from the analysis. In a further sensitivity analysis, children with overweight (n=249) were excluded from the analysis and only children with obesity (n=98) were compared to children with normal weight (n=1397). The results of the sensitivity analyses were presented graphically.

All statistical analyses were conducted with the statistical software R, version 3.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). All statistical tests were bilateral and p-values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

The characteristics of the parents and children (n=1744) according to the children's weight status are presented in table 1. The prevalence of overweight was 19.9%. The prevalence of overweight in parents of children with overweight was significantly higher than in children with normal weight with a higher difference for the mothers than for the fathers. The percentage of children viewing TV more than 1 hour per day was 8.4 points higher in children with overweight than in children with normal weight. Moreover, we observed a significantly higher fruit and vegetable intake as well as total calorie intake in children with overweight when compared to children with normal weight.

Table 2 shows the results of the logistic regression analysis that reveals the association between quartiles of total, natural as well as industrial TFA intake and overweight in children. When applying the basal model (model 1), we observed a significant association between industrial TFA intake and overweight comparing the highest with the lowest quartile of industrial TFA intake (OR 1.57, 95% CI 1.13-2.21, p for trend 0.012). After adjusting for major risk factors of childhood overweight (model 2), when comparing the highest with the lowest quartile, the OR of the association between total TFA intake and overweight was 1.44 (95% CI 1.00-2.08, p for trend 0.027). When applying model 2 and comparing the highest quartile with the lowest quartile of industrial TFA intake, a stronger and statistically significant association with overweight was found (OR 1.63, 95% CI 1.14-2.34, p for trend 0.010). No statistically significant associations were observed between the quartiles of natural TFA intake and overweight.

Figure 1 demonstrates sensitivity analyses of the association between the highest quartile of industrial TFA intake and overweight including obesity vs. normal weight. No major changes were observed when including children with implausible calorie intake (n=79), when excluding children with underweight (n=98), or when model 2 was additionally adjusted for the variables small for gestational age according to weight, breastfeeding or smoking during pregnancy, respectively. When excluding the children with overweight (n=249) and comparing only the children with obesity (n=98) to children with normal weight (n=1397), the OR was slightly attenuated (1.41 vs. 1.63 for overweight including obesity) but the confidence interval widened and no statistically significant association was observed.

Table 1: Characteristics of the parents and 4-5-year-old children participating in the INMA study according to the children's weight status

	Normal weight (n=1397)	Overweight including obesity (n=347)	p ^a
Maternal education (university), %	38.1	33.4	0.172
Maternal social class (low), %	24.8	21.6	0.134
Maternal BMI (≥ 25), %	22.9	40.1	<0.001
Paternal BMI (≥ 25), %	53.5	68.1	<0.001
Parental country of origin other than Spain, %	10.5	13.0	0.173
Child characteristics			
Sex (females), %	47.6	54.8	0.017
Age, y, mean (SD)	4.41 (0.18)	4.42 (0.21)	0.102
Physical activity (high), %	15.9	13.3	0.289
TV viewing, h/day (>1), %	58.4	66.8	0.016
Fruit and vegetable intake ^b , g/day, mean (SD)	217 (121)	233 (131)	0.029
Soft drink intake ^b , g/day, mean (SD)	82 (107)	91 (133)	0.223
Total calorie intake/day, mean (SD)	1594 (331)	1634 (352)	0.047
Total TFA intake ^b , g/day, mean (SD)	1.31 (0.29)	1.35 (0.29)	0.071
Industrial TFA intake ^b , g/day, mean (SD)	0.58 (0.22)	0.60 (0.22)	0.070
Natural TFA intake ^b , g/day, mean (SD)	0.69 (0.20)	0.69 (0.20)	0.467

^a p-values from the chi-squared tests for categorical variables and ANOVA tests for continuous variables

^b crude absolute intakes

Table 2: Association between quartiles of total, industrial as well as natural TFA intake and overweight including obesity in 4-5-year-old children from the INMA study

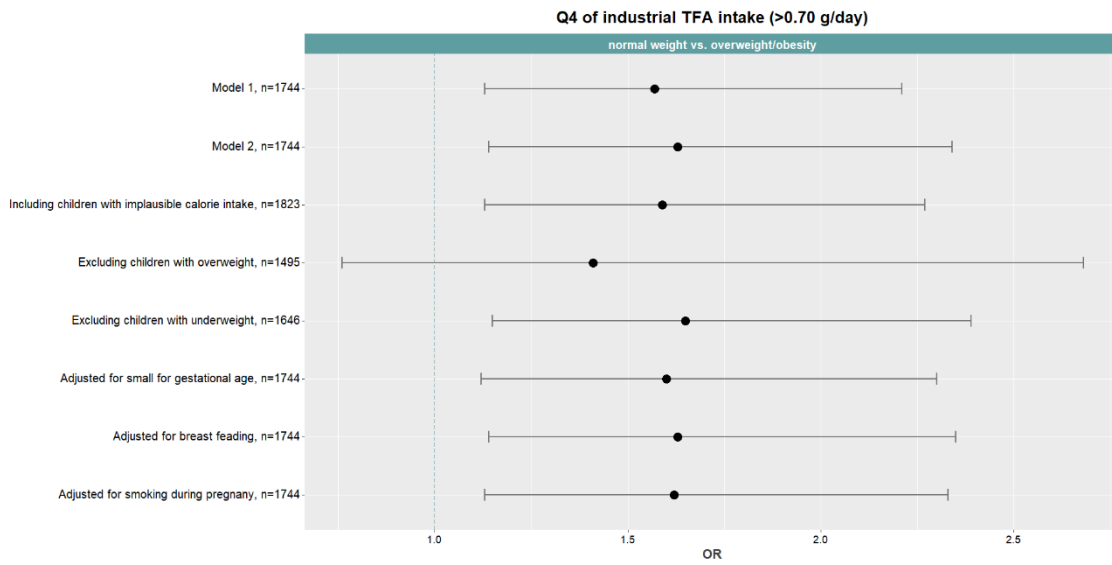
Quartiles of TFA intake	Normal weight (n= 1397) vs. overweight including obesity (n=347)			Normal weight (n= 1397) vs. overweight including obesity (n=347)		
	MODEL 1 ^b			MODEL 2 ^c		
	OR ^a	95% CI	p	OR ^a	95% CI	p
Total TFA, g/day						
Q1 (<1.11)	1.00	(reference)		1.00	(reference)	
Q2 (1.11-1.30)	0.87	0.61; 1.23	0.434	0.88	0.61; 1.27	0.494
Q3 (1.31-1.50)	0.99	0.70; 1.40	0.958	1.08	0.75; 1.55	0.690
Q4 (>1.50)	1.32	0.95; 1.84	0.104	1.44	1.00; 2.08	0.052
p for trend			0.070			0.027
Industrial TFA, g/day						
Q1 (<0.44)	1.00	(reference)		1.00	(reference)	
Q2 (0.44-0.55)	1.03	0.73; 1.46	0.859	1.05	0.73; 1.51	0.787
Q3 (0.56-0.70)	1.00	0.70; 1.42	0.994	1.06	0.74; 1.53	0.740
Q4 (>0.70)	1.57	1.13; 2.21	0.008	1.63	1.14; 2.34	0.008
p for trend			0.012			0.010
Natural TFA, g/day						
Q1 (<0.55)	1.00	(reference)		1.00	(reference)	
Q2 (0.55-0.68)	1.16	0.83; 1.63	0.391	1.20	0.84; 1.71	0.316
Q3 (0.69-0.81)	1.21	0.87; 1.71	0.260	1.27	0.89; 1.82	0.185
Q4 (>0.81)	0.97	0.68; 1.38	0.862	1.07	0.73; 1.56	0.741
p for trend			0.931			0.682

^a OR was obtained by logistic regression

^b adjusted for sex, age, total energy intake and study cohort

^c additionally adjusted for maternal educational level, maternal social class, maternal BMI, paternal BMI, parental country of origin, physical activity, TV viewing, fruit and vegetable intake and soft drink intake

Figure 1: Sensitivity analysis of the association between the fourth quartile of industrial TFA intake and overweight/obesity. All shown models except for model 1 are based on model 2.



Discussion

To our knowledge, we addressed for the first time the association between the intake of different TFA subtypes and overweight in preschool children.

In 4-5-year-old Spanish children higher industrial TFA intake was significantly associated with overweight as we observed a clear association when comparing the highest to the lowest quartile of industrial TFA intake. For total TFA intake, the association was marginally not statistically significant when adjusting for major risk factors. However, a statistically significant trend was observed. No statistically significant association was found between natural TFA intake and overweight. These findings may suggest a non-linear association between the intake of mainly industrial TFA with overweight.

The scarce amount of literature published about the association between TFA intake and overweight in children limits the comparison of our results. One prospective study from Colombia with 668 5-12-year-old children did not find an association between TFA serum concentration and weight gain after a median follow-up of 30 month (33). However, although it was a prospective study and biomarkers were used, the results were based on a single serum TFA determination at recruitment that reflects only short term TFA intake. The authors state that this might have increased measurement error and could explain the lack of association observed. Moreover, our results are consistent with two large long-term prospective observational studies in adults that have shown the association between TFA intake and weight gain, although these studies did not address the different TFA subtypes (34,35). Nevertheless, it has been reported previously that in adults industrial TFA contribute to the majority of total TFA intake (9,15,36). However, in recent years the industrial TFA intake diminished in many parts of the world and currently in many countries the intake of natural TFA is equal or higher than the intake of industrial TFA (37).

At the present moment the biological mechanisms by which TFA could contribute to overweight remain unclear (10). Interestingly, in our study the association between overweight and TFA was based on industrial TFA intake and no significant association was observed for natural TFA. This observation is in accordance to recent findings that suggest that industrial and natural TFA could have different effects on a variety of health outcomes. On the one hand, industrial TFA intake has been associated with insulin resistance, coronary heart disease and sudden death (15) as well as increased visceral adiposity and bodyweight (38). On the other hand, natural TFA intake has not been associated with coronary heart

disease which has initially been explained by the relatively low natural TFA intake by adults (36). However, recent studies revealed that higher plasma concentrations of natural TFA have been associated with lower triacylglycerol concentration, lower blood pressure and a lower type 2 diabetes risk (13). Furthermore, in a prospective cohort study with 267 Danish participants aged 35–65, natural TFA intake was not significantly associated with changes in bodyweight, waist and hip circumference or body fat percentage (16). Thus, our results are consistent with the findings about the different metabolic effects of the TFA subtypes in adults but should be confirmed in prospective studies. Moreover, other health outcomes than overweight or obesity should be addressed in future studies with children. The WHO recommends that total TFA intake should be less than one percent of the total energy intake, but no limits are expressed for industrial TFA intake in particular (39). Although lately many measures have been undertaken to diminish the industrial TFA content of foods (15), our findings and the previously mentioned evidence for different effects of industrial and natural TFA suggest that the recommendations should be actualized and a specific threshold for industrial TFA intake should be established.

In the sensitivity analyses no substantial changes were observed when we additionally adjusted for the variables small for gestational age according to weight, breastfeeding or smoking during pregnancy. However, there is limited evidence that these variables could interfere with childhood overweight (7). Likewise, no significant differences were observed when including children with implausible calorie intake or when excluding children with underweight which indicates that these children have similar characteristics than the children included in the main analyses. When we excluded children with overweight and compared children with normal weight only to children with obesity, significance was lost. This could be explained by the relatively low number of obese children in our study which diminished the statistical power of this analysis and the lack of a statistically significant association in this context should not be interpreted as a demonstration of the absence of such.

The present study has several limitations. The cross-sectional analysis of the data at 4-5 years of age does not permit causal inference, which means that it cannot be assumed that the higher TFA intake causes the higher prevalence of childhood overweight. However, overweight at the age of 4-5 years should be recent, and most of the variables were collected several years before at baseline when the mother and child cohort study started. In addition, to our knowledge we describe this association for the first time in this population distinguishing the different TFA subtypes. This permits us to generate a hypothesis, but our results should be

confirmed in prospective studies to rule out reverse causation or other bias. Moreover, despite adjusting for multiple variables in the regression models we cannot rule out a potential residual confounding by other variables that we did not address. Especially the intake of mainly industrial TFA is associated with unhealthy dietary patterns which might contribute in part to the observed association between high industrial TFA intake and overweight. Another limitation is the existence of other definitions of childhood overweight and obesity like the definition proposed by the WHO (40). Naturally, the application of other definitions can lead to different study results. Therefore, it is crucial to consider the characteristics of the existing definitions. The IOTF criteria of overweight and obesity used in the present study have been shown to be more specific than the WHO criteria which can be an advantage when exploring associated risk factors (41,42). A further limitation of the study is measurement error due to the use of FFQs and food composition tables, especially as there has been a decrease of TFA content of foods in recent years. However, we have used recently published food composition tables and supplemented them with data from Spanish food analyses to minimize possible discrepancies. Moreover, it can be assumed that measurement error was non-differential and that therefore the observed effects should be equal.

In conclusion, higher intake of industrial TFA was positively associated with overweight including obesity in 4-5-year-old Spanish children. No significant association was observed between natural TFA intake and overweight including obesity. Our results are consistent with the growing but still limited evidence of different health effects of industrial and natural TFA and should be further confirmed in prospective studies.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge all the study participants for their generous collaboration and the interviewers for their assistance in contacting the families and administering the questionnaires. The authors are grateful to Lourdes Cirugeda for her support and assistance in preparing the data set. A full roster of the INMA Project Investigators can be found at http://www.proyectoinma.org/presentacioninma/listado-investigadores/en_listado-investigadores.html.

Supported by Instituto Salud Carlos III (Red INMA G03/176 CB06/02/0041), Ministerio Sanidad y Fondos FEDER (FIS 03/1615; 04/1509; 04/1436; 05/1079; 06/1213; 06/0867; 07/0314; 11/01007; 13/1944 and 14/00891), Conselleria Sanitat, Generalitat Valenciana (ACOMP/2010/115; 084/2010). Miguel Servet-FEDER: MS11/0178 and MS15/0025.

A.S. performed the statistical analysis of the data, interpreted the data and drafted the manuscript; E.M.N.-M., M.G.-d.-l.-H. and J.V. supervised the data management, the statistical analyses and the interpretation of the data and contributed to the design and execution of the study; A.F.-S., A.T., L.S.M., M.G., A.B., C.I., E.P. and D.R., contributed to the design and execution of the study; all authors critically reviewed and revised the manuscript.

References

1. Lobstein T, Jackson-Leach R, Moodie ML et al. Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. *Lancet*. 2015;385:2510-20.
2. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390:2627-42.
3. Ng M, Fleming T, Robinson M et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384:766-81.
4. Han JC, Lawlor DA, Kimm SY. Childhood obesity. *Lancet*. 2010;375:1737-48.
5. Bjørge T, Engeland A, Tverdal A, Smith GD. Body mass index in adolescence in relation to cause-specific mortality: a follow-up of 230,000 Norwegian adolescents. *Am J Epidemiol*. 2008;168:30-7.
6. Lakshman R, Elks CE, Ong KK. Childhood obesity. *Circulation*. 2012;126:1770-9.
7. Pate RR, O'Neill JR, Liese AD et al. Factors associated with development of excessive fatness in children and adolescents: a review of prospective studies. *Obes Rev*. 2013;14:645-58.
8. Naude CE, Visser ME, Nguyen KA, Durao S, Schoonees A. Effects of total fat intake on bodyweight in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2018, Issue 7. Art. No.: CD012960.
9. Mozaffarian D, Aro A, Willett WC. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *Eur J Clin Nutr*. 2009;63 Suppl 2:S5-21.
10. Thompson AK, Minhane A-M, Williams CM. Trans fatty acids and weight gain. *Int J Obes*. 2011;35:315-24.
11. Nishida C, Uauy R. WHO Scientific Update on health consequences of trans fatty acids: introduction. *Eur J Clin Nutr*. 2009;63:S1-4.
12. Bhardwaj S, Passi SJ, Misra A. Overview of trans fatty acids: biochemistry and health effects. *Diabetes Metab Syndr*. 2011;5:161-4.
13. Da Silva MS, Julien P, Pérusse L, Vohl M-C, Rudkowska I. Natural Rumen-Derived trans Fatty Acids Are Associated with Metabolic Markers of Cardiac Health. *Lipids*. 2015;50:873-82.
14. Smit LA, Willett WC, Campos H. trans-fatty acid isomers in adipose tissue have divergent associations with adiposity in humans. *Lipids*. 2010;45:693-700.
15. Mozaffarian D. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. *Circulation*. 2016;133:187-225.
16. Hansen CP, Heitmann BL, Sørensen TI, Overvad K, Jakobsen MU. Intake of ruminant trans-fatty acids, assessed by diet history interview, and changes in measured body size, shape and composition. *Public Health Nutr*. 2016;19:494-502.
17. Scholz A, Gimenez-Monzo D, Navarrete-Muñoz EM et al. Dietary Intake of Trans Fatty Acids in Children Aged 4-5 in Spain: The INMA Cohort Study. *Nutrients*. 2016;8:625.
18. Innis SM. Trans fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. *Atheroscler Suppl*. 2006;7:17-20.
19. Guxens M, Ballester F, Espada M et al. Cohort Profile: the INMA--INfancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project. *Int J Epidemiol*. 2012;41:930-40.
20. Goldberg GR, Black AE, Jebb SA et al. Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *Eur J Clin Nutr*. 1991;45:569-81.

21. Börnhorst C, Huybrechts I, Ahrens W et al. Prevalence and determinants of misreporting among European children in proxy-reported 24 h dietary recalls. *Br J Nutr*. 2013;109:1257-65.
22. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000;320:1240.
23. Vioque J, Navarrete-Muñoz E-M, Gimenez-Monzó D et al. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutr J*. 2013;12:26.
24. Vioque J, Gimenez-Monzo D, Navarrete-Muñoz EM et al. Reproducibility and Validity of a Food Frequency Questionnaire Designed to Assess Diet in Children Aged 4-5 Years. *PloS One*. 2016;11:e0167338.
25. Ortiz-Andrellucchi A, Henríquez-Sánchez P, Sánchez-Villegas A, Peña-Quintana L, Mendez M, Serra-Majem L. Dietary assessment methods for micronutrient intake in infants, children and adolescents: a systematic review. *Br J Nutr*. 2009;102 Suppl 1:S87-117.
26. U.S. Department of Agriculture: Agricultural Research Service, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27.
27. Leth T, Ovesen L, Hansen K. Fatty acid composition of meat from ruminants, with special emphasis on trans fatty acids. *J Am Oil Chem Soc*. 1998;75:1001-5.
28. Larqué E, Garaulet M, Pérez-Llamas F, Zamora S, Tebar FJ. Fatty acid composition and nutritional relevance of most widely consumed margarines in Spain. *Grasas Aceites* 2003;54.
29. Vicario IM, Griguol V, León-Camacho M. Multivariate characterization of the fatty acid profile of spanish cookies and bakery products. *J Agric Food Chem*. 2003;51:134-9.
30. Fernández-San Juan P-M. Trans fatty acids (tFA): sources and intake levels, biological effects and content in commercial Spanish food. *Nutr Hosp*. octubre de 2009;24:515-20.
31. Kuhnt K, Baehr M, Rohrer C, Jahreis G. Trans fatty acid isomers and the trans-9/trans-11 index in fat containing foods. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2011;113:1281-92.
32. Willett W. *Nutritional Epidemiology*. Oxford University Press; 2013.
33. Baylin A, Perng W, Mora-Plazas M, Marin C, Villamor E. Serum Trans Fatty Acids Are Not Associated with Weight Gain or Linear Growth in School-Age Children. *J Nutr*. 2015;145:2102-8.
34. Koh-Banerjee P, Chu N-F, Spiegelman D et al. Prospective study of the association of changes in dietary intake, physical activity, alcohol consumption, and smoking with 9-y gain in waist circumference among 16 587 US men. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:719-27.
35. Field AE, Willett WC, Lissner L, Colditz GA. Dietary fat and weight gain among women in the Nurses' Health Study. *Obes Silver Spring Md*. 2007;15:967-76.
36. Bendsen NT, Christensen R, Bartels EM, Astrup A. Consumption of industrial and ruminant trans fatty acids and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65:773-83.
37. Wanders AJ, Zock PL, Brouwer IA. Trans Fat Intake and Its Dietary Sources in General Populations Worldwide: A Systematic Review. *Nutrients*. 2017;9:840.
38. Micha R, Mozaffarian D. Trans fatty acids: effects on metabolic syndrome, heart disease and diabetes. *Nat Rev Endocrinol*. 2009;5:335-44.
39. Fats and fatty acids in human nutrition. World Health Organization. Available at: http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/fatsandfattyacids_humannutrition/en/

40. de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007;85:660-7.
41. Valerio G, Balsamo A, Baroni MG et al. Childhood obesity classification systems and cardiometabolic risk factors: a comparison of the Italian, World Health Organization and International Obesity Task Force references. *Ital J Pediatr.* 2017;43:19.
42. de Onis M, Lobstein T. Defining obesity risk status in the general childhood population: which cut-offs should we use? *Int J Pediatr Obes.* 2010;5:458-60.

15.3 CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE ALIMENTOS

A continuación, se encuentra el cuestionario de frecuencia de alimentos de 105 ítems usado en el proyecto INfancia y Medio Ambiente para medir la ingesta de los niños a los 4-5 años.

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA

IDNUM | | | | |

Entrevistador/a: "Esta parte de la encuesta es para conocer la dieta que ha seguido su hijo/a en el último año y averiguar si guarda relación con su crecimiento y desarrollo. Por ello, le agradecemos sinceramente que preste la máxima atención y colaboración informando en la medida de lo posible sobre la dieta que hace en casa y fuera (colegio, restaurantes, etc). Cuando la cantidad especificada para un alimento no se adapte plenamente a la ración habitual que consume su hijo/a, trate de aproximar su respuesta subiendo o bajando la frecuencia de consumo, como se indica en algunos ejemplos que damos".

Para cada alimento señalar **cuantas veces como media** ha tomado la cantidad que se indica durante el último año. Debe tener en cuenta las veces que toma el alimento solo y cuando lo añade a otro alimento o plato. Por ejemplo, el huevo, considere cuando lo toma solo (frito, cocido o tortilla) y cuando lo toma añadido o mezclado con otros platos (ej. revueltos, rellenos, etc). Si suele comer una tortilla de 2 huevos cada 2 días, deberá marcar para un huevo, 1 por día.

I. LACTEOS		Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
LECHE (1-4)	1. Entera	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
(1 vaso o taza pequeña, <u>sola, con colacao o añadida a cereales</u>)	2. Semi-desnatada	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	3. Leche enriquecida: Energía y crecimiento	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	4. Otras leches enriquecidas: Calcio, Omega-3, Fólico, Soja	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
YOGUR (5-7)	5. Yogur entero natural sin azúcar (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
Uno o un vaso pequeño	6. Yogur entero natural azucarado, con frutas, sabores o líquidos tipo Dan-up (unidad o vasito pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	7. Yogur pre- o probiótico sólido o líquido tipo Actimel, Bios (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	8. Batidos de leche tipo Cacaolat, ColacaoEnergy o sabores (un vaso/botella pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	9. Petit suisse, Danonino , o similar (unidad pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	10. Requesón, queso blanco o fresco (una porción o ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	11. Queso tierno : cremosos (babybel), en porciones (El Caserío), en lonchas, taquitos o rallado de paquetes (unidad, loncha, porción, o puñado añadido a ensaladas o platos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	12. Queso semi-curado o curado (una loncha o trozo)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	13. Natillas, flan, pudding (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	14. Helados de leche (1 cucurucho, bola o tarrina pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

Si no se indica de otra forma, los platos y porciones que se preguntan son de tamaño pequeño, el habitual para edad infantil. Si su hijo toma una porción o plato mayor, deberá aumentar la frecuencia convenientemente. Por ejemplo, si su hijo/a toma hamburguesa 2-4 veces/semana, pero en vez de tomar 1 unidad, toma 2 cada vez o de 1 tamaño grande, entonces deberá aumentar la frecuencia a 5-6/sem ó incluso 1/día. Lo mismo para otros platos (carne, embutidos, etc.)

II. HUEVOS, CARNES, PESCADOS		Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
	15. Huevo de gallina frito, revuelto, cocido, en tortillas o en otros platos o recetas (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	16. Pollo o pavo <u>con piel</u> (pieza pequeña, incluida hamburguesa o nuggets de pollo)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	17. Pollo o pavo <u>sin piel</u> (pieza o ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
18-20. Carne en filetes, chuletas, etc.; acompañando a guisos, arroz, legumbres, pastas, canelones; o en albóndigas. (pieza o plato pequeño)	18. Ternera	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	19. Cerdo	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	20. Cordero	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	21. Hígado de ternera, cerdo, cordero, pollo (1 ración o pieza pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	22. Jamón York o serrano (loncha o ración de bocadillo)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	23. Embutidos -salchichón, <i>fuet</i> , salami, chorizo, mortadela: 3-4 lonchas, ración bocadillo.	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	24. Salchichas, <i>Frankfurts</i> y similares (1 pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	25. Longanizas, butifarras y similares (una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	26. Patés, foie-gras (una cucharada o untada de bocadillo)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	27. Hamburguesa (unidad pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	28. Croquetas de pollo o jamón (2 unidades medianas o 3-4 pequeñas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
	29. Empanadillas/empanadas, todos los tipos (1 pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

Si no se especifica de otra manera, los platos para carne, pescado, verduras, legumbres o frutas son de tamaño pequeño-mediano. Si el tamaño o porción que se consume habitualmente es diferente, se deberá ajustar aumentando o disminuyendo la frecuencia de consumo de lo especificado convenientemente

30. Derivados de pescado fritos: delicias, barritas, muslitos de mar (surimi) (dos unidades)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
31. Pescado BLANCO frito o rebozado (1 plato mediano o ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
32. Pescado BLANCO plancha o hervido: merluza, lenguado, dorada (ración pequeña,)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
33. Emperador o pez de espada (filete o ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
34. Pescado AZUL grande (otros): atún, bonito, salmón (ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
35. Pescado AZUL pequeño: boquerón o anchoa, sardinas, caballa (ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
36. Conservas en aceite de atún, bonito, sardina o caballa (media lata pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
37. Almejas, mejillones, berberechos y similares (1/2 lata pequeña o 1/2 ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
38. Calamares, chipirones, sepia, choco, pulpo (1/2 ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
39. Marisco: gambas, cangrejo, langostino, langosta (1/2 ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

III. VERDURAS, LEGUMBRES (considere el consumo directo o en purés, papillas u otras preparaciones cocinadas)

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
40. Lechuga, endibias, escarola, berros (ración pequeña o guarnición)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
41. Tomate crudo en ensalada o triturado acompañando a platos, tostadas (1 pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
42. Salsa de tomate frito añadida a platos: huevo, pastas, (2-3 cucharadas soperas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
43. Cebolla, puerros en purés, cremas u otros platos (media unidad pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
44. Pimiento rojo o verde crudo o cocinado en purés, ensaladas... (1/2 verde o 1/4 rojo)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
45. Zanahoria cruda o cocinada (media unidad pequeña o 2 cucharadas soperas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
46. Maíz hervido (1 cucharada sopera colmada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
47. Espinacas o acelgas cocinadas (ración o guarnición pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
48. Col, coliflor, brócolis cocinadas (ración pequeña o 3 ramilletes)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
49. Calabaza cocinada (ej ración de puré pequeña o 3 cucharadas soperas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
50. Judías verdes cocinadas (ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
51. Berenjenas, calabacín cocinados (medio pequeño o media ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
52. Legumbres: lentejas, garbanzos, judías pinta o blanca (ración pequeña o 4 cuch.sop)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
53. Otras legumbres cocinadas en cremas o purés: guisantes, habitas (ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

Para alimentos de temporadas (ej. frutas, helados), calcular el consumo medio para todo el año. Por ejemplo, si se consume 1 tajada de sandía o melón diaria durante 3-4 meses de verano, entonces el consumo medio resultante al año sería de "2-4 veces/sem" ④, o si consume 1 naranja al día durante 8-9 meses, entonces sería "5-6 por semana".

IV. FRUTAS (considere el consumo directo y el que se hace en zumos, papillas u otras preparaciones como macedonias)

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
54. Una naranja pequeña o mandarina mediana (Unidad)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
55. Zumo de naranja natural (un vaso pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
56. Plátano (uno pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
57. Manzana, pera (media manzana mediana o una pera pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
58. Melocotón, nectarina, albaricoque (uno pequeño o dos albaricoques)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
59. Sandía, melón (1 tajada pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
60. Uvas (un racimo pequeño o plato de postre)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
61. Fresas (6-8 fresas pequeñas o plato de postre)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
62. Cerezas, ciruelas, higos-brevas frescos (plato postre o 6-7 cerezas o 1 higo mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
63. Kiwi (una unidad)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
64. Piña natural, mango, papaya (una rodaja de piña o 1/3 de mango/papaya)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
65. Fruta en almíbar: melocotón, piña, pera, macedonia (1 mitad o rodaja, 4-5 cuch.sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
66. Aceitunas (un platito o tapa de 8-10 unidades pequeñas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
67. Frutos secos: almendras, cacahuets, piñones, avellanas, nueces (1 puñadito)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

V. PAN, CEREALES Y SIMILARES	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
68. Pan blanco (pieza pequeña para bocadillo, ¼ baguette o 2 rodajas de molde)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
69. Pan integral (pieza pequeña de bocadillo o 2 rodajas de molde)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
70. Palitos de pan, roscos, rosquilletas y similares (3-4 unidades o 1 rosquilla)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
71. Cereales desayuno normales o mezclas azucarados (3 cuch sopera o ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
72. Cereales desayuno con denominación ricos en fibra, menos azúcar (ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
73. Patatas fritas congeladas o tipo <i>McDonalds, Burger King</i> (1 ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
74. Patatas fritas caseras (1 ración o guarnición pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
75. Patatas cocidas, asadas en guisos, ensaladillas u otros platos (1/2 patata pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
76. Bolsa de patatas fritas (1 bolsa pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
77. Bolsa palomitas, cortezas maíz, conos, similares – <i>doritos, bocabits-</i> (bolsa pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
78. Arroz cocinado ya sea en paella o en hervidos (1 plato pequeño o 4-5 cuch sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
79. Pastas: espaguetis, macarrones, fideos (caldo), lasaña, canelones (plato pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
80. Pizza (1 porción o ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

Los alimentos que suelen acompañar a platos como arroz, pastas, ensaladas y otros platos como por ejemplo la carne en lasañas o canelones, queso rallado añadido a pastas o ensaladas, etc. deberán contemplarse en su sección respectiva. Los platos de sopas o caldos en los que se usa arroz o fideos deberán considerarse como arroz o pasta.

VI. BOLLERÍA Y DULCES	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
81. Galletas tipo María (1 galleta)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
82. Galletas con chocolate (1 galleta doble rellena tipo <i>Oreo</i> o 1 envuelta)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
83. Galletas o <i>cookies</i> integrales (1 galleta)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
84. Magdalenas o bizcochos <u>comerciales</u> (una mediana o ¼ bizcocho)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
85. Croissant, ensaimada, <u>donuts</u> u otra bollería <u>comercial</u> sin relleno (uno mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
86. <u>Bollicao</u> u otra bollería <u>comercial</u> con relleno crema o chocolate (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
87. Otro tipos de repostería <u>casera</u> : pasteles, tartas, (una unidad o porción mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
88. Chocolate, bombones y similares (2 bombones, barritas o pastillas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
89. Chocolate en polvo, <i>Cola-cao</i> y similares (1 cucharada postre colmada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
90. <i>Nocilla</i> o cremas de cacao similares (cucharada sopera o untada bocadillo)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
91. Caramelos y otras chucherías (2-3 unidades, 1 <i>chupa-chup</i> o 1 <i>flig-flag</i>)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
92. Mermeladas, miel (1 cucharada postre)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
93. Azúcar (ej. añadida en leche, yogur, postres, cola-cao, etc.) (1 cucharada postre)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

VII. ACEITES, GRASAS, SALSAS, CONDIMENTOS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
94. Aceite de oliva añadido en la mesa a ensalada, pan y a platos (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
95. Otros aceites vegetales (añadido en mesa): girasol, maíz, soja (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
96. Mantequilla añadida al pan o a la comida (1 cuch. postre, <i>minibrick</i> o 2 untadas)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
97. Margarina añadida a pan/comida (1 cuch-postre) <i>marca</i> _____	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
98. Mayonesa (o <i>alioli</i>) en ensalada, ensaladilla, carnes y otros platos (1 cuch. sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
99. Ketchup ó catchup (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
100. Sal añadida a los platos en la mesa (1 pizca del salero o pellizco con dos dedos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

VIII. BEBIDAS Y MISCELANEAS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
101. Refrescos normales de cola, naranja, limón (ej. <i>coca-cola, fanta</i>) (Uno pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
102. Refrescos sin azúcar cola, naranja, limón (ej. <i>coca-cola o pepsí light</i>) (Uno pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
103. Zumos de frutas envasado (1 vaso o envase tipo <i>brick</i> pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
104. Agua del grifo (1 vaso)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
105. Agua embotellada sin gas (1 vaso)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
¿Consume algún otro alimento al menos una vez a la semana?	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
_____	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
_____	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

16 AGRADECIMIENTOS

La presente tesis no hubiera sido posible sin el apoyo de muchas personas y me gustaría expresar mi gratitud.

En primer lugar, gracias a Jesús Vioque por haberme ofrecido la posibilidad de trabajar con él y su grupo de investigación EPINUT y por dirigir la tesis. Muchas gracias por el tiempo y la dedicación que ha invertido tanto en la tesis como en los artículos científicos en los que se basa. Ha sido un gran placer tanto profesional como personal trabajar durante estos años conjuntamente.

Muchas gracias también a la codirectora de la tesis Eva Navarrete por su apoyo continuo desde que entré en el grupo de investigación. Su ayuda inmediata durante todo el proceso de las investigaciones ha hecho posible que se haya podido llevar a cabo el presente proyecto con éxito.

Gracias también a todos los miembros del grupo EPINUT por su apoyo y ayuda en todo momento y a las personas que trabajan en la UMH que posibilitan con su dedicación la existencia del programa de doctorado.

Además, me gustaría dar las gracias a mi pareja, mis hijas, el resto de mi familia y mis amigos.