

Artículo original

Actividad física y factores de riesgo cardiovascular de niños españoles de 11–13 años

Alfredo Cordova^{a,*}, Gerardo Villa^{b,c}, Antoni Sureda^d, José A. Rodríguez-Marroyo^{b,c} y María P. Sánchez-Collado^e

^a Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología, Facultad de Fisioterapia, Universidad de Valladolid, Soria, España

^b Departamento de Educación Física y Deportiva, Universidad de León, León, España

^c Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León, León, España

^d Grupo de Investigación de Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo, Universidad de Baleares, Illes Balears, España

^e Departamento de Ciencias Biomédicas, Universidad de León, León, España

Historia del artículo:

Recibido el 11 de julio de 2011

Aceptado el 27 de enero de 2012

On-line el 24 de mayo de 2012

Palabras clave:

Sobrepeso infantil

Condición física

Obesidad

Riesgo cardiovascular

Índice de masa corporal

RESUMEN

Introducción y objetivos: La prevalencia de la obesidad infantil ha aumentado en las últimas décadas. El objetivo fue determinar si una intervención durante 3 meses de actividad física desarrollada en la escuela puede reducir la tendencia al sobrepeso y los factores de riesgo derivados de la obesidad en niños.

Métodos: Participaron voluntariamente en el estudio (descriptivo-transversal) 137 niños (media de edad, 12 ± 1 años). Los niños se distribuyeron de manera voluntaria en uno de los siguientes grupos: a) grupo sedentario (2 h/semana de educación física en la escuela); b) grupo activo (2 h/semana de educación física en la escuela, más 3 h/semana extra), y c) grupo de deportes (2 h/semana de educación física en la escuela, más 5 h/semana extra). Se determinaron las características antropométricas, la presión arterial, la condición física (estimada por la prueba de Course-Navette) y los parámetros bioquímicos relacionados con factores de riesgo cardiovascular.

Resultados: El peso, el índice de masa corporal, la circunferencia de la cintura, la suma de pliegues cutáneos, el porcentaje de grasa corporal y el índice de masa grasa de los niños disminuyeron en función del nivel de actividad, mientras que el contenido en agua aumentó con la actividad. Los parámetros relacionados con el riesgo cardiovascular triglicéridos, insulina, presión arterial sistólica e índice *homeostatic model assessment* presentaron valores más bajos en el grupo de deportes. El consumo máximo de oxígeno y la frecuencia cardíaca máxima (prueba de Course-Navette) aumentaron progresivamente con la actividad. Los niños que hicieron un total de 7 h/semana de actividad física presentaron una *odds ratio* significativamente menor de tener elevados los siguientes factores de riesgo cardiovascular: circunferencia de cintura, índice de masa grasa e índice *homeostatic model assessment*.

Conclusiones: La actividad física es esencial para que los niños mantengan un buen estado metabólico de salud. Los niños con mayores niveles de actividad física presentan mejores perfiles antropométricos y bioquímicos.

© 2012 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Physical Activity and Cardiovascular Risk Factors in Spanish Children Aged 11–13 Years

ABSTRACT

Introduction and objectives: The prevalence of childhood obesity has increased in recent decades. The aim was to determine whether a 3-month intervention on daily physical activity at school could affect body weight and cardiovascular risk factors associated with childhood obesity.

Methods: A total of 137 children (12[1] years old) volunteered to participate in an observational cross-sectional study. Children were allowed to join one of the following groups: a) sedentary group (2 h/week of physical education at school); b) active group (2 h/week of physical education at school plus 3 h/week extra physical activity), and c) sports group (2 h/week of physical education at school plus 5 h/week extra physical activity). Anthropometric characteristics, blood pressure, physical condition (estimated by the Course-Navette test), and biochemical parameters related with cardiovascular risk factors were determined.

Results: Body weight, body mass index, waist circumference, sum of skinfold thickness, body fat percentage, and fat mass index of children were decreased with high physical activity level, whereas body water content significantly increased with activity. Parameters related with cardiovascular risk – triglycerides, insulin, systolic blood pressure, and homeostatic model assessment index – presented lower values in the sports group. Maximal oxygen uptake and maximum heart rate (Course Navette test)

Keywords:

Childhood overweight

Physical condition

Obesity

Cardiovascular risk

Body mass index

* Autor para correspondencia: Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología, E.U. Fisioterapia, Universidad de Valladolid, Campus Universitario Duques de Soria s/n, 42004 Soria, España.

Correo electrónico: a.cordova@bio.uva.es (A. Cordova).

progressively increased with activity. Children participating in a total of 7 h/week of physical activity presented significantly lower odds ratio of having high levels of the following cardiovascular risk factors: waist circumference, fat mass index, and homeostatic model assessment index.

Conclusions: Physical activity is important for metabolic health in children. Children with higher levels of physical activity presented better anthropometric and biochemical profiles.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

© 2012 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Abreviaturas

DEP: grupo de deportes
IMC: índice de masa corporal
IMG: índice de masa grasa
PAD: presión arterial diastólica
PAS: presión arterial sistólica
SE: grupo sedentario

INTRODUCCIÓN

La inactividad física es un importante factor de riesgo de enfermedad coronaria. Además, aumenta el riesgo de ictus y otros factores de riesgo cardiovascular importantes, como la obesidad, la presión arterial elevada, la baja concentración de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y la diabetes. Estos parámetros, junto con la hipertensión, la hipertrigliceridemia, la elevación de la glucemia en ayunas y la resistencia a la insulina, se emplean para definir el síndrome metabólico en los adultos^{1,2}.

En los niños, el exceso de peso corporal y el exceso de grasa corporal tienen asociación directa con concentraciones plasmáticas elevadas de insulina, lípidos y lipoproteínas y aumento de la presión arterial^{3,4}. La actividad física de los niños es una medida preventiva y terapéutica que reduce el riesgo de futuras enfermedades cardiovasculares^{5,6}. El aumento mundial de la obesidad de niños y adolescentes que se está produciendo podría atribuirse a una disminución de la actividad física, además de a hábitos de estilo de vida poco saludables^{5,7}. La actividad física puede aportar una mejora de varios factores de riesgo, con reducción de los valores de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y triglicéridos, aumento del cHDL, mejora de la sensibilidad a la insulina y reducción de la presión arterial^{8,9}. Sin embargo, no está del todo claro cuál es la intensidad de ejercicio que resulta útil para prevenir los factores de riesgo cardiovascular ni si tanto el ejercicio moderado como el enérgico son beneficiosos o nocivos.

La obesidad infantil se asocia a elevación de la presión arterial, el colesterol y el índice de masa corporal (IMC) que podría progresar hacia la aparición de enfermedades cardiovasculares prematuras en los adultos¹⁰. De hecho, en varios estudios se han observado diferencias significativas de la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD) entre los niños (de 12-17 años de edad) obesos y los no obesos, y los niños con una presión arterial alta presentaron más riesgo de sufrir hipertensión en su vida adulta¹¹⁻¹³. Los estudios actuales indican que las intervenciones de actividad física realizada en la escuela pueden ser útiles para mejorar los parámetros de salud y las conductas de estilo de vida de niños y adolescentes, lo cual podría conducir a una reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular en la edad adulta¹⁴.

La actividad física regular desempeña un papel importante en el fomento y el mantenimiento de la salud humana. Sin embargo, la contribución de la educación física realizada en la escuela continúa siendo inaceptablemente baja, y el tiempo dedicado al juego libre

va siendo cada vez más escaso. El objetivo del presente estudio es determinar si una intervención de actividad física diaria en la escuela puede asociarse a una reducción del sobrepeso y los factores de riesgo relacionados con la obesidad en los niños.

MÉTODOS

Un total de 330 estudiantes, de tres escuelas de León (España) de características sociodemográficas similares y que disponían de servicio de cafetería, se mostraron interesados en participar en el estudio. Ninguna de las escuelas participantes había aplicado ya un programa de actividad física. Tras la aplicación de los criterios de inclusión/exclusión, participaron en el estudio 137 estudiantes (82 niños y 55 niñas, de entre 11 y 13 años). Todos los participantes tenían el mismo grado de madurez y hábitos similares. Para ser aceptados en el estudio, los niños debían cumplir los criterios del estadio 3 de la escala de Tanner que describe el desarrollo puberal^{15,16}. Esta evaluación del grado de madurez era una cuestión crucial en las comparaciones, puesto que una diferencia de edad cronológica de 1 o 2 años afecta a la condición física, el grado de adiposidad, la composición corporal, el índice HOMA (*homeostatic model assessment*) y el perfil lipídico, dada la hiperinsulinemia fisiológica característica del periodo puberal^{17,18}. Todos estos estudiantes pasaron a formar parte de un grupo caracterizado por un número específico de horas de actividad física en la escuela y en la práctica deportiva extraescolar y semanal. En vez de utilizar una preasignación a un grupo, los niños se distribuyeron en tres grupos en función de la decisión de sus padres de inscribirlos en programas escolares de deporte adicionales: a) grupo sedentario (SE), que realizaban 2 h por semana de educación física en la escuela según las normas del Ministerio de Educación (n = 45); b) grupo activo (AC), también con 2 h semanales de educación física en la escuela más otras 3 h de actividad física adicional (n = 61), y c) grupo de deportes (DEP), que añadía 5 h/semana de actividad física a las 2 h de actividad física semanal en la escuela (n = 31). Al SE se lo consideró grupo control. Los tres grupos estaban en el mismo año académico y la duración de la participación en el programa de actividad física fue la misma para todos los participantes. La primera entrevista con los niños y los padres se realizó durante el mes de septiembre (inicio de las clases en la escuela) para decidir su inclusión o exclusión. Los padres respondieron a un cuestionario general que incluía las siguientes preguntas: nivel de estudios de los padres (años y tipo de estudios: bajo, < 6 años de escolarización; medio, 6-12 años; alto, > 12 años de estudios) y posición socioeconómica (según la profesión y clasificada como baja, media o alta según la metodología descrita por la Sociedad Española de Epidemiología)¹⁹. Los datos de los estudiantes participantes (características antropométricas, condición física y parámetros bioquímicos relacionados con los factores de riesgo cardiovascular) se obtuvieron durante las últimas dos semanas de noviembre, lo cual garantizaba 3 meses de participación en el programa de actividad física (los programas se iniciaron al mismo tiempo que las clases).

Se obtuvo el consentimiento informado de los padres o tutores y se exigió un informe médico completo para la participación. Ninguno de los niños tenía antecedentes personales ni familiares

de diabetes. Los estudiantes completaron un cuestionario sobre estilo de vida, hábitos alimentarios y actividad deportiva. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: falta de interés por el programa, diagnóstico de diabetes y tratamiento con glucocorticoides, fármacos sensibilizantes a la insulina, psicotrópicos y, en general, fármacos con efecto en el control del apetito, así como el hecho de no comer en el comedor de la escuela o no mantener un buen estilo de vida.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de León y por el consejo escolar de cada escuela. Finalmente, los padres dieron su consentimiento informado y firmado.

Al inicio del periodo de estudio, se llevó a cabo una evaluación de la dieta. Se obtuvo un registro de la alimentación de 4 días (incluido un fin de semana) de todos los niños participantes, con la ayuda de sus padres. Los registros alimentarios correspondientes al consumo total de calorías y de macronutrientes se analizaron con el programa informático Alimentación y salud v2.0, aplicando tablas estándar de los alimentos para las poblaciones españolas. Este programa calcula la composición de la dieta y, concretamente, el porcentaje de ácidos grasos.

El peso se determinó con una báscula calibrada (Seca 703[®], Alemania). La estatura se determinó con un estadiómetro (Detecto D52[®], Estados Unidos). Se calculó el IMC con la fórmula tradicional basada en dividir el peso en kilogramos por el cuadrado de la talla en metros. Se calculó el porcentaje de grasa corporal y de agua corporal con un análisis de impedancia bioeléctrico (Biodynamics 310[®], Estados Unidos)²⁰. Los datos de porcentaje de grasa corporal y estatura se utilizaron para el cálculo del índice de masa grasa (IMG). El peso normal y el sobrepeso se establecieron con el empleo de valores de corte en adolescentes, específicos para cada sexo: 4,58 los niños y 7,76 las niñas²¹. El grosor del pliegue cutáneo se midió con una aproximación de 0,1 cm utilizando un calibrador Harpenden[®] en las regiones del lado izquierdo del cuerpo de bíceps, tríceps, subescapular, suprailíaca, abdominal, parte frontal del muslo (cuádriceps), pantorrilla y axila con el brazo relajado. Las mediciones del grosor del pliegue cutáneo se realizaron tres veces y se utilizó el valor medio para los análisis. Para la medición del perímetro de cintura, se indicó a los participantes que se mantuvieran erguidos y en una posición relajada, con los dos pies juntos en una superficie plana. El perímetro de cintura, medido con una cinta métrica, se definió como la menor circunferencia horizontal entre los rebordes costales y las crestas ilíacas al final de una espiración normal.

Se efectuaron tres determinaciones de la PAS y la PAD por la mañana (a las 8.00) antes del desayuno. Para determinar la condición física de los niños, se estimó el estado físico cardiorespiratorio mediante prueba de Course-Navette durante la clase de educación física²². Se registró la frecuencia cardíaca cada 5 s (Polar Electro Oy[®], Finlandia) durante la prueba de Course-Navette para determinar el valor máximo de frecuencia cardíaca alcanzado.

Para la determinación de los parámetros bioquímicos relacionados con la salud y los factores de riesgo cardiovascular, se obtuvieron por la mañana muestras de sangre en ayunas mediante punción en una vena antecubital. Tras el procesamiento de la muestra, se determinaron las concentraciones séricas de colesterol total, triglicéridos, cHDL, cLDL y glucosa con el empleo de métodos espectrofotométricos en un autoanalizador (Roche/Hitachi 917[®], Japón). Se calculó el índice aterogénico mediante el cociente LDL/HDL. Los valores de insulina se determinaron mediante radioinmunoanálisis (Linco Research, St. Charles, Missouri, Estados Unidos) en el laboratorio del Hospital Central de León. Se calculó el índice HOMA a partir de los valores de insulina en ayunas en $\mu\text{UI/ml}$ (IF) y de glucosa en mmol/l (GF): $\text{HOMA} = (\text{IF} \times \text{GF}) / 22,5$. El índice HOMA se ha validado anteriormente frente al *clamp* euglucémico²³.

Análisis estadísticos

Se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar que los resultados seguían una distribución de Gauss. Las diferencias significativas en los parámetros evaluados se determinaron con el empleo de un análisis de la varianza de una vía. Se utilizó un análisis de Newman-Keuls *post-hoc* para el ajuste del valor de *p* respecto a las diferencias entre los grupos por la realización de comparaciones múltiples. Los valores se expresaron en forma de media $\pm$ desviación estándar y se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. Se utilizó un análisis de regresión logística multivariable para evaluar la asociación entre los niveles de actividad física y los factores de riesgo cardiovascular y el porcentaje de sobrepeso. Las estimaciones se presentan en forma de *odds ratio* e intervalo de confianza del 95%. En todos los análisis estadísticos se introdujo un ajuste respecto a las variables sexo, edad, tipo de escuela, curso académico y posición socioeconómica. Se utilizaron modelos de regresión logística múltiple con contraste polinómico para generar valores de *p* para la tendencia. Los valores de corte elegidos para dicotomizar los factores de riesgo cardiovascular son los siguientes: sobrepeso, incluida la obesidad ($\text{IMC} > 25$ para la edad y el sexo), perímetro de cintura ($>$ percentil 75 para la edad y el sexo), IMG (niños, $> 4,58$; niñas, $> 7,76$), glucemia en ayunas ($> 110 \text{ mg/dl}$), triglicéridos ($> 110 \text{ mg/dl}$), cHDL ($< 40 \text{ mg/dl}$) y PAS o PAD ($>$ percentil 90)^{21,24}. Los porcentajes de sobrepeso y obesidad se calcularon con los datos de IMC internacionales combinados²⁵. El programa informático utilizado para el análisis estadístico fue Statistica v. 5.0 (StatSoft Inc.; Tulsa, Oklahoma, Estados Unidos).

RESULTADOS

Los hábitos nutricionales fueron similares en los tres grupos estudiados (datos no presentados). No se observaron diferencias significativas en el consumo total de energía ni en el porcentaje de hidratos de carbono, grasas y proteínas. Los niños de todos los grupos tenían una alimentación con elevado contenido calórico de grasas y proteínas, pero con escasa ingesta de hidratos de carbono.

En la [tabla 1](#) se muestran las diferencias de peso, altura, IMC, porcentaje de grasa corporal, masa libre de grasa, IMG y agua corporal determinados al final del periodo de 3 meses en los tres grupos estudiados. El peso fue significativamente inferior en los grupos activos (AC y DEP) en comparación con SE (el 5% inferior para AC frente a SE, y el 10% inferior para DEP frente a SE), mientras que no se evidenciaron diferencias significativas en la estatura. El IMC y el perímetro de cintura disminuyeron con el nivel de actividad, con diferencias significativas en el DEP respecto al SE en cuanto a IMC y respecto a los grupos SE y AC en cuanto al perímetro de cintura. El grosor de pliegue cutáneo $\Sigma 6$ se redujo también con el nivel de actividad, con diferencias significativas en los grupos DEP y AC respecto al SE, y los valores fueron también significativamente inferiores en el DEP en comparación con los del AC. El índice de masa libre de grasa no indicó diferencias significativas, mientras que el porcentaje de grasa corporal fue menor en el DEP que en el SE. El IMG fue menor en el DEP que en el AC, y tanto en el AC como en el DEP fue inferior al del SE. Y a la inversa, el contenido de agua corporal aumentó significativamente con el nivel de actividad, con valores superiores en el DEP.

En la [tabla 2](#) se resumen los parámetros bioquímicos relacionados con la salud y los factores de riesgo cardiovascular. El colesterol total y sus fracciones (cHDL y cLDL), el índice aterogénico y la concentración de glucosa no mostraron diferencias significativas.

Por lo que respecta a los triglicéridos, el parámetro más relacionado con la dieta, el DEP presentó unos valores un 15% inferiores a los del SE.

Tabla 1

Datos antropométricos de niños de 11 a 13 años de edad (n = 137) de tres escuelas diferentes

	Grupo sedentario (n = 45)	Grupo activo (n = 31)	Grupo de deportes (n = 61)	p
Peso (kg)	51,5 ± 6,7	48,6 ± 6,2 ^a	46,3 ± 7 ^a	0,001
Talla (cm)	157 ± 7	156 ± 5,6	158 ± 7,8	0,471
IMC	22,8 ± 12,1	19,9 ± 2,2	18,5 ± 6,3 ^a	0,037
Perímetro de cintura (cm)	73,2 ± 6	71,2 ± 5,7	68,5 ± 6,2 ^{a,b}	0,001
Grosor de pliegue cutáneo Σ6 (mm)	78,9 ± 22,1	67,3 ± 18,9 ^a	54,2 ± 22,6 ^{a,b}	< 0,001
MLG (%)	77,4 ± 4,7	79,2 ± 6,7	82,2 ± 4,7	0,128
Grasa corporal (%)	22,7 ± 4,6	19,8 ± 4,5	17,5 ± 5,5 ^a	0,030
IMG	4,74 ± 0,40	3,95 ± 0,34 ^a	3,25 ± 0,40 ^{a,b}	< 0,001
H ₂ O (%)	57 ± 4,7	59,8 ± 6,7	62,9 ± 7,1 ^a	0,012

IMC: índice de masa corporal; IMG: índice de masa grasa; MLG: masa libre de grasa.

^a Diferencias significativas en comparación con los niños sedentarios (p < 0,05).^b Diferencias significativas en comparación con los niños activos (p < 0,05).

Medidas antropométricas en tres grupos de niños según la actividad física ajustada respecto a sexo, edad, tipo de escuela, año académico y posición socioeconómica de ambos padres. Los datos se presentan en forma de media ± desviación estándar.

Tabla 2

Parámetros bioquímicos relacionados con la salud y factores de riesgo cardiovascular de los niños de 11 a 13 años de edad (n = 137) de tres escuelas diferentes

	Grupo sedentario (n = 45)	Grupo activo (n = 31)	Grupo de deportes (n = 61)	p
Colesterol total (mg/dl)	167 ± 21	173 ± 17	172 ± 31	0,380
HDL (mg/dl)	61 ± 9,4	63,3 ± 9,5	65,5 ± 13,3	0,191
LDL (mg/dl)	92,3 ± 14,8	96,6 ± 13,9	94,9 ± 21,1	0,241
Índice aterogénico	2,86 ± 0,54	2,78 ± 0,34	2,72 ± 0,47	0,653
Triglicéridos (mg/dl)	69,6 ± 18,2	65,2 ± 17,1	58,7 ± 17,2 ^a	0,010
Glucosa (mg/dl)	86,8 ± 8,1	86,4 ± 4,4	85,8 ± 6,2	0,390
Insulina (μUI/ml)	15,5 ± 9,5	11,4 ± 2,8 ^a	9,1 ± 3,1 ^{a,b}	< 0,001
HOMA-IR	3,5 ± 2,7	2,4 ± 0,5 ^a	1,9 ± 0,8 ^{a,b}	< 0,001

HDL: lipoproteínas de alta densidad; HOMA-IR: *homeostatic model assessment of insulin resistance*; LDL: lipoproteínas de baja densidad.^a Diferencias significativas en comparación con los niños sedentarios (p < 0,05).^b Diferencias significativas en comparación con los niños activos (p < 0,05).

Parámetros bioquímicos en tres grupos de niños según la actividad física ajustada respecto a sexo, edad, tipo de escuela, año académico y posición socioeconómica de ambos padres. Los datos se presentan en forma de media ± desviación estándar.

En lo relativo a la insulina, se observó una reducción significativa en ambos grupos activos respecto al SE (el 26% en el AC y el 41% en el DEP). Estos datos están relacionados con el índice HOMA, que se redujo en un 31% en el AC y un 45% en el DEP.

En la [tabla 3](#) se presentan los parámetros de actividad física y los datos de presión arterial. Los valores de consumo máximo de oxígeno (VO_{2máx}) y de frecuencia cardiaca máxima en la prueba de Course-Navette aumentaron en los grupos AC y DEP. La PAS presentó valores similares en los grupos SE y AC, pero fue inferior en el DEP en comparación con los grupos SE y AC. No se evidenciaron diferencias significativas en la PAD.

En la [figura](#) se presenta la frecuencia cardiaca media durante la actividad física en los tres grupos estudiados durante la actividad

escolar y extraescolar. Al analizar la frecuencia cardiaca durante la actividad física obligatoria programada y durante la actividad física extraescolar, se observó un aumento de los valores en los grupos AC y DEP. Los niños sedentarios tenían una frecuencia cardiaca baja durante la actividad física extraescolar en comparación con la observada en la actividad física obligatoria en la escuela.

En la [tabla 4](#) se muestra la prevalencia de sobrepeso y obesidad y la relación entre los factores de riesgo cardiovascular y los niveles de actividad física. Hacer más ejercicio se asoció a una prevalencia significativamente menor de valores elevados de perímetro de cintura, IMG e índice HOMA-IR (*homeostatic model assessment of insulin resistance*). Aunque hay menor prevalencia de PAS alta, sobrepeso y obesidad en relación con el ejercicio, la tendencia no

Tabla 3

Estado físico cardiorrespiratorio y presión arterial de niños de 11 a 13 años de edad (n = 137) de tres escuelas diferentes

	Grupo sedentario (n = 45)	Grupo activo (n = 31)	Grupo de deportes (n = 61)	p
VO _{2máx} (ml/kg/min)	31,4 ± 4,1	34,9 ± 3,4 ^a	42,7 ± 4,8 ^{a,b}	< 0,001
FC _{máx} en la prueba de Course-Navette (lpm)	194 ± 28	201 ± 7 ^a	202 ± 9 ^a	0,043
Presión arterial sistólica (mmHg)	114 ± 15	113 ± 7	108 ± 17 ^{a,b}	0,031
Presión arterial diastólica (mmHg)	65,1 ± 7,4	66,3 ± 7,4	63,2 ± 7,1	0,667

FC_{máx}: frecuencia cardiaca máxima; VO_{2máx}: consumo máximo de oxígeno.^a Diferencias significativas en comparación con los niños sedentarios (p < 0,05).^b Diferencias significativas en comparación con los niños activos (p < 0,05).

Estado físico cardiorrespiratorio y presión arterial en tres grupos de niños según la actividad física ajustada respecto a sexo, edad, tipo de escuela, año académico y posición socioeconómica de ambos padres. Los datos se presentan en forma de media ± desviación estándar.

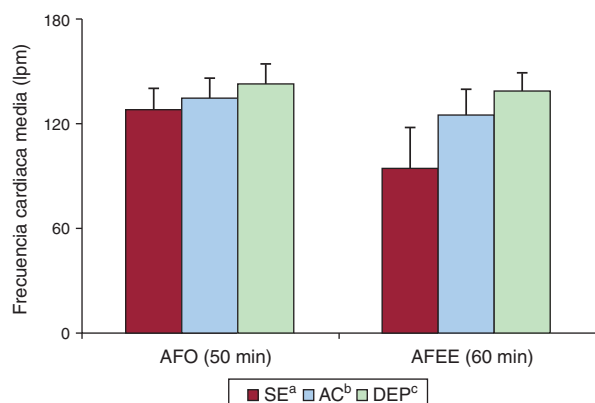


Figura. Frecuencia cardiaca media en ejercicio de niños entre 11 y 13 años de edad ($n = 137$) de tres escuelas distintas: durante actividad física obligatoria (50 min) y actividad física extraescolar (60 min) en los tres grupos estudiados (grupo sedentario, grupo activo, grupo de deportes). Los datos se presentan en forma de media $\pm$ desviación estándar. AC: grupo activo; AFEE: actividad física extraescolar; AFO: actividad física obligatoria; DEP: grupo de deportes; lpm: latidos por minuto; SE: grupo sedentario. ^aDiferencias significativas entre la actividad física obligatoria y la extraescolar. ^bDiferencias significativas en comparación con los niños sedentarios ($p < 0,05$). ^cDiferencias significativas en comparación con los niños activos ($p < 0,05$).

alcanzó significación estadística. No se observó asociación alguna entre los valores de triglicéridos, glucosa, cHDL y PAD.

DISCUSIÓN

La función de la familia y el entorno en el nivel de actividad física está claramente descrita²⁶, al igual que la de los factores demográficos y socioambientales y del entorno físico-ambiental, entre otros²⁷. Las características sociodemográficas de las escuelas seleccionadas eran similares (comunidad autónoma de Castilla y León, España), al igual que lo eran las posibilidades de actividad física y deporte extraescolares. Con objeto de reducir al mínimo la influencia de la nutrición, en este estudio participaron solamente estudiantes que utilizaban diariamente los menús estándar de la escuela, supervisados por el asesor de salud.

Hay evidencia clara de que la actividad física es beneficiosa para la salud y produce una reducción de los factores de riesgo cardiovascular y de la enfermedad cardiovascular, al tiempo que mejora la composición corporal. En estudios previos se ha observado que las intervenciones aplicadas en la escuela pueden mejorar los factores de riesgo cardiovascular y reducir la obesidad de los niños²⁸⁻³⁰. Los resultados del presente estudio ponen de manifiesto que la actividad física realizada por los niños sedentarios y los activos no alcanza una frecuencia cardiaca saludable. Se considera que la actividad física es moderada cuando está entre 3 y 6 MET (> 6 es ejercicio intenso) o cuando alcanza un 50-60% de la frecuencia cardiaca máxima teórica (que en el presente estudio sería alrededor de 125 lpm). Sólo el DEP acumuló una cantidad significativa de minutos de actividad física moderada³¹. Se ha establecido claramente aumentar el número de horas de actividad física, en especial la de carácter moderado-intenso, produce efectos beneficiosos en la salud (reducción de los factores de riesgo, menos cantidad de grasa, mejor perfil lipídico y mayor consumo de oxígeno o mejor forma física)^{31,32}. Los bajos valores de $VO_{2m\acute{a}x}$ alcanzados por los grupos SE y AC están por debajo del valor de corte de $VO_{2m\acute{a}x}$ que se considera el mínimo saludable para los niños europeos y estadounidenses. Además, se observó que los niños que hacían menos ejercicio tenían problemas para alcanzar la frecuencia cardiaca máxima teórica ($220 - \text{edad}$), que es un indicador del esfuerzo que pueden llevar a cabo. Los deportistas son los únicos en quienes es seguro que tienen $VO_{2m\acute{a}x}$ superior al valor de corte y, por consiguiente, mejor salud. De hecho, un valor más elevado de $VO_{2m\acute{a}x}$ a esas edades está directamente relacionado con mejor condición física en la edad adulta^{22,32}. Los deportistas tienen también una frecuencia cardiaca en reposo significativamente inferior, lo cual es característico de su mejor condición física, y ello asegura una mejor reserva de frecuencia cardiaca para el esfuerzo, con lo que disminuye la posibilidad de una tensión cardiovascular asociada al ejercicio.

Por lo que respecta a la composición corporal, los valores de IMC fueron significativamente inferiores en el DEP. La media de IMC de los deportistas fue 18, cifra similar a la que existía en los años ochenta y noventa (antes de la epidemia de obesidad y la introducción del *fast-food* en España). Aunque los valores de IMC en el SE (IMC = 22) no eran indicativos de sobrepeso, esto se asociaba a mayor porcentaje de grasa corporal, peor condición

Tabla 4
Prevalencia de sobrepeso y obesidad y factores de riesgo cardiovascular relacionados con la actividad física de niños de 11 a 13 años de edad ($n = 137$) de tres escuelas diferentes

	Grupo sedentario ($n = 45$)	Grupo activo ($n = 31$)	Grupo de deportes ($n = 61$)	Tendencia, p
Prevalencia de sobrepeso (%)	21,2	20,4	9,8	0,291
Prevalencia de obesidad (%)	11,5	7,4	2,4	0,254
Criterios de riesgo cardiovascular				
Sobrepeso (obesidad incluida; IMC > 25 para edad y sexo)	1	0,82 (0,31-2,15)	0,32 (0,10-1,11)	0,173
Perímetro de cintura ($>$ percentil 75 para edad y sexo)	1	0,96 (0,65-2,23)	0,39 (0,15-1,02)	0,042
IMG (niños, $> 4,58$; niñas, $> 7,76$)	1	0,49 (0,18-1,06)	0,28 (0,10-0,83)	0,037
Glucemia en ayunas (> 110 mg/dl)	1	0,98 (0,77-1,37)	0,97 (0,75-1,43)	0,998
Triglicéridos (> 110 mg/dl)	1	0,99 (0,57-1,76)	0,96 (0,49-1,68)	0,958
HDL (< 40 mg/dl)	1	0,97 (0,57-3,37)	0,49 (0,03-2,14)	0,793
HOMA-IR ($> 2,5$)	1	0,74 (0,29-1,86)	0,07 (0,02-0,25)	0,001
PAS ($>$ percentil 90 para edad, sexo y talla)	1	0,97 (0,38-2,30)	0,29 (0,08-1,04)	0,114
PAD ($>$ percentil 90 para edad, sexo y talla)	1	0,54 (0,27-3,08)	0,56 (0,30-3,60)	0,564

HDL: lipoproteínas de alta densidad; HOMA-IR: *homeostatic model assessment of insulin resistance*; IMC: índice de masa corporal; IMG: índice de masa grasa; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.

La prevalencia de sobrepeso y obesidad y la regresión logística multivariable se ajustaron respecto a sexo, edad, tipo de escuela, año académico y posición socioeconómica de ambos padres. Las cifras entre paréntesis muestran los intervalos de confianza del 95%. Se utilizaron modelos de regresión logística múltiple con contraste polinómico para generar valores de p para la tendencia.

física y unos factores de riesgo cardiovascular (presión arterial, perfil lipídico, HOMA) más desfavorables. El SE presentaba también más adiposidad central y periférica, lo que está directamente relacionado con el riesgo de enfermedad, enfermedad cardiovascular crónica, diabetes y obesidad en los adultos^{18,33}. Los valores de IMG fueron reduciéndose progresivamente con la actividad física. Recientemente se ha descrito que el IMG resultó más exacto que el IMC para la detección sistemática del sobrepeso²¹. El IMG es una medida útil para evaluar los parámetros de composición corporal, pues elimina de manera efectiva las diferencias de grasa corporal asociadas a la estatura³⁴.

El porcentaje de contenido de agua corporal y la masa libre de grasa fueron significativamente mayores, en correspondencia con el mayor número de horas de actividad física, mientras que la masa grasa se redujo. Dado que la masa grasa no acumula casi nada de agua, su reducción lleva a un valor más elevado del porcentaje de agua corporal. Nuestros resultados son similares a los de estudios previos en los que se ha examinado la relación entre actividad física, sobrepeso y obesidad y aumento del gasto y el transporte de energía^{35,36}. Un aumento de la masa muscular implica mayor cantidad de músculo para realizar un mayor gasto energético durante el ejercicio y después de él (aumento del gasto de energía en reposo), lo cual se asocia a menor adiposidad y mejora del $VO_{2\text{máx}}$, la condición física y la fuerza muscular. En la génesis del síndrome metabólico intervienen cinco factores de riesgo: adiposidad abdominal, triglicéridos, HDL/LDL, presión arterial y conducta sedentaria (h/min de actividad física como mínimo moderada). Sobre adolescentes españoles, se han descrito asociaciones significativas entre el estado físico cardiorespiratorio y el perfil lipídico del plasma (colesterol y triglicéridos), el estado inflamatorio, la adiposidad abdominal, la grasa corporal, la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la hipertensión³⁷⁻³⁹. Cada aumento de 1 MET eleva la esperanza de vida en un 12% para los varones y un 17% para las mujeres. El valor bajo de $VO_{2\text{máx}}$ se asocia a resistencia a la insulina⁴⁰, mientras que los valores entre 37,0 y 42,1 ml/kg/min en los niños se consideran asociados a un riesgo metabólico bajo. En el presente estudio, sólo el DEP presentó cifras de $VO_{2\text{máx}}$ situadas en la franja de valores seguros. Actualmente el sedentarismo está superando al consumo de tabaco como principal causa de muerte prevenible⁴¹. La mejora del estado físico cardiovascular en la infancia es esencial para la posterior adherencia a una actividad física regular en la edad adulta⁴².

Practicar gran actividad física condujo a unos valores más bajos de PAS y PAD, lo cual reduciría la probabilidad de sufrir hipertensión³³. Se ha señalado que la hipertensión y un perfil lipídico alterado (HDL bajas/LDL altas) se asocian a una aterogénesis temprana en la íntima de las arterias de los niños³³. Múltiples estudios han puesto de manifiesto que el aumento de la actividad física y su intensidad se asocian a un mejor perfil lipídico^{33,37}. Sin embargo, estos datos no mostraron diferencias significativas del colesterol y las lipoproteínas, si bien en el DEP tendió a haber cifras más altas de HDL y más bajas de LDL y valores de triglicéridos significativamente menores.

Estos resultados ponen de manifiesto que, aunque los niños sedentarios y activos presentaban indicadores de obesidad y de glucemia situados dentro del rango normal, tenían una concentración de insulina elevada. Además, el indicador de homeostasis HOMA-IR, que refleja la resistencia a la insulina directamente relacionada con sobrepeso y obesidad y la diabetes, mostró un aumento significativo en los niños menos activos. Tresaco et al han establecido un valor de corte de HOMA para niños (HOMA 3,0 o 3,2) con el que está relacionado el desarrollo temprano de un síndrome metabólico⁴³. En el SE, el valor de HOMA fue 3,5, mientras que en el AC, con el doble de horas de actividad física, fueron 2,4. El DEP mostró valores de HOMA significativamente reducidos (hasta 1,8)

que están lejos de los de cualquier factor de riesgo asociado a la resistencia a la insulina. Es importante resaltar que, tanto en los adultos como en los niños, la hiperinsulinemia está presente años antes de que se produzca un cambio en la secreción de insulina. En consecuencia, la *American Heart Association* recomienda determinar los valores de insulina y glucosa en ayunas para evaluar el riesgo de resistencia a la insulina infantil, sobre todo en las niñas con menarquia temprana, debido a la tendencia al sobrepeso y, por consiguiente, el aumento del riesgo cardiovascular⁴⁴. Además, diferentes estudios prospectivos han establecido una correlación clara entre la hiperinsulinemia y la elevación del índice HOMA y el aumento del riesgo de hipertensión y diabetes en el adulto^{45,46}. En consonancia con lo indicado por estudios previos, nuestros resultados muestran una clara relación entre la resistencia a la insulina y los factores involucrados en el riesgo de sufrir un síndrome metabólico.

Como se ha mencionado, el síndrome metabólico en los niños puede diagnosticarse con la obesidad abdominal y la presencia de dos o más manifestaciones clínicas. Sin embargo, por lo que respecta al perfil lipídico, los resultados no indican diferencias en cuanto a los valores de colesterol total o índice aterogénico, principalmente debido a que su presencia indicaría enfermedad ya en curso. Sin embargo, un estado de mayor actividad conllevó una concentración de triglicéridos baja. Este hecho es importante, puesto que está directamente asociado a la resistencia a la insulina y puede ser un parámetro fácil de determinar y predictor del riesgo. Esta asociación se atribuye a la acción de la insulina sobre el metabolismo de las lipoproteínas. La resistencia a la insulina reduce la actividad de la lipoproteinlipasa, lo que da lugar a una disminución del metabolismo de los triglicéridos, junto con un aumento de la lipólisis en el tejido adiposo y un incremento de la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad en el hígado⁴⁷.

La inactividad física, que es un determinante conocido del estado de salud, es el resultado de un cambio progresivo del estilo de vida hacia patrones más sedentarios en los países desarrollados. Los resultados del presente estudio muestran una asociación entre la práctica de la actividad física y la reducción de los factores de riesgo cardiovascular (perímetro de cintura, IMG, PAS y HOMA-IR), lo cual refleja la importancia del ejercicio de los niños para prevenir el sobrepeso y la obesidad. Estos resultados concuerdan con los de otros estudios en que se ha descrito un aumento de la *odds ratio* de síndrome metabólico relacionado con la inactividad^{24,48}.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio ponen de manifiesto que los niños con más actividad física presentaron mejores valores del perfil antropométrico y bioquímico relacionados con el riesgo cardiovascular, lo cual indica que la actividad física es importante para la salud metabólica en los niños. El aumento de la actividad física fuera de la escuela puede ser un mecanismo eficaz para incrementar dicha actividad y mejorar los factores de salud cardiovascular y la composición corporal de los niños.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002;287:356-9.

2. International Diabetes Federation. The IDF Consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Bruselas: IDF Communications; 2006. Disponible en: <http://www.idf.org/metabolic-syndrome>
3. Weiss R, Dufour S, Taksali SE, Tamborlane WV, Petersen KF, Bonadonna RC, et al. Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance, and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Lancet*. 2003;362:951-7.
4. Schiel R, Beltschikow W, Kramer G, Stein G. Overweight, obesity and elevated blood pressure in children and adolescents. *Eur J Med Res*. 2006;11:97-101.
5. Fuster V, Topol EJ, Nabel EG. Atherothrombosis and coronary artery disease. Nueva York: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
6. García-Ortiz L, Grandes G, Sánchez-Pérez A, Montoya I, Iglesias-Valiente JA, Recio-Rodríguez JI, et al. Efecto en el riesgo cardiovascular de una intervención para la promoción del ejercicio físico en sujetos sedentarios por el médico de familia. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63:1244-52.
7. Meseguer CM, Galán I, Herruzo R, Rodríguez-Artalejo F. Tendencias de actividad física en tiempo libre y en el trabajo en la Comunidad de Madrid, 1995-2008. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:21-7.
8. Helmrigh SP, Ragland DR, Leung RW, Paffenbarger Jr RS. Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1991;325:147-52.
9. Salazar VB, Rodríguez MM, Guerrero RF. Biochemical factors associated to cardiovascular risk among children and adolescents. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2005;43:299-303.
10. Chen JL, Wu Y. Cardiovascular risk factors in Chinese American children: associations between overweight, acculturation, and physical activity. *J Pediatr Health Care*. 2008;22:103-10.
11. Lauer RM, Clarke WR, Mahoney LT, Witt J. Childhood predictors for high adult blood pressure. The Muscatine Study. *Pediatr Clin North Am*. 1993;40:23-40.
12. American College of Sports Medicine, Durstine JL. ACSM's resource manual for guidelines for exercise testing and prescription. 2.^a ed. Filadelfia, PA, EE. UU.: Lea & Febiger; 1994.
13. Field AE, Cook NR, Gillman MW. Weight status in childhood as a predictor of becoming overweight or hypertensive in early adulthood. *Obes Res*. 2005;13:163-9.
14. Dobbins M, De Corby K, Robeson P, Husson H, Tirilis D. School-based physical activity programs for promoting physical activity and fitness in children and adolescents aged 6-18. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;CD007651.
15. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*. 1969;44:291-303.
16. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*. 1970;45:13-23.
17. Ortega FB, Ruiz JR, Sjostrom M. Physical activity, overweight and central adiposity in Swedish children and adolescents: the European Youth Heart Study. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2007;4:61.
18. Rizzo NS, Ruiz JR, Hurtig-Wennlof A, Ortega FB, Sjostrom M. Relationship of physical activity, fitness, and fatness with clustered metabolic risk in children and adolescents: the European youth heart study. *J Pediatr*. 2007;150:388-94.
19. Álvarez-Dardet C, Alonso J, Domingo A, Regidor E; Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Epidemiología. La medición de la clase social en ciencias de la salud. Barcelona: SG Editores; 1995.
20. Kushner RF, Schoeller DA. Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis. *Am J Clin Nutr*. 1986;44:417-24.
21. Alvero-Cruz JR, Álvarez-Carnero E, Fernández-García JC, Barrera Expósito J, Carrillo de Albornoz Gil M, Sardinha LB. Validez de los índices de masa corporal y de masa grasa como indicadores de sobrepeso en adolescentes españoles: estudio Escola. *Med Clin (Barc)*. 2010;135:8-14.
22. Ruiz JR, Castro-Pinero J, Artero EG, Ortega FB, Sjostrom M, Suni J, et al. Predictive validity of health-related fitness in youth: a systematic review. *Br J Sports Med*. 2009;43:909-23.
23. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. An increase in insulin sensitivity and basal beta-cell function in diabetic subjects treated with pioglitazone in a placebo-controlled randomized study. *Diabet Med*. 2004;21:568-76.
24. Aboul Ella NA, Shehab DI, Ismail MA, Maksoud AA. Prevalence of metabolic syndrome and insulin resistance among Egyptian adolescents 10 to 18 years of age. *J Clin Lipidol*. 2010;4:185-95.
25. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000;320:1-6.
26. Katzmarzyk PT, Baur LA, Blair SN, Lambert EV, Oppert JM, Riddoch C. Expert panel report from the international conference on physical activity and obesity in children, 24-27 June 2007. Toronto, Ontario: summary statement and recommendations. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008;33:371-88.
27. Lytle LA. Examining the etiology of childhood obesity: the IDEA study. *Am J Community Psychol*. 2009;44:338-49.
28. Harrell JS, McMurray RG, Gansky SA, Bangdiwala SI, Bradley CB. A public health vs a risk-based intervention to improve cardiovascular health in elementary school children: the Cardiovascular Health in Children Study. *Am J Public Health*. 1999;89:1529-35.
29. Snyder P, Anliker J, Cunningham-Sabo L, Dixon LB, Altaia J, Chamberlain A, et al. The Pathways study: a model for lowering the fat in school meals. *Am J Clin Nutr*. 1999;69:S810-5.
30. Martínez Vizcaino V, Salcedo Aguilar F, Franquelo Gutiérrez R, Solera Martínez M, Sánchez López M, Serrano Martínez S, et al. Assessment of an after-school physical activity program to prevent obesity among 9- to 10-year-old children: a cluster randomized trial. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32:12-22.
31. Ortega FB, Ruiz JR, Hurtig-Wennlof A, Sjöström M. Los adolescentes físicamente activos presentan una mayor probabilidad de tener una capacidad cardiovascular saludable independientemente del grado de adiposidad. The European Youth Heart Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:123-9.
32. Lobelo F, Pate RR, Dowda M, Liese AD, Ruiz JR. Validity of cardiorespiratory fitness criterion-referenced standards for adolescents. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41:1222-9.
33. Ruiz JR, Ortega FB, Warnberg J, Sjostrom M. Associations of low-grade inflammation with physical activity, fitness and fatness in prepubertal children; the European Youth Heart Study. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31:1545-51.
34. Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol*. 1998;147:755-63.
35. Ortega FB, Ruiz JR, Castillo MJ, Sjostrom M. Physical fitness in childhood and adolescence: a powerful marker of health. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32:1-11.
36. Elbelt U, Schuetz T, Hoffmann I, Pirlich M, Strasburger CJ, Lochs H. Differences of energy expenditure and physical activity patterns in subjects with various degrees of obesity. *Clin Nutr*. 2010;29:766-72.
37. Ruiz JR, Ortega FB, Tresaco B, Warnberg J, Mesa JL, González-Gross M, et al. Serum lipids, body mass index and waist circumference during pubertal development in Spanish adolescents: the AVENA Study. *Horm Metab Res*. 2006;38:832-7.
38. Lee SJ, Arslanian SA. Cardiorespiratory fitness and abdominal adiposity in youth. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61:561-5.
39. Martínez-Vizcaino V, Sánchez-López M. Relación entre actividad física y condición física en niños y adolescentes. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:108-11.
40. Assah FK, Brage S, Ekelund U, Wareham NJ. The association of intensity and overall level of physical activity energy expenditure with a marker of insulin resistance. *Diabetologia*. 2008;51:1399-407.
41. Mokdad AH, Giles WH, Bowman BA, Mensah GA, Ford ES, Smith SM, et al. Changes in health behaviors among older Americans, 1990 to 2000. *Public Health Rep*. 2004;119:356-61.
42. Leary SD, Ness AR, Smith GD, Mattocks C, Deere K, Blair SN, et al. Physical activity and blood pressure in childhood: findings from a population-based study. *Hypertension*. 2008;51:92-8.
43. Tresaco B, Bueno G, Moreno LA, Garagorri JM, Bueno M. Insulin resistance and impaired glucose tolerance in obese children and adolescents. *J Physiol Biochem*. 2003;59:217-23.
44. Steinberger J, Daniels SR. Obesity, insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk in children. *Circulation*. 2003;107:1448-53.
45. Modan M, Halkin H, Almog S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, et al. Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest*. 1985;75:809-17.
46. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001;24:683-9.
47. Riemens SC, Van Tol A, Scheek LM, Dullaart RP. Plasma cholesteryl ester transfer and hepatic lipase activity are related to high-density lipoprotein cholesterol in association with insulin resistance in type 2 diabetic and non-diabetic subjects. *Scand J Clin Lab Invest*. 2001;61:1-9.
48. Andersen LB, Harro M, Sardinha LB, Froberg K, Ekelund U, Brage S, et al. Physical activity and clustered cardiovascular risk in children: a cross-sectional study (The European Youth Heart Study). *Lancet*. 2006;368:299-304.