



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
SAN ANTONIO

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Gestión Integral del Riesgo Cardiovascular

Tesis Doctoral

“Evaluación de los efectos del consumo de brotes de  
brócoli sobre la salud en mujeres menopáusicas con  
sobrepeso u obesas”

Autor:

Jose Pedregosa Díaz

Directores:

Dra. María Dolores Albaladejo Otón

Dr. José Abellán Alemán

Murcia, mayo de 2017





**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
SAN ANTONIO

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Gestión Integral del Riesgo Cardiovascular

Tesis Doctoral

“Evaluación de los efectos del consumo de brotes de  
brócoli sobre la salud en mujeres menopáusicas con  
sobrepeso u obesas”

Autor:

José Pedregosa Díaz

Directores:

Dra. María Dolores Albaladejo Otón

Dr. José Abellán Alemán

Murcia, mayo de 2017





# UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

## **AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN**

La Dra. María Dolores Albaladejo Otón y el Dr. José Abellán Alemán como Directores de la Tesis Doctoral titulada “**Evaluación de los efectos del consumo de brotes de brócoli sobre la salud en mujeres menopáusicas con sobrepeso u obesas**” realizada por D. Jose Pedregosa Díaz en la Cátedra de Riesgo Cardiovascular, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmamos, para dar cumplimiento a los Reales Decretos 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Murcia a 15 de mayo de 2017.

Dra. María Dolores Albaladejo Otón

Dr. José Abellán Alemán



## RESUMEN

### Introducción e hipótesis

El sobrepeso y la obesidad suponen un problema de salud pública de primera magnitud, que padece más del 40% de la población a nivel nacional y mundial, de todas las edades y grupos étnicos. La obesidad supone una pérdida de calidad y esperanza de vida, no sólo porque aumenta el riesgo de problemas cardiovasculares, desequilibrios metabólicos y disfunciones del tejido adiposo, sino también porque induce a una mayor incidencia de otras enfermedades no contagiosas como el cáncer.

La menopausia implica un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular, debido a que la depleción fisiológica de estrógenos en el organismo de la mujer tiene un efecto negativo sobre la función cardiovascular y el metabolismo celular.

Los brotes o germinados de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) son la mejor fuente dietética de glucorafanina/sulforafano (GRA/SFN). Debido a sus efectos sobre el metabolismo del colesterol y la homeostasis de los lípidos, los glucosinatos e isotiocianatos del brócoli (GSLs/ITCs) pueden ejercer una actividad biológica positiva sobre la adiposidad y la inflamación sistémica, concurrente en las personas obesas. La identificación de respuestas biológicas a los fitoquímicos bioactivos de los brotes de brócoli, podría permitir su incorporación en programas de nutrición, para el control y manejo de la obesidad.

### Objetivos

Los objetivos de la presente tesis doctoral son los que siguen: analizar la variación que experimentan las concentraciones de diferentes biomarcadores del perfil lipídico, del perfil glucídico, de diferentes biomarcadores de inflamación, de la presión arterial y de variables antropométricas con el consumo de brotes de brócoli.

### Material y métodos

Se diseñó un modelo de ensayo prospectivo de intervención dietética para evaluar los efectos sobre la salud del consumo diario de brotes de brócoli en

mujeres con sobrepeso u obesidad ( $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ), menopáusicas, no fumadoras, no diabéticas y sin historia de enfermedad cardiovascular documentada. Los criterios de inclusión en el estudio fueron: ser mujer, presentar como mínimo sobrepeso tipo I según la clasificación propuesta por la SEEDO en el año 2000 y ser menopáusica según la definición de la OMS. Como criterios de exclusión se establecieron: existencia de enfermedad cardiovascular documentada (cardiopatía isquémica: angina de pecho o infarto de miocardio reciente o antiguo, accidente vascular cerebral o vasculopatía periférica), ser fumadora en activo, padecer diabetes mellitus, ser alérgica o presentar algún tipo de intolerancia a crucíferas y abandono del estudio.

Se realizó un estudio de biodisponibilidad a lo largo de todo el estudio. Se analizaron las concentraciones de colesterol total, colesterol de lipoproteína de alta densidad, colesterol no HDL, triglicéridos, glucosa, insulina, hemoglobina glicosilada, índice HOMA-IR, proteína C reactiva, interleucina-6, factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , presión arterial sistólica y diastólica, peso y perímetro abdominal antes del inicio, después de una fase de consumo de brócoli y después de una fase de control.

### **Resultados**

No se han encontrado otros trabajos que evalúen los efectos del consumo de brotes de brócoli en la salud en la misma cohorte que esta tesis doctoral.

Los resultados del estudio de biodisponibilidad indicaron que las participantes del ensayo siguieron las recomendaciones dietéticas, al menos las referentes al consumo de brotes de brócoli durante la fase de intervención dietética y a la restricción de consumo de crucíferas durante los periodos de lavado y de control.

No se encontraron cambios tras el consumo en el perfil lipídico (aunque sí una tendencia a la baja no significativa en colesterol total y colesterol HDL entre el inicio y el final del estudio). No se observaron beneficios en el perfil glucídico. De los tres biomarcadores de inflamación se observaron descensos significativos en dos (PCRus y  $TNF-\alpha$ ) tras el consumo de brócoli. Se observó un descenso significativo en la PAS, pero no la PAD. Se observaron diferencias significativas en el peso no así en el perímetro abdominal.



### **Conclusiones**

El consumo de brotes de brócoli no produjo efectos beneficiosos sobre el perfil lipídico en una población de mujeres obesas o con sobrepeso. Se observó una tendencia no significativa a la baja en las concentraciones de CT y C-HDL entre el estado basal y el punto final del estudio. El consumo de brotes de brócoli no indujo cambios positivos en el perfil glucídico. Se observó un efecto positivo sobre los biomarcadores de inflamación, disminuyendo de manera significativa las concentraciones séricas de dos de los tres biomarcadores estudiados: PCRus y TNF- $\alpha$ . Después del periodo de control el TNF- $\alpha$  se mantuvo a niveles comparables a los del inicio del estudio, no así la PCR, que mostró una tendencia a recuperar los niveles de las concentraciones basales después del cese del consumo de brócoli. Se observó un descenso de las cifras de PAS y del peso después del consumo de brotes de brócoli que se mantuvo hasta el final del estudio. Por el contrario, el consumo de brócoli no produjo un descenso significativo ni en las cifras de PAD ni en el perímetro abdominal.

### **Palabras clave**

Brócoli, menopausia, obesidad, sobrepeso, perfil lipídico, perfil glucídico, biomarcadores de inflamación, presión arterial, peso, IMC, perímetro abdominal.



## **ABSTRACT**

### **Introduction and hypothesis**

Overweight and obesity are a priority public health problem, affecting more than 40% of the population at the national level and worldwide, of all ages and ethnic groups. Obesity leads to a loss of quality and life expectancy, not only because it increases the risk of cardiovascular problems, metabolic imbalances, and adipose tissue dysfunctions, but also by inducing a higher incidence of other non-contagious diseases such as cancer.

Menopause is a risk factor for cardiovascular disease, because the physiological depletion of estrogens in the female organism has a negative effect on cardiovascular function and metabolism.

Broccoli sprouts (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) are the best dietary source of glucoraphanin/sulforaphane (GRA/SFN). Because of their effects on cholesterol metabolism and lipid homeostasis, broccoli glucosinolates and isothiocyanates (GSLs/ITCs) may exert a positive biological activity on adiposity and systemic inflammation, concurrent in obese individuals. The identification of biological responses to the bioactive phytochemicals of broccoli sprouts could allow their incorporation into nutrition programs for the control and management of obesity.

### **Aim of the study**

The aim of this Doctoral thesis was analyze the variation in the concentrations of different biomarkers of lipid profile, glucose profile, different biomarkers of inflammation, blood pressure and anthropometric variables with consumption of broccoli sprouts.

### **Material and methods**

A prospective model of dietary intervention was designed to evaluate the health effects of daily consumption of broccoli sprouts in overweight or obese women ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ), menopausal, non-smoking, non-diabetic women with no history of documented cardiovascular disease. The inclusion criteria in the study were: being female, presenting at least type I overweight according to the classification of SEEDO of the year 2000 and being menopausal according to the

WHO definition. The following were established as exclusion criteria: documented cardiovascular disease (ischemic heart disease: angina pectoris or recent or previous myocardial infarction, stroke or peripheral vasculopathy), being active smoker, having diabetes mellitus, being allergic or presenting some type of cruciferous intolerance and abandonment of the study.

A bioavailability study was performed throughout the study. The concentrations of total cholesterol, HDL cholesterol, non-HDL cholesterol, triglycerides, glucose, insulin, glycosylated haemoglobin, HOMA-IR index, C-reactive protein, interleukin-6, tumour necrosis factor  $\alpha$ , systolic and diastolic blood pressure, weight and abdominal perimeter before initiation, after a consumption of broccoli phase and after a control phase.

### **Results**

No other studies evaluating the effects of consumption of broccoli sprouts on health in the same cohort as this doctoral thesis have been found.

The results of the bioavailability study indicated that the participants in the assay followed the dietary recommendations, at least those referring to consumption of broccoli sprouts during the dietary intervention phase and the restriction of cruciferous consumption during the washing and control periods.

No changes were found after consumption in the lipid profile (although a non-significant downward trend in total cholesterol and HDL cholesterol was observed). No benefits were observed in the carbohydrate profile. Two of the three biomarkers of inflammation experienced significant declines (CRP and TNF- $\alpha$ ). There was a significant decrease in SBP, but not DBP. Significant differences were observed in weight not so in the abdominal perimeter.

### **Conclusions**

Consumption of broccoli sprouts did not produce beneficial effects on the lipid profile in a population of obese or overweight women. A non-significant downward trend was observed in total cholesterol and C-HDL concentrations between baseline and endpoint of the study. Consumption of broccoli sprouts did not induce beneficial changes in the carbohydrate profile. A positive effect on inflammation biomarkers was observed: hsCRP and TNF- $\alpha$  experienced significant decreases after broccoli consumption. After the control period, TNF $\alpha$  levels remained similar to those at the beginning of the study, but not CRP, which showed

a recovery trend to basal levels after the end of broccoli consumption. There was a decrease in SBP and weight after consumption of broccoli sprouts, which was maintained until the end of the study. On the contrary, broccoli consumption did not produce a significant decrease in either the PAD or the abdominal perimeter.

**Keywords**

Broccoli, menopause, obesity, overweight, lipidic profile, carbohydrate metabolism, inflammation biomarkers, blood pressure, weight, BMI, abdominal perimeter.



## *Agradecimientos:*

Dijo Benjamin Franklin: *“Dime y olvido. Enséñame y recuerdo. Involúcrame y aprendo”*.

En primer lugar, querría agradecer a mi directora de tesis, Maria Dolores, por haberme involucrado en la actividad investigadora desde el inicio de mi etapa como residente. Por haberme animado a iniciar esta aventura que ahora finaliza plasmada en esta tesis doctoral. Por su dedicación tanto en tiempo como en esfuerzo. Por protegerme y por haber confiado en mí. Ha sido un placer haber sido doctorando y residente tuyo.

Agradecer también a Pepe, mi otro director de tesis, por sus sabios consejos, por su entrega, porque ha sido pieza clave de este proyecto y porque me ha allanado el camino en todo lo que ha podido.

A los compañeros del Centro de Salud de Barrio Peral de Cartagena, en especial a la Dra. Ariza y a mis compañeros Zayra, Joanna, Antonio e Isa. Habéis sido fundamentales a la hora de llevar este proyecto a cabo. Gracias por vuestras horas de entrevistas.

Al personal técnico, de enfermería, y auxiliar de enfermería del Laboratorio del Hospital Santa María del Rosell por haber colaborado desinteresadamente con este proyecto.

A los compañeros de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, en especial a las Dras. Pilar Zafrilla y Débora Villaño por su colaboración y porque siempre me han facilitado todo lo que he necesitado. Querría agradecer también a los compañeros del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura y en especial al Dr. Diego Moreno por su disposición y por haber hecho posible que este trabajo llegase a buen puerto. No me puedo olvidar de AQP Ingredients, por haber facilitado los brotes de brócoli para el estudio.

A mis compañeros de residencia, a los que iban por delante, a los que venían por detrás y a los que empezaron y acabaron conmigo, porque me habéis hecho muy fácil este camino. Por todas las risas y por cuatro años imposibles de olvidar. También al resto de compañeros del Laboratorio del Hospital Universitario Santa Lucía, por toda la ayuda que he recibido: al personal facultativo, a los técnicos y a las auxiliares, que a pesar de no cumplir los criterios de inclusión del estudio intentaron participar por todos los medios. No querría olvidarme de Ana Moreno

ni de Luís García de Guadiana, por todo lo que hemos sufrido juntos, por todas sus buenas ideas y por sus palabras de ánimo cada vez que las necesité. Luís tiene también parte de culpa mi gusto por la investigación. De él me llevo el querer darle siempre una vuelta más a todo.

A Henar y David, que me han acogido como refugiado en la última fase de escritura y por toda su colaboración, que no ha sido poca.

*Als meus amics, als de sempre, perquè amb vosaltres he recorregut bona part del camí fins aplegar fins ací.*

A Pablo, perquè podria dir moltes coses però només diré que aquesta tesi no s'explica sense tu, perquè no es pot. Y al resto de mi familia, que desde bien pequeño me ha animado a estudiar y que siempre me ha apoyado en todas las decisiones que he tomado en la vida, en las académicas y en todas las demás. A vosotros, además, os la dedico.



“La ciencia y la vida cotidiana  
no pueden y no deben ser separadas”.

Rosalind Elsie Franklin



## ÍNDICE

ÍNDICE .....	1
RELACIÓN DE ABREVIATURAS .....	5
ÍNDICE DE TABLAS .....	9
ÍNDICE DE FIGURAS .....	11
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 SOBREPESO Y OBESIDAD .....</b>	<b>17</b>
1.1.1 Definición .....	17
1.1.2 Epidemiología .....	20
1.1.2.1 Cifras globales .....	20
1.1.2.2 Cifras en el Estado Español y en la Región de Murcia .....	23
1.1.3 Etiopatogenia.....	23
1.1.3.1 Desequilibrio en el balance energético .....	23
1.1.3.2 Factores genéticos.....	24
1.1.3.3 Factores socio-económicos.....	25
<b>1.2 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR .....</b>	<b>26</b>
<b>1.3 OBESIDAD Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.....</b>	<b>28</b>
1.3.1 Inflamación crónica.....	28
1.3.2 Resistencia a la insulina .....	29
1.3.3 Disfunción endotelial.....	30
1.3.4 Dislipemia.....	31
1.3.5 Hipertensión arterial.....	31
1.3.6 Síndrome metabólico .....	32
<b>1.4 MENOPAUSIA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.....</b>	<b>34</b>
1.4.1 Fisiología de la menopausia .....	35
1.4.1.1 Acciones directas de los estrógenos.....	39

1.4.1.2 Acciones indirectas de los estrógenos .....	42
1.4.2 Menopausia y ganancia de peso .....	43
1.4.3 Menopausia, diabetes e hipertensión.....	44
<b>1.5 BIOMARCADORES DEL ESTADO INFLAMATORIO .....</b>	<b>45</b>
1.5.1 Factor de necrosis tumoral $\alpha$ .....	45
1.5.2 Interleucina 6.....	47
1.5.3 Proteína C reactiva .....	48
1.5.4 Otros biomarcadores proinflamatorios.....	50
1.5.5.1 Interleucina 1.....	50
1.5.5.2 Interleucina 18.....	51
1.5.5.3 Leptina.....	51
1.5.5.4 Inhibidor del activador del plasminógeno .....	52
1.5.5.5 Adiponectina.....	52
1.5.5.6 Ghrelina.....	52
1.5.5.7 Homocisteína .....	53
<b>1.6 BRÓCOLI .....</b>	<b>54</b>
1.6.1 Generalidades.....	54
1.6.2 Características morfológicas.....	54
1.6.3 Requerimientos para el cultivo .....	55
1.6.4 Compuestos fitoactivos presentes en el brócoli .....	56
1.6.5 Mecanismos de acción de los fitoactivos presentes en el brócoli .....	58
<b>2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS .....</b>	<b>61</b>
2.1 JUSTIFICACIÓN .....	63
2.2 HIPÓTESIS.....	64
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>65</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>69</b>
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	71
4.2 TAMAÑO MUESTRAL .....	72
4.3 DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE INFLUENCIA DEL ESTUDIO .....	72

---

<b>4.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN .....</b>	<b>74</b>
<b>4.5 RECLUTAMIENTO DE PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO .....</b>	<b>75</b>
<b>4.6 PLAN DE TRABAJO .....</b>	<b>75</b>
<b>4.7 VARIABLES DEL ESTUDIO .....</b>	<b>78</b>
<b>4.8 ESTUDIO DE VARIABLES BIOQUÍMICAS Y PRESIÓN ARTERIAL.....</b>	<b>79</b>
4.8.1 Colesterol total .....	81
4.8.2 Colesterol de lipoproteína de alta densidad.....	81
4.8.3 Colesterol de lipoproteína de baja densidad y colesterol no HDL .....	81
4.8.4 Triglicéridos.....	82
4.8.5 Glucosa .....	82
4.8.6 Hemoglobina glicosilada .....	83
4.8.7 Insulina e índice HOMA-IR.....	83
4.8.8 PCR ultrasensible .....	84
4.8.9 Factor de necrosis tumoral $\alpha$ .....	84
4.8.10 Interleucina 6 .....	85
4.8.11 Presión arterial .....	88
<b>4.9 ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO .....</b>	<b>88</b>
4.9.1 Peso .....	88
4.9.2 Talla.....	89
4.9.3. Perímetro abdominal .....	89
4.9.4 IMC .....	89
<b>4.10 ANÁLISIS DE BIODISPONIBILIDAD.....</b>	<b>89</b>
4.10.1 Creatinina en orina.....	90
4.10.2 SFN-NAC.....	90
<b>4.11 ANÁLISIS DE DATOS .....</b>	<b>91</b>
4.11.1 Análisis descriptivo.....	91
4.11.2 Análisis inferencial.....	92
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>93</b>
<b>5.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA POBLACIONAL .....</b>	<b>96</b>
<b>5.2 ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD.....</b>	<b>100</b>
<b>5.3 ESTUDIO DE VARIABLES CLÍNICAS .....</b>	<b>101</b>
5.3.1 Perfil lipídico .....	101

---

5.3.2 Perfil glucídico .....	104
5.3.3 Biomarcadores de inflamación .....	109
5.3.4 Presión arterial .....	112
<b>5.4 ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO.....</b>	<b>114</b>
5.4.1 Masa corporal.....	114
5.4.2 Perímetro abdominal .....	116
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>119</b>
6.1 TRABAJOS PUBLICADOS RELACIONADOS CON EL TEMA.....	121
6.2 MUESTRA POBLACIONAL .....	124
6.3 ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD.....	125
6.4 PERFIL LIPÍDICO.....	126
6.5 PERFIL GLUCÍDICO .....	128
6.6 BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN .....	129
6.7 PRESIÓN ARTERIAL Y VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS .....	131
6.8 LIMITACIONES DEL ESTUDIO .....	133
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>135</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>139</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>157</b>

## RELACIÓN DE ABREVIATURAS

<b>17<math>\beta</math>-HSD</b>	17-hidroxiesteroide deshidrogenasa
<b>4-OHGBS</b>	4-hidroxi glucobrassicina
<b>4-OMeGBS</b>	4-metoxi glucobrassicina
<b>ACL</b>	Servicio de Análisis Clínicos
<b>ACV</b>	Accidente cerebrovascular
<b>ADA</b>	Asociación Americana de Diabetes
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AGL</b>	Ácidos grasos libres
<b>AgRP</b>	Proteína r-agouti
<b>AIT</b>	Accidente isquémico transitorio
<b>ARE</b>	Elemento de respuesta antioxidante
<b>AT1</b>	Receptor tipo 1 de la angiotensina II
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>B</b>	Boro
<b>Ca</b>	Calcio
<b>CCK</b>	Colecistoquinina
<b>CEBAS</b>	Centro de Edafología y Biología Aplicada del Suroeste
<b>C-HDL</b>	Colesterol de lipoproteína de alta densidad
<b>C-HDL</b>	Colesterol de lipoproteína de alta densidad
<b>C-IDL</b>	Colesterol de lipoproteína de densidad intermedia
<b>C-LDL</b>	Colesterol de lipoproteína de baja densidad
<b>CLIA</b>	Inmunoensayo quimioluminiscente
<b>CS</b>	Centro de Salud
<b>CV</b>	Coefficiente de variación
<b>C-VLDL</b>	Colesterol de lipoproteína de muy baja densidad

---

<b>DE</b>	Desviación estándar
<b>DM2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>ECV</b>	Enfermedad cardiovascular
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintasa endotelial
<b>ER</b>	Receptor estrogénico nuclear
<b>ERE</b>	Elemento de respuesta a estrógenos
<b>FRCV</b>	Factor de riesgo cardiovascular
<b>FSH</b>	Hormona foliculoestimulante
<b>GBA</b>	Glucosa basal en ayunas
<b>GBS</b>	Glucobrassicina
<b>GCT</b>	Grasa corporal total
<b>GER</b>	Glucocerucina
<b>GIB</b>	Glucoiberina
<b>GPCR</b>	Receptor acoplado a proteína G
<b>GRA</b>	Glucorafanina
<b>GSLs</b>	Glucosinolatos
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina glicosilada
<b>Hcys</b>	Homocisteína
<b>HDAC</b>	Histona deacetilasa
<b>HO-1</b>	Hemooxigenasa-1
<b>HOMA-IR</b>	Evaluación del modelo homeostático – resistencia a la insulina
<b>HPLC</b>	Cromatografía líquida de alta eficacia
<b>Hsp90</b>	Proteína de choque térmico 90
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial
<b>HUSL</b>	Hospital Universitario Santa Lucía
<b>HUSMR</b>	Hospital Universitario Santa María del Rosell
<b>ICAM-1</b>	Molécula de adhesión intracelular
<b>ICC</b>	Insuficiencia cardiaca congestiva



---

<b>IDF</b>	Federación Internacional de Diabetes
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón $\gamma$
<b>IGF-1</b>	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>Ins</b>	Insulina
<b>ITCs</b>	Isotiocianatos
<b>K</b>	Potasio
<b>LH</b>	Hormona luteinizante
<b>LPL</b>	Lipoproteína lipasa
<b>MC4-R</b>	Receptor 4 de melanocortina
<b>Med</b>	Mediana
<b>Mg</b>	Magnesio
<b>MMP</b>	Metaloproteinasa de matriz
<b>MS</b>	Espectrometría de masas
<b>Na</b>	Sodio
<b>NAD</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido
<b>NADH</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
<b>NADPH</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
<b>NeoGBS</b>	Neoglucobrassicina
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NPY</b>	Neuropéptido Y
<b>NQO1</b>	Quinona oxidorreductasa 1
<b>Nrf2</b>	Factor nuclear eritroide 2
<b>NS</b>	No significativo
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PAD</b>	Presión arterial diastólica
<b>PAI-1</b>	Inhibidor del plasminógeno tisular
<b>PAS</b>	Presión arterial sistólica

---

<b>PCR</b>	Proteína C reactiva
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva ultrasensible
<b>PDGF</b>	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
<b>PI3K</b>	3-fosfoinositol cinasa
<b>REGICOR</b>	Registre Gironí del Cor
<b>RIC</b>	Rango intercuartílico
<b>S</b>	Azufre
<b>SAOS</b>	Síndrome de apnea obstructiva del sueño
<b>Se</b>	Selenio
<b>SED</b>	Sociedad Española de Diabetes
<b>SEEDO</b>	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
<b>SEGO</b>	Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
<b>SFN</b>	Sulforafano
<b>SFN-NAC</b>	Sulforafano conjugado a N-acetilcisteína
<b>SHBG</b>	Globulina de unión a hormonas sexuales
<b>SM</b>	Síndrome metabólico
<b>SMS</b>	Servicio Murciano de Salud
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>TG</b>	Triglicéridos
<b>THS</b>	Terapia hormonal sustitutiva
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral $\alpha$
<b>TTOG-2h</b>	Test de tolerancia oral a la glucosa a las 2 horas
<b>UHPLC</b>	Cromatografía líquida de ultra alta eficacia
<b>VCAM-1</b>	Molécula de adhesión vascular 1
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento endotelial vascular

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.1: Criterios para definir la obesidad en grados según el IMC (OMS 1998).</i>	19
<i>Tabla 1.2: Clasificación del sobrepeso y la obesidad según el IMC (SEEDO 2000).</i>	19
<i>Tabla 1.3: Índice de masa corporal en población de 18 y más años, según sexo. España, 2014.</i>	23
<i>Tabla 1.4: Clasificación de los FRCV en función de su agresividad.</i>	27
<i>Tabla 1.5: Clasificación de los FRCV según su susceptibilidad a ser modificados.</i>	27
<i>Tabla 1.6: Criterios diagnósticos de prediabetes según la OMS y la ADA.</i>	30
<i>Tabla 1.7: Criterios diagnósticos de diabetes mellitus propuestos por la SED.</i>	30
<i>Tabla 1.8: Mecanismos de acción estrogénica sobre el sistema cardiovascular.</i>	39
<i>Tabla 1.9: Influencia genómica de los estrógenos [81].</i>	41
<i>Tabla 1.10: Contenido de diferentes GSLs en brotes de brócoli de 7 días de edad.</i>	58
<i>Tabla 4.1: Variables bioquímicas del estudio.</i>	78
<i>Tabla 4.2: Variables antropométricas del estudio.</i>	79
<i>Tabla 4.3: Marcador de exposición cuantificado en el estudio de biodisponibilidad.</i>	79
<i>Tabla 4.4: Magnitudes bioquímicas y analizador por el que fueron cuantificadas.</i>	80
<i>Tabla 4.5: Características analíticas de los ensayos de los distintos biomarcadores.</i>	86
<i>Tabla 5.1: Clasificación de las participantes en función del IMC según criterios de la SEEDO 2000.</i>	97
<i>Tabla 5.2: Resumen de hábitos de consumo de alcohol y tabaco de la muestra poblacional.</i>	98
<i>Tabla 5.3: Resumen del ejercicio practicado habitualmente.</i>	99
<i>Tabla 5.4: Resumen del riesgo calculado de padecer un evento coronario a 10 años.</i>	99
<i>Tabla 5.5: Resultados obtenidos tras aplicar test de Friedman a la variable SFN-NAC/creatinina.</i>	100
<i>Tabla 5.6: Comparación por parejas para la variable NFS-NAC a lo largo del estudio.</i>	101
<i>Tabla 5.7: Resultados obtenidos tras aplicar ANOVA o test de Friedman a las variables del perfil lipídico.</i>	102
<i>Tabla 5.8: Comparación por pares para las variables del metabolismo lipídico.</i>	104
<i>Tabla 5.9: Resultados obtenidos tras aplicar ANOVA o test de Friedman a las variables del metabolismo glucídico.</i>	105
<i>Tabla 5.10: Comparación por parejas para las variables del metabolismo glucídico.</i>	108

<i>Tabla 5.11: Resultados obtenidos tras aplicar el test de Friedman al grupo biomarcadores de inflamación.</i> .....	109
<i>Tabla 5.12: Comparación por parejas para los biomarcadores de riesgo cardiovascular emergentes.</i> .....	111
<i>Tabla 5.13: Resultados obtenidos tras analizar los diferentes momentos del estudio para las variables PAS y PAD.</i> .....	112
<i>Tabla 5.14: Análisis por pares de las variables PAS y PAD.</i> .....	113
<i>Tabla 5.15: Resultados obtenidos tras aplicar ANOVA de medidas repetidas a las variables peso e IMC.</i> .....	114
<i>Tabla 5.16: Comparación por parejas para las variables Peso e IMC.</i> .....	115
<i>Tabla 5.17: Resultados obtenidos tras aplicar el test ANOVA de medidas repetidas a la variable perímetro abdominal a lo largo del estudio.</i> .....	116
<i>Tabla 5.18: Análisis por pares de la variable Pabd.</i> .....	117
<i>Tabla 6.1: Estudios de evaluación del consumo de brócoli, GRA y SFN en variables clínicas y moleculares en humanos ordenados por fecha de publicación.</i> .....	121

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.1: IMC medio en población femenina (kg/m<sup>2</sup>) con edades ≥ 18 años. Año 2014. Adaptado de [12].</i>	21
<i>Figura 1.2: IMC medio en población masculina (kg/m<sup>2</sup>) con edades ≥ 18 años. Año 2014. Adaptado de [12].</i>	21
<i>Figura 1.3: Prevalencia del sobrepeso (IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>) en mujeres con edades ≥ 18 años. Año 2014. Adaptado de [12].</i>	22
<i>Figura 1.4: Prevalencia de la obesidad (IMC ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>) en mujeres con edades ≥ 18 años. Año 2014. Adaptado de [12].</i>	22
<i>Figura 1.5: Evolución habitual desde la obesidad hasta la enfermedad cardiovascular. Adaptado de [45].</i>	28
<i>Figura 1.6: Representación gráfica del síndrome metabólico.</i>	32
<i>Figura 1.7: Mapa de disfunciones observadas en el SM.</i>	33
<i>Figura 1.8: Patrón ginoide (izquierda) y androide (derecha) de distribución de la grasa.</i>	34
<i>Figura 1.9: Concentraciones séricas de FSH, LH y estradiol durante la transición a la menopausia. Adaptado de [79].</i>	36
<i>Figura 1.10: Reacción de aromatización dentro del proceso de esteroidogénesis. Conversión de testosterona (andrógeno) en estradiol (estrógeno).</i>	36
<i>Figura 1.11: Reacción de reducción dentro del proceso de esteroidogénesis. Conversión de estrona en estradiol.</i>	37
<i>Figura 1.12: Comparación del poder estrogénico relativo de los principales estrógenos donde se le ha asignado un valor de 1 al poder estrogénico del estriol.</i>	38
<i>Figura 1.13: Efecto del IMC sobre la PAS. Adaptado de [72].</i>	44
<i>Figura 1.14: Estructura tridimensional del homotrímero de TNF-<math>\alpha</math>. Adaptado de [110].</i>	45
<i>Figura 1.15: Estructura tridimensional de la IL-6. Adaptado de [120].</i>	47
<i>Figura 1.16: Estructura tridimensional de la PCR. Adaptado de [134].</i>	49
<i>Figura 1.17: Resumen del comportamiento en la obesidad de diferentes biomarcadores bioquímicos relacionados con la inflamación según el tejido en que son producidos.</i>	53
<i>Figura 1.18: Fotografía de varios especímenes de brotes de brócoli.</i>	55
<i>Figura 1.19: Fotografía de un ejemplar de brócoli.</i>	55

<i>Figura 1.20: Estructura química de la familia de los GSLs y de su compuesto más estudiado (GRA).</i> .....	57
<i>Figura 1.21: Estructuras químicas de la familia de ITCs y de su principal compuesto bioactivo (SFN).</i> .....	57
<i>Figura 1.22: Estructura química de las antocianinas.</i> .....	59
<i>Figura 4.1: Municipios pertenecientes al Área II de Salud de la Región de Murcia</i> .....	73
<i>Figura 4.2: Comparativa de % de ocupados según sectores económicos. Año 2015.</i> .....	74
<i>Figura 4.3: Bandeja de brócoli utilizada en el presente estudio.</i> .....	76
<i>Figura 4.4: Cronograma del ensayo realizado en 2015. I: reunión informativa; O: toma de muestra de orina aislada; S: toma de muestra de sangre; MA: toma de medidas antropométricas; E24h: entrega de encuesta de recuerdo de 24h; ES: entrega de encuesta de salud.</i> .....	77
<i>Figura 4.5: Esquema detallado de la fase de consumo de brócoli. B: reparto de 7 bandejas de brócoli.</i> .....	78
<i>Figura 5.1: Diagrama de flujo de la cohorte de estudio.</i> .....	95
<i>Figura 5.2: Representación de diagrama de cajas de la edad de las participantes.</i> .....	96
<i>Figura 5.3: Representación de diagrama de cajas del IMC inicial de las participantes</i> .....	96
<i>Figura 5.4: Diagrama de cajas de las concentraciones de SFN-NAC/Creatinina a lo largo del estudio.</i> .....	100
<i>Figura 5.5: Diagrama de cajas de las variables CT, HDL, noHDL y TG del perfil lipídico a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	103
<i>Figura 5.6: Diagrama de cajas de la variable glucosa a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	106
<i>Figura 5.7: Diagrama de cajas de la variable hemoglobina glicosilada a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	106
<i>Figura 5.8: Diagrama de cajas de la variable insulina a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	107
<i>Figura 5.9: Diagrama de cajas de la variable índice HOMA-IR a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	107
<i>Figura 5.10: Diagrama de cajas para la variable PCRus a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	110
<i>Figura 5.11: Diagrama de cajas de las variables TNF-<math>\alpha</math> e IL-6 a lo largo del ensayo. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	110
<i>Figura 5.12: Diagrama de cajas de las variables PAS y PAD a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.</i> .....	113

---

*Figura 5.13: Diagrama de cajas de las variables Peso e IMC a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control. ....115*

*Figura 5.14: Diagrama de cajas de la variable Pabd a lo largo del experimento. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control. ....116*





## **1. INTRODUCCIÓN**



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 SOBREPESO Y OBESIDAD

### 1.1.1 Definición

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede llegar a ser perjudicial para la salud del individuo [1].

Puede definirse como paciente con sobrepeso u obeso aquel sujeto que presenta porcentajes de grasa corporal por encima de los valores de normalidad, siendo del 12 al 20% en varones y del 20 al 30% en mujeres adultas [2].

Se utiliza el índice de masa corporal (IMC) para definir y clasificar este estado patológico. Fue propuesto en 1832 por el matemático, astrónomo y estadístico belga Adolphe Quetelet y popularizado en 1972 por Ancel Keys, fisiólogo americano, que es considerado el impulsor de la dieta mediterránea [3]. El IMC es un indicador simple que relaciona el peso expresado en kg con la talla expresada en metros, que por su fácil medida resulta imprescindible en la valoración del paciente obeso. La expresión matemática de este indicador se muestra a continuación en la Ecuación 1.1, siendo m la masa y h la altura del individuo:

$$\text{IMC} = \frac{m}{h^2} \quad \text{Ecuación 1.1}$$

Este marcador, aunque en realidad valora la corpulencia del individuo y no la adiposidad en sí, presenta una buena correlación con la grasa corporal total (GCT). Es útil, no solo en la cuantificación de la GCT, sino que además correlaciona directamente con la comorbilidad asociada al exceso de masa corporal y resulta un buen indicador de seguimiento en aquellos pacientes sometidos a reducción de peso.

Si bien este indicador ha sido incluido en la práctica clínica diaria por su sencillez e información aportada, presenta una serie de limitaciones que pasan a describirse a continuación [4]:

- La correlación del IMC y la talla puede estar influida por la edad. En pacientes ancianos, donde los cambios en la composición corporal conducen a un incremento de la GCT, el IMC podría infravalorar la obesidad en este grupo etario [4]. En la población infantil, en cambio, la imprecisión del IMC viene dada porque no contempla el factor crecimiento [5]. Aunque presenta una alta especificidad para detectar riesgo y presencia de sobrepeso, su sensibilidad es variable: 4,3 - 75% para riesgo de sobrepeso y 14,3 - 60% para presencia de sobrepeso [6].
- Como se ha indicado anteriormente, el IMC es, en sentido estricto, un indicador de corpulencia y por ello no es útil en aquella población con un incremento de masa muscular, como en el caso de algunos deportistas. En este subgrupo, el IMC no correlaciona con el grado de adiposidad, pudiéndose obtener falsos diagnósticos de obesidad.
- Existen variaciones entre sexos, puesto que en el sexo femenino existe un mayor porcentaje de GCT con respecto a la talla, si bien estas desviaciones se dan tan solo en valores intermedios o moderados de IMC y no en valores extremos.
- La morfología corporal tiene también su grado de influencia, en especial la longitud del tronco y de las extremidades inferiores.
- Aun presentando el IMC buena correlación con el porcentaje de GCT, este correlaciona peor con depósitos de grasa cuando éstos se localizan a nivel abdominal.

Tanto los comités internacionales de expertos como el consenso español de 1995 para evaluar la obesidad elaborado por la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) recomiendan el empleo de datos antropométricos (incluyendo peso, talla, circunferencias corporales, edad y sexo) para la clasificación ponderal [7, 8].

No existe un único criterio para establecer los intervalos de normopeso, sobrepeso y obesidad en base a valores del IMC. En el año 1996, la SEEDO calificaba como normopeso valores de hasta 27 kg/m<sup>2</sup>, siempre y cuando no existieran otros factores de riesgo asociados (hipertensión arterial (HTA), hipercolesterolemia...). En el año 2000, la SEEDO introdujo algunas modificaciones a la clasificación establecida por la OMS en el año 1998 [7, 8]: se aceptó el límite propuesto para clasificar un individuo en rango de normopeso bajándolo hasta 24,9 kg/m<sup>2</sup>; se

rebajó, a su vez, el límite inferior de normopeso a 18,5 kg/m<sup>2</sup>; se subdividió el rango de sobrepeso en dos subcategorías y se añadió, además, un grado adicional de obesidad para aquellos pacientes con un IMC  $\geq$  50 kg/m<sup>2</sup> [2].

A continuación, se muestran los criterios utilizados para definir la obesidad en grados según la OMS del año 1998 (Tabla 1.1) y según la SEEDO del año 2000 (Tabla 1.2):

*Tabla 1.1: Criterios para definir la obesidad en grados según el IMC (OMS 1998).*

Valores límites del IMC (kg/m <sup>2</sup> )	
Peso insuficiente	< 18,5
Normopeso	18,5 – 24,9
Preobesidad	25,0 – 29,9
Obesidad grado I	30,0 – 34,9
Obesidad grado II	35,0 – 39,9
Obesidad grado III	$\geq$ 40,0

*Tabla 1.2: Clasificación del sobrepeso y la obesidad según el IMC (SEEDO 2000).*

Valores límites del IMC (kg/m <sup>2</sup> )	
Peso insuficiente	< 18,5
Normopeso	18,5 – 24,9
Sobrepeso grado I	25,0 – 26,9
Sobrepeso grado II (preobesidad)	27,0 – 29,9
Obesidad tipo I	30,0 – 34,9
Obesidad tipo II	35,0 – 39,9
Obesidad tipo III (mórbida)	40,0 – 49,9
Obesidad grado IV (extrema)	$\geq$ 50,0

Para la evaluación de la adiposidad global y regional, deben realizarse medidas de peso, talla, IMC y determinación del perímetro de cintura [2]. Para determinar las tres primeras variables, el paciente debe ser pesado sin zapatos y en ropa

interior. Se recomienda el uso de una báscula de 100 g de precisión y que la pesada se realice siempre a la misma hora. A partir del peso y la talla se calcula el IMC de acuerdo a la Ecuación 1.1. Para la determinación del perímetro de cintura debe usarse una cinta métrica flexible y milimetrada. El paciente debe colocarse en bipedestación, sin ropa y relajado. La medida debe realizarse justo por encima del borde superior de las crestas iliacas, rodeando la cintura con la cinta métrica de manera paralela al suelo y con la seguridad de que la cinta esté ajustada, pero sin comprimir la piel. Es importante realizar la medida después de una espiración normal. La medida de esta variable, que puede parecer *a priori* sencilla, en la práctica puede resultar difícil. No siempre es fácil localizar referencias anatómicas en pacientes obesos, lo que contribuye a que exista una alta variabilidad entre observadores [2].

El perímetro de cintura es un mejor indicador de la grasa visceral (y de sus cambios con la pérdida de peso), así como del riesgo cardiovascular que la relación cintura/cadera [9].

El IMC presenta buena correlación con la masa grasa total, pero el aumento de la grasa intraabdominal se relaciona mejor con la presencia de factores de riesgo y de enfermedad cardiovascular [2, 10, 11].

### **1.1.2 Epidemiología**

#### *1.1.2.1 Cifras globales*

El sobrepeso y la obesidad suponen un problema de salud pública de primera magnitud a nivel mundial. Según datos de la OMS, en el año 2014 más de 1900 millones de adultos tenían sobrepeso y, de estos, más de 600 millones eran obesos. Esto supone que un 39% de la población adulta mundial (38% de los varones y 40% de las mujeres) padecía de sobrepeso y que el 13% de la población adulta mundial (11% de los varones y 15% de las mujeres) era obesa. Si se comparan los datos proporcionados por la OMS sobre obesidad entre 1980 y 2014, puede observarse que la prevalencia de la obesidad a nivel mundial se ha multiplicado por más de dos en estos 34 años [1].

A continuación, en la Figura 1.1 y en la Figura 1.2 se muestra el IMC medio femenino y masculino a nivel mundial durante el año 2014, respectivamente [12]:

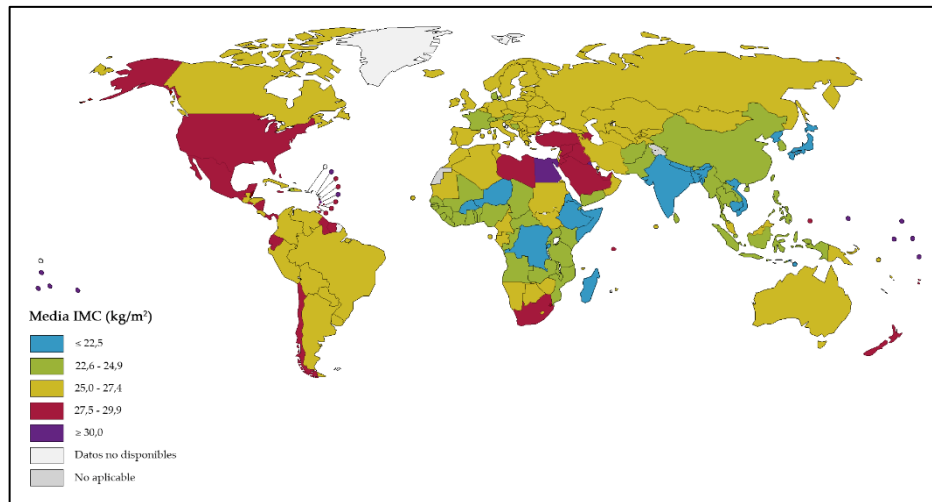


Figura 1.1: IMC medio en población femenina ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) con edades  $\geq 18$  años. Año 2014. Adaptado de [12].

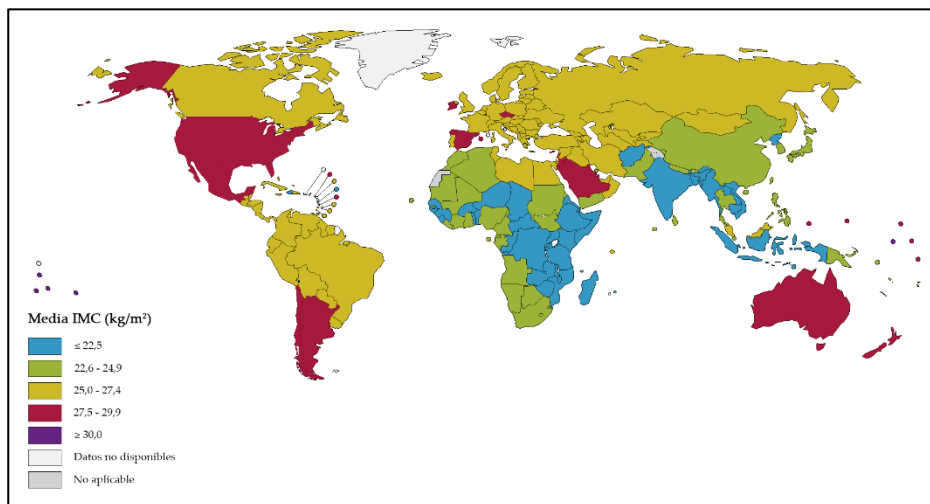


Figura 1.2: IMC medio en población masculina ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) con edades  $\geq 18$  años. Año 2014. Adaptado de [12].

En la Figura 1.3 y en la Figura 1.4 se muestra, respectivamente, la prevalencia del sobrepeso y de la obesidad en población adulta femenina a nivel mundial durante el año 2014 [12]:

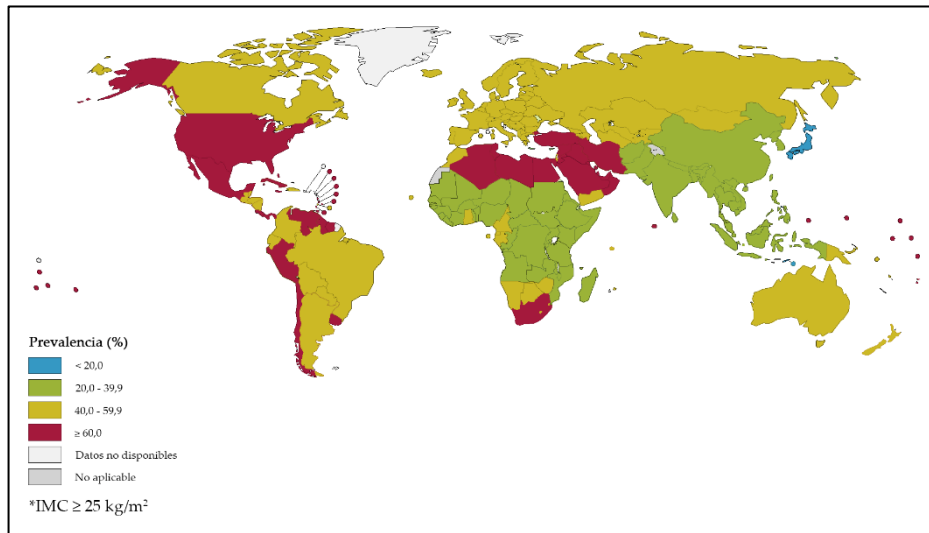


Figura 1.3: Prevalencia del sobrepeso (IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>) en mujeres con edades ≥ 18 años. Año 2014. Adaptado de [12].

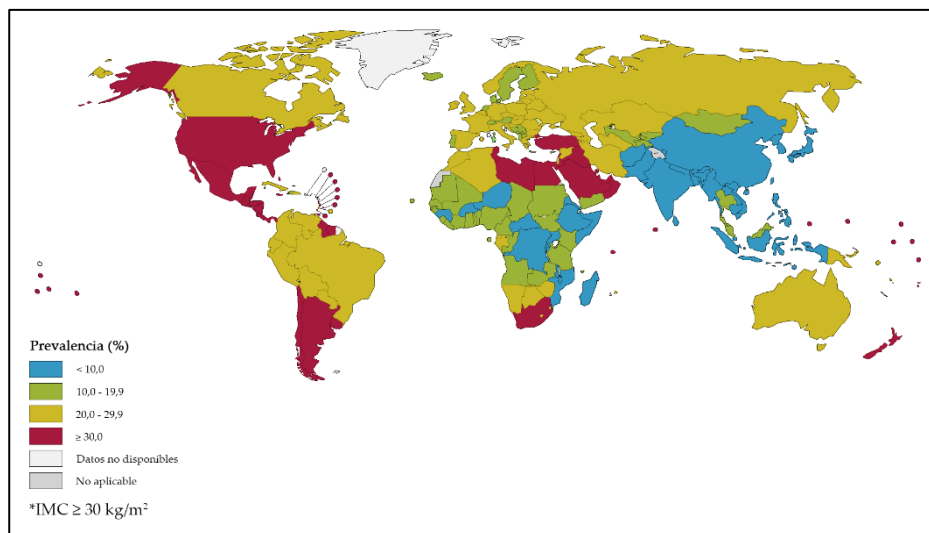


Figura 1.4: Prevalencia de la obesidad (IMC ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>) en mujeres con edades ≥ 18 años. Año 2014. Adaptado de [12].



### 1.1.2.2 Cifras en el Estado Español y en la Región de Murcia

Los datos referentes a sobrepeso y obesidad en el Estado español se muestran en la Tabla 1.3, que recoge los datos referentes a sobrepeso y obesidad durante el año 2014 y que fueron publicados el año 2016 por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad [13]:

Tabla 1.3: Índice de masa corporal en población de 18 y más años, según sexo. España, 2014.

	Ambos sexos	Hombres	Mujeres
Peso insuficiente (IMC < 18,5 kg/m <sup>2</sup> )	2,2%	1,0%	3,4%
Normopeso (IMC: 18,5 – 24,9 kg/m <sup>2</sup> )	45,2%	38,3%	51,9%
Sobrepeso (IMC: 25,0 – 29,9 kg/m <sup>2</sup> )	35,7%	43,6%	28,1%
Obesidad (IMC ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> )	16,9%	17,1%	16,7%

En cuanto a la Región de Murcia, según datos publicados por el estudio ENPE el año 2014, el sobrepeso se sitúa en el 41,5% y la obesidad en un 23,9% de la población adulta (25 – 64 años), resultando la 4ª Comunidad Autónoma con mayores tasas de sobrepeso y obesidad del Estado [14].

### 1.1.3 Etiopatogenia

Tradicionalmente, se ha venido usando la teoría de un exceso calórico en la ingesta en relación a un gasto energético disminuido para explicar la etiopatogenia de la obesidad. Actualmente, y gracias al aumento de los conocimientos sobre genética y biología molecular, es posible abordar la explicación de la obesidad como un fenómeno complejo [15], en el que están incluidos multitud de factores que pasan a describirse a continuación.

#### 1.1.3.1 Desequilibrio en el balance energético

El equilibrio energético puede estar descompensado debido a un déficit de control, bien en la ingesta o en el gasto energético, a errores en la regulación de las reservas lipídicas o a desórdenes en la distribución de nutrientes entre tejidos [16].

La regulación de la ingesta está controlada por mecanismos neuroendocrinos y está mediada por neuropéptidos, como el neuropéptido Y (NPY) y la proteína

r-agouti (AgRP), y por factores gastrointestinales como la ghrelina, que de manera conjunta actúan a nivel hipotalámico, promoviendo la sensación de apetito [17]. La ingesta de alimentos conduce a la liberación de otro tipo de señales, como colecistoquinina (CCK), leptina y el péptido análogo al glucagón, que tienen efectos antagónicos a la ghrelina, NPY y AgRP a nivel hipotalámico. Todas estas señales actúan sobre receptores específicos del hipotálamo lateral. El receptor de melanocortina 4 (MC4-R) interviene en la ruta de señalización hipotalámica leptina-melanocortina induciendo la supresión del apetito. El déficit de este receptor es la forma más común de obesidad monogénica conocida [18].

En el otro lado del equilibrio energético estarían los mecanismos de pérdida de energía en forma de calor. El tejido marrón es capaz de desacoplar el metabolismo oxidativo de la generación de adenosín trifosfato (ATP) en situaciones de descenso térmico o aumento de la ingesta. En humanos, a diferencia de otros mamíferos, el tejido marrón está presente en localizaciones residuales del organismo y tiene escasa actividad marginal en la termogénesis. A pesar del poco peso específico en la contribución al desarrollo de obesidad en humanos, se ha propuesto que la sobreexpresión en animales de determinados enzimas desacoplantes podría determinar un fenotipo no obeso [19].

Otro factor importante en el control ponderal lo representa la actividad metabólica. El adipocito, lejos de tener un papel pasivo como almacenador y movilizador de grasas, presenta una actividad paracrina y endocrina que regula su capacidad de almacenamiento, además de participar en los procesos hipotalámicos antes explicados mediante la liberación de leptina. Asimismo, diferentes hormonas están involucradas en el control metabólico: la insulina secretada por el páncreas tiene actividad saciante, y otras hormonas, como los glucocorticoides (que se asocian a la ganancia ponderal en situaciones de estrés) y los esteroides, tienen un papel regulador de la adiposidad [20–22].

#### *1.1.3.2 Factores genéticos*

El hecho de que exista más de un miembro en una misma familia con obesidad severa ha llevado a plantear la genética como un factor en la aparición de esta entidad en la infancia. Esta hipótesis ha sido comprobada en diferentes estudios. Una conclusión extraída de estos trabajos es que la probabilidad de padecer

obesidad con un IMC  $> 45 \text{ kg/m}^2$  a lo largo de la vida es 7 veces superior cuando la padece uno de los progenitores [23–25].

Se conocen 71 genes con posible actividad inductora en la aparición de la obesidad [26]. De estos, 15 se han asociado con el volumen de grasa corporal [27]. Si existe un gen con especial importancia debido a su importante papel en la aparición de la obesidad a cortas edades, es sin duda el gen FTO. Se ha propuesto que este gen tiene un rol importante en la ganancia progresiva de peso en los individuos en que se encuentra sobreexpresado [28]. Además, se ha podido comprobar que tiene incidencia en la sensación de saciedad y apetito, mediante la observación de su expresión en sujetos con privación aguda de comida [29].

En este apartado cabe mencionar diversas mutaciones en algunos genes que desembocan en síndromes que asocian obesidad mórbida como manifestación clínica. De estos, destacan el síndrome de Prader-Willi, en el que en el 70% de los afectados se encuentran diversas mutaciones en el cromosoma 15 paterno, y el síndrome de Alström-Hallgren, causado por una mutación en el gen ALMS1 situado en el cromosoma 2 [30, 31].

#### *1.1.3.3 Factores socio-económicos*

En los países desarrollados, la elevada disponibilidad de alimentos por gran parte de sus habitantes ha llevado a modificaciones en los patrones alimentarios de la población [32].

En este sentido, se ha constatado un aumento en el consumo tanto de alimentos de origen animal como de refrescos azucarados con elevado aporte calórico, cuya ingesta puede representar entre el 20 y el 30% del total de la ingesta calórica diaria. La sobrealimentación de niños y adolescentes por este tipo de productos resulta en un factor central en el desarrollo de obesidad [33]. El total de calorías, la composición y variedad de los alimentos y el número de tomas diarias y la cantidad ingerida en cada una de ellas son factores que también tienen un papel importante en el desarrollo de obesidad [34].

Otros factores que no deben ser menospreciados son aquellos que tienen que ver con el estilo de vida occidental, en el que debido a la escasa conciliación laboral que existe se dificulta el control sobre la alimentación de los hijos. Esto conduce en numerosas ocasiones al consumo de comidas precocinadas [35] y bebidas azucaradas [36]. Otro hábito asociado con el estilo de vida occidental es comer fuera

de casa. Este hecho contribuye al desarrollo de obesidad, puesto que estas comidas generalmente son ricas en carbohidratos, grasas y con un elevado aporte calórico [32]. En el otro lado de la balanza energética se encuentra la disminución en el gasto energético. El aumento de la prevalencia del sobrepeso y obesidad en las últimas décadas se explica, en parte, por la reducción de la actividad física y la adquisición de hábitos de vida sedentarios [37]. El estudio ENKID, realizado en España y publicado en 2006, mostró que tan solo el 32,2% de los niños y el 17,8% de las niñas entre 6 y 9 años realizaban alguna actividad física más de 2 días a la semana [38]. Se asume que el deporte es el factor determinante en el control del peso y es crucial, por tanto, a la hora de establecer un programa de disminución ponderal [39].

## 1.2 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

La OMS define el concepto “factor de riesgo” como cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión [40].

La aterosclerosis es una enfermedad cuyo origen tiene muchas causas. Los estudios de epidemiología han revelado una serie de rasgos que son comunes a aquellos sujetos que la padecen. Estas características se conocen con el nombre de factor de riesgo cardiovascular (FRCV) [41]. Un FRCV es un predictor estadístico de eventos coronarios. Para que los FRCV puedan ser considerados como tales deben cumplir una serie de características, entre las que destacan [41]:

- Fuerza de la asociación: el factor de riesgo aumenta el riesgo de padecer la enfermedad en pacientes expuestos al mismo frente a los no expuestos.
- Gradiente biológico: ha de existir una relación dosis/respuesta entre el factor de riesgo y la enfermedad.
- Relación temporal: el factor debe preceder a la enfermedad.
- Ausencia de distorsiones: no pueden existir sesgos metodológicos en su estudio.
- Ausencia de explicaciones alternativas.
- Verosimilitud biológica: debe existir concordancia con los conocimientos científicos.
- Disminución del riesgo al disminuir la exposición.

En la Tabla 1.4 se muestran los FRCV según su contribución primaria o secundaria a la aparición de enfermedad cardiovascular (ECV) [41]:

*Tabla 1.4: Clasificación de los FRCV en función de su agresividad.*

FRCV
<b>Principales</b>
HTA
Tabaquismo
Dislipemia
Diabetes mellitus
Sobrepeso y obesidad
Edad > 60 años
Antecedentes familiares
<b>Secundarios</b>
Sedentarismo
Estrés
Menopausia

A continuación, en la Tabla 1.5, se muestran los FRCV según si son susceptibles de ser modificados o no mediante intervención [41, 42]:

*Tabla 1.5: Clasificación de los FRCV según su susceptibilidad a ser modificados.*

FRCV
<b>Modificables</b>
HTA
Sobrepeso y obesidad
Dislipemia
Diabetes mellitus
Tabaquismo
Menopausia
<b>No modificables</b>
Edad
Sexo (varón)
Herencia
Antecedentes familiares

Cabe indicar que cuando coexisten diversos FRCV en un mismo sujeto, el cálculo de su riesgo global no es el sumatorio de los mismos, sino que al agregarlos se observa la existencia de un efecto exponencial [41].

### 1.3 OBESIDAD Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La obesidad es un estado patológico en el que existe un aumento del tejido adiposo y que se caracteriza por un elevado grado de inflamación y oxidación [1, 43, 44] que conduce a la aparición de disfunción endotelial [45], dislipidemia [46], aterosclerosis, hipertensión arterial [47], resistencia a la insulina [48, 49], síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y ECV [50, 51]. También se considera la obesidad un factor causante de patologías como enfermedad articular degenerativa, síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), reflujo gastroesofágico, cáncer e hígado graso no asociado a alcoholismo [52–55]. La evolución habitual desde la obesidad hasta la ECV se muestra en la Figura 1.5 [45]:

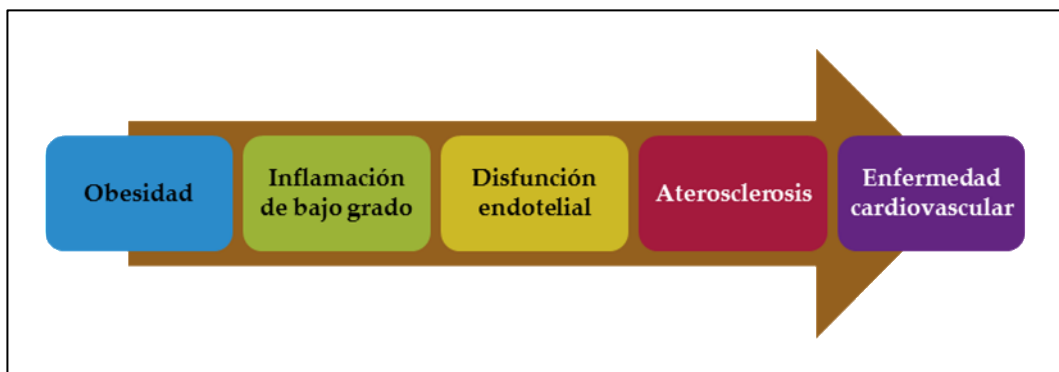


Figura 1.5: Evolución habitual desde la obesidad hasta la enfermedad cardiovascular. Adaptado de [45].

#### 1.3.1 Inflamación crónica

El aumento de grasa visceral, en relación con la obesidad central, representa el tejido adiposo con mayor actividad a la hora de producir un estado de resistencia a la insulina en el organismo. Además, tiene un papel fundamental en la aparición de hipertrigliceridemia, en el aumento de la concentración de colesterol de

lipoproteína de baja densidad (C-LDL) y en la disminución colesterol de lipoproteína de alta densidad (C-HDL) [52]. Los mecanismos por los que se llega a estas situaciones son complejos y están mediados por diferentes citocinas y otros mediadores de tipo inflamatorio: leptina, resistina, interleucina 6 (IL-6), interleucina 18 (IL-18) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), entre otros. La presencia de obesidad junto con concentraciones elevadas de estas citocinas indicaría la presencia de un estado inflamatorio crónico subyacente [46, 52].

La inflamación de bajo grado asociada a obesidad es desencadenada por cambios morfológicos que se dan en el tejido adiposo. Estos cambios se han relacionado con el aumento en las concentraciones séricas de marcadores inflamatorios, como son la IL-6, la proteína C reactiva (PCR), inhibidor del plasminógeno tisular (PAI-1), la P-selectina y la molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1) [43]. Estos efectores proinflamatorios son producidos, o su concentración controlada, por el tejido adiposo, que como se ha dicho anteriormente, tiene funciones endocrinas y se comporta como un órgano secretor complejo. Los patrones de concentración de estas moléculas con actividad proinflamatoria, entre las que se incluyen leptina, TNF- $\alpha$ , resistina e IL-6, están aumentados en la obesidad, mientras que aquellos factores que tienen efectos protectores, como la adiponectina, ven disminuida su concentración [43]. Se conoce que la leptina, el TNF- $\alpha$ , la resistina y la IL-6, además de tener otras funciones, promueven el daño vascular y por tanto conducen a un estado de disfunción endotelial. En esta situación se favorece la aparición de aterosclerosis, que va a ser determinante en la aparición de ECV. Es en este punto donde puede encontrarse el nexo de unión entre la obesidad y la ECV [43].

### **1.3.2 Resistencia a la insulina**

La resistencia a la insulina afecta a la tolerancia a la glucosa y conduce a un estadio previo a la DM2 conocido como prediabetes. La Asociación Americana de Diabetes (ADA) establece criterios diagnósticos diferentes a la OMS basándose en la glucemia basal en ayunas (GBA), en el test de tolerancia oral a la glucosa a las 2 horas (TTOG-2h) y en la hemoglobina glicosilada (HbA1c) [56]. Estos se resumen en la Tabla 1.6:

Tabla 1.6: Criterios diagnósticos de prediabetes según la OMS y la ADA.

OMS		ADA	
	Glucosa (mg/dL)		Glucosa (mg/dL)
GBA	110 - 125	GBA	100 - 125
TTOG-2h	140 - 199	TTOG-2h	140 - 199
HbA1c	6,0 – 6,4% <sup>a</sup>	HbA1c	5,7 - 6,4%

<sup>a</sup>La OMS no establece valores de HbA1c para el diagnóstico de prediabetes, estos valores son los que establece la Sociedad Española de Diabetes (SED). OMS: Organización Mundial de la Salud; ADA: American Diabetes Association. GBA: glucosa basal en ayunas; TTOG-2h: test de tolerancia oral a la glucosa a las 2 horas; HbA1c: hemoglobina glicosilada.

Los criterios diagnósticos de diabetes mellitus de la SED se muestran en la Tabla 1.7:

Tabla 1.7: Criterios diagnósticos de diabetes mellitus propuestos por la SED.

SED	
	Glucosa (mg/dL)
GBA	≥ 126
TTOG-2h	≥ 200
HbA1c	≥ 6,5%

SED: Sociedad Española de Diabetes; GBA: glucosa basal en ayunas; TTOG-2h: test de tolerancia oral a la glucosa a las 2 horas; HbA1c: hemoglobina glicosilada.

Se necesitan dos determinaciones en días diferentes con cualquiera de los criterios de la Tabla 1.7 para establecer el diagnóstico de DM2.

La tolerancia alterada a la glucosa conduce al desarrollo de DM2, que puede iniciar o empeorar el proceso aterogénico [52, 57]. La hiperglucemia crónica que se establece en la diabetes se ha asociado a disfunción y daño en diferentes órganos, como son corazón, riñón, ojos, nervios y vasos sanguíneos [58].

### 1.3.3 Disfunción endotelial

El endotelio vascular tiene diferentes funciones, entre las que destacan la regulación de la función plaquetaria, el control del tono vasomotor y la trombosis. Cuando existe disfunción endotelial se induce la quimiotaxis de moléculas de



adhesión y se promueve la diferenciación de monocitos en macrófagos. Este paso es crítico en la formación de placas ateroscleróticas. En este estado de disfunción endotelial también se encuentran promovidos otros procesos, como la agregación plaquetaria, que junto a la disminución de óxido nítrico (NO) disponible aumenta la concentración de PAI-1, favoreciendo la trombosis [59].

Es complicado tratar la obesidad y la aterosclerosis de manera aislada, puesto que ambas entidades son producidas por multitud de factores comunes y ambas presentan numerosos nexos de unión entre ellas [46].

#### **1.3.4 Dislipemia**

La mayor parte de los pacientes con obesidad padecen también aterosclerosis y dislipemia. La dislipemia constituye un factor de riesgo cardiovascular mayor caracterizado por el aumento de las concentraciones séricas de triglicéridos (TG), colesterol total y sus fracciones de baja densidad, colesterol de lipoproteína de muy baja densidad (C-VLDL), colesterol de lipoproteína de densidad intermedia (C-IDL), C-LDL, así como por la disminución de las concentraciones de C-HDL [60]. Esta situación mantenida puede conducir a la aparición de aterosclerosis. La principal consecuencia de la aparición de la placa ateromatosa reside en que el engrosamiento de la pared arterial conduce a una disminución del lumen vascular [61]. Cuando este fenómeno se da a nivel coronario puede producir infarto de miocardio o angina de pecho. La aterosclerosis puede afectar al riñón, puesto que este es un órgano en el que se suele asentar la placa de ateroma. Cuando esta situación se da a nivel de sistema nervioso central (SNC) se asocia a accidente isquémico transitorio (AIT) e ictus [62].

#### **1.3.5 Hipertensión arterial**

La hipertensión arterial (HTA) se define como una presión arterial sistólica (PAS) de 140 mmHg o superior, o una presión arterial diastólica (PAD) de 90 mmHg o más. Se considera prehipertensión cifras de PAS entre 120 - 139 mmHg y PAD entre 80 - 89 mmHg. Es conocido que la morbilidad aumenta en personas que tienen cifras de presión arterial superiores a 115/75 mmHg [63]. Elevadas cifras de presión arterial están asociadas a mayor probabilidad de padecer infarto de

miocardio, accidente cerebrovascular (ACV), además de insuficiencia cardiaca y renal [64].

La HTA es considerada como un factor de riesgo independiente e importante en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y renales. Es conocido su papel determinante en el desarrollo de aterosclerosis, con el consecuente riesgo de padecer ACV, infarto de miocardio y muerte súbita de origen no traumático [65].

La presencia de obesidad tiene una fuerte asociación con HTA y ECV. Diversos mecanismos explicarían esta relación: activación del sistema nervioso simpático y aumento de la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona [66].

### 1.3.6 Síndrome metabólico

Obesidad, inflamación crónica, resistencia a la insulina, DM2, dislipemia, disfunción endotelial y estado protrombótico son entidades que están interrelacionadas y tienen como consecuencia un aumento en el riesgo cardiovascular. A este cúmulo de factores fisiológicos, bioquímicos, clínicos y metabólicos se le conoce con el nombre de síndrome metabólico (SM) [67], como se muestra en la Figura 1.6:

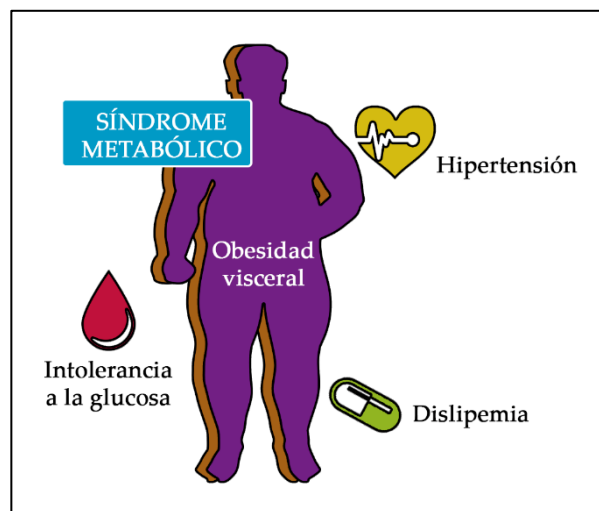


Figura 1.6: Representación gráfica del síndrome metabólico.

La última propuesta de criterios diagnósticos es la realizada en 2005 por la Federación Internacional de Diabetes (IDF), que establece que puede hablarse de SM cuando existe aumento en el perímetro de cintura específico para cada

población (en población europea  $\geq 94$  cm en varones y  $\geq 80$  cm en mujeres) y dos de los siguientes criterios [68]:

- Dislipidemia:
  - Triglicéridos (TG)  $\geq 150$  mg/dL o en tratamiento específico para la reducción de TG.
  - C-HDL  $< 40$  mg/dL en varones o  $< 50$  mg/dL en mujeres o en tratamiento específico.
- Presión arterial:
  - $\geq 130$  mmHg (PAS) o  $\geq 85$  mmHg (PAD) o en tratamiento antihipertensivo.
- Intolerancia a la glucosa:
  - GBA  $\geq 100$  mg/dL o DM2 previamente diagnosticada.

La Figura 1.7 muestra el mapa de disfunciones que ocurren en el SM en diferentes órganos. Los ácidos grasos libres (AGL) son liberados desde el tejido adiposo. Cuando los AGL alcanzan el hígado, se estimula la producción de glucosa, TG y la secreción de C-VLDL. Los AGL reducen la sensibilidad insulínica en el músculo esquelético al inhibir la captación de glucosa mediada por insulina. Debido al descenso del consumo de glucosa por parte del músculo esquelético, aumenta la concentración de glucosa en la circulación sanguínea. Esto conlleva un

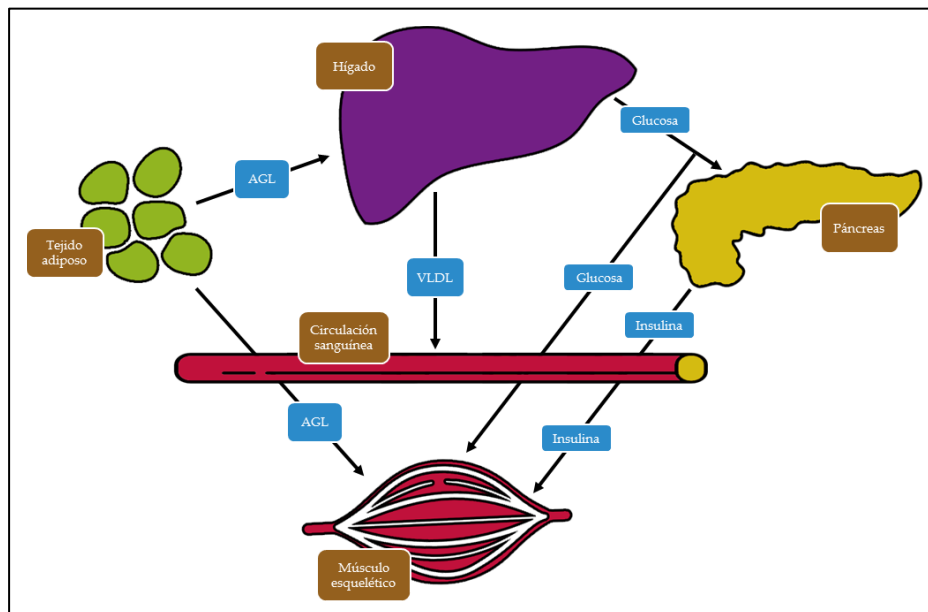


Figura 1.7: Mapa de disfunciones observadas en el SM.

incremento en la secreción de insulina por parte del páncreas. Este estado de hiperinsulinemia tiene como consecuencia un aumento en la reabsorción de sodio, aumentando por tanto la actividad del sistema nervioso simpático. Todo esto tiene como resultado un aumento de la presión arterial [69].

#### 1.4 MENOPAUSIA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La menopausia supone un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular, debido a que la depleción fisiológica de estrógenos en el organismo de la mujer tiene un efecto negativo sobre la función cardiovascular y el metabolismo.

La menopausia combina muchos factores de riesgo tradicionales. A los anteriormente comentados (intolerancia a la glucosa, dislipemia, hipertensión arterial, aumento del tono simpático, disfunción endotelial e inflamación vascular), debemos sumar el cambio de distribución de grasa desde un patrón ginoide a uno androide (Figura 1.8) [70–72].

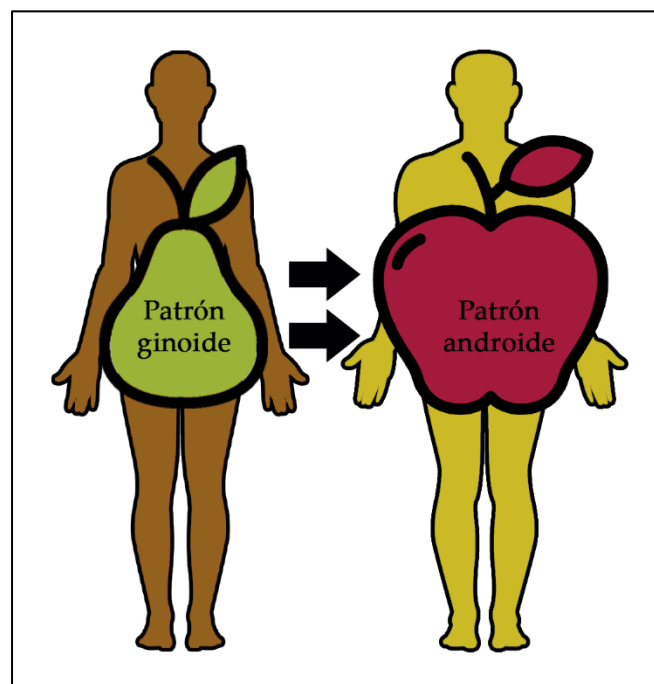


Figura 1.8: Patrón ginoide (izquierda) y androide (derecha) de distribución de la grasa.

Las ECV tienen poca incidencia en mujeres jóvenes, pero en la mayoría de los países desarrollados se convierten en la principal causa de morbimortalidad en mujeres mayores de 50 años. En conjunto, las ECV y las enfermedades cerebrovasculares representan la mayoría de las muertes en mujeres posmenopáusicas (en torno al 75%), un porcentaje significativamente mayor que el cáncer de mama (sobre el 8%) [45, 73].

#### 1.4.1 Fisiología de la menopausia

La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) define el climaterio (del griego *klimater*, escalón) como un amplio periodo de la vida de la mujer comprendido desde la época de madurez y plena capacidad reproductiva hasta la senectud. El climaterio se encuentra, pues, entre dos épocas bien diferenciadas: la madurez sexual y reproductiva, por un lado, y la senectud por otro. Este periodo sería semejante a la pubertad (en el otro extremo de la vida), otra época de transición entre la infancia y la madurez sexual. En ambos periodos existe una fecha clave: el inicio de la menstruación (menarquia) en la pubertad, y la última menstruación (menopausia) en el climaterio [74–76].

La SEGO define la menopausia (también de origen griego: *menos*, mes y *pausia*, cese) como la fecha de la última menstruación. Es uno de los sucesos del climaterio. Para considerar una menstruación como la última deben transcurrir al menos 12 meses sin la misma. Menopausia es, entonces, un concepto retrospectivo y no sinónimo de climaterio, aunque en ocasiones, incluso en la literatura médica especializada, se utilicen indistintamente. La OMS define la menopausia como el cese permanente de la menstruación, determinado de manera retrospectiva, después de 12 meses consecutivos de amenorrea y sin causas patológicas [77].

La edad promedio a la que aparece la menopausia se sitúa entre 46,7 y 50,1 años en las mujeres españolas [78].

En la Figura 1.9 se muestran las concentraciones séricas medias de algunas hormonas ováricas (estradiol) e hipofisarias [hormona foliculoestimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH)] durante la transición menopáusica [79]:

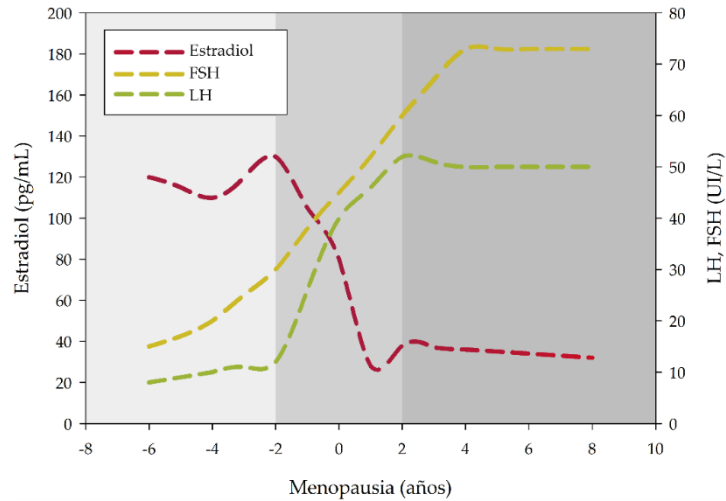


Figura 1.9: Concentraciones séricas de FSH, LH y estradiol durante la transición a la menopausia. Adaptado de [79].

Las principales fuentes de estrógenos en la mujer premenopáusica son los ovarios. Las células de la teca producen andrógenos, que son aromatizados a estrógenos mediante la aromatasa en las células de la granulosa del ovario, durante el proceso conocido como esteroidogénesis [80]. Esta reacción se muestra en la Figura 1.10.

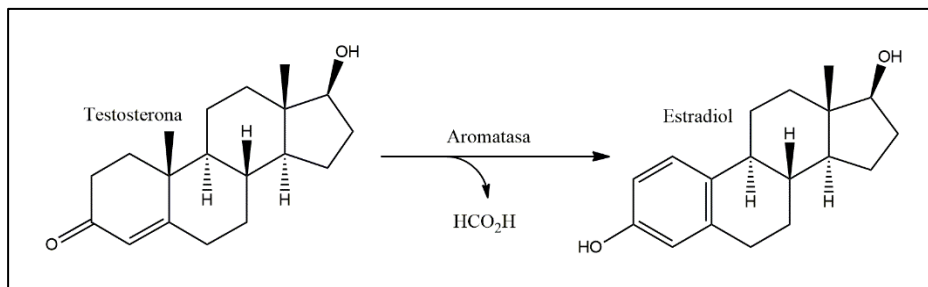


Figura 1.10: Reacción de aromatización dentro del proceso de esteroidogénesis. Conversión de testosterona (andrógeno) en estradiol (estrógeno).

Una vez alcanzada la menopausia, la principal fuente de producción de estrógenos se convierte en extragonadal. Los estrógenos son producidos a partir de ese momento, mayoritariamente, por el tejido adiposo, que tiene la capacidad de expresar las enzimas esteroidogénicas aromatasa y 17-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 $\beta$ -HSD) [81]. Esta última enzima cataliza la reacción de reducción de carbonilo (estrone) a hidroxilo (estradiol), tal y como se muestra en la Figura 1.11.

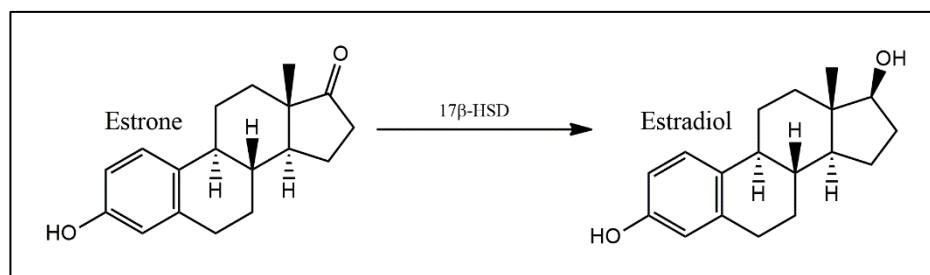
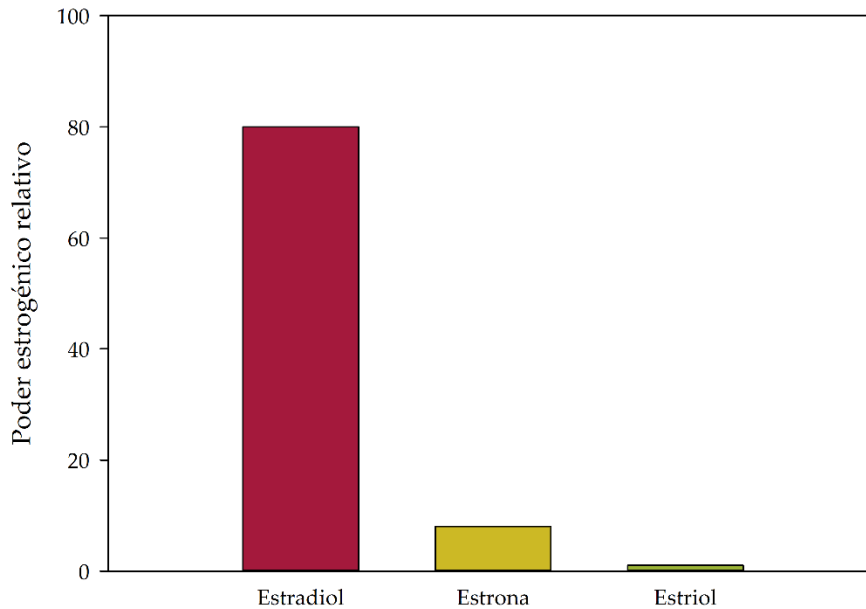


Figura 1.11: Reacción de reducción dentro del proceso de esteroidogénesis. Conversión de estrone en estradiol.

En las mujeres posmenopáusicas, el estrógeno predominante es la estrone, que tiene una potencia estrogénica 10 veces menor que el estradiol. La potencia relativa de los principales estrógenos se presenta en la Figura 1.12. La producción extragonadal de estrógenos está influenciada por la edad y el peso. La aromatasa también se encuentra en células endoteliales y en células del músculo liso de los vasos sanguíneos. Este hecho sugiere una acción paracrina o autocrina de los estrógenos. La concentración sanguínea de estrógenos no refleja las formas biológicamente activas a nivel de tejido, ya que dependen de la actividad enzimática local y de la unión a los transportadores de proteínas, tales como la globulina de unión a hormonas sexuales (SHBG). La biodisponibilidad y la funcionalidad de los receptores de estrógenos también juega un papel importante en la respuesta tisular a los estrógenos [81].



*Figura 1.12: Comparación del poder estrogénico relativo de los principales estrógenos donde se le ha asignado un valor de 1 al poder estrogénico del estriol.*

Parece que los estrógenos protegen el sistema cardiovascular a diferentes niveles. A través de sus acciones directas, los estrógenos influyen en la evolución de las lesiones ateroscleróticas, mientras que mediante sus acciones indirectas modulan diversos factores vasoactivos, proinflamatorios y metabólicos, así como factores de la coagulación [82–85]. Estas acciones se resumen en la Tabla 1.8 [94]:



Tabla 1.8: Mecanismos de acción estrogénica sobre el sistema cardiovascular.

Mecanismos estrogénicos
<b>Acciones directas</b>
Genómicas
Vasodilatación (aumento en la producción de NO)
Protección ante la formación y calcificación de ateromas
Modulación de la respuesta al daño endotelial
No genómicas
Vasodilatación rápida (modulación de canales de iones)
<b>Acciones indirectas</b>
Metabolismo lipídico
Metabolismo de carbohidratos
Coagulación
Factores proinflamatorios y efectos antioxidantes

#### 1.4.1.1 Acciones directas de los estrógenos

Los estrógenos actúan sobre la función celular a través de mecanismos genómicos y no genómicos; el efecto genómico es más lento y se caracteriza mejor. La alteración de la expresión de diversos genes que resultan de la acción de los estrógenos depende de la activación de los dos receptores estrogénicos nucleares (ER), tipo  $\alpha$  y tipo  $\beta$ , que actúan como factores de transcripción [86, 87]. El segundo mecanismo de acción de los estrógenos es no genómico, ya que no depende de los cambios en la expresión génica, y ocurre pocos minutos después de la unión del estrógeno con sus receptores situados en la membrana celular. Un ejemplo sería la vasodilatación que se produce rápidamente después de la administración de estrógenos, que no puede ser atribuida a un efecto genómico. El efecto de los estrógenos en los cambios en el perfil metabólico, en el proceso inmunológico y en la respuesta a la lesión vascular depende de la actividad transcripcional genómica [82, 88].

Los estrógenos actúan sobre el sistema cardiovascular [82–84] a través de sus receptores ER $\alpha$  y ER $\beta$ , que se expresan en las células endoteliales [89] y en las células del músculo liso de los vasos sanguíneos [82, 90]. ER $\alpha$  ha sido el más estudiado y se ha demostrado la importancia de este receptor en los efectos ateroprotectores de los estrógenos [91]. En mujeres premenopáusicas con lesiones ateroscleróticas más severas en sus vasos sanguíneos se ha encontrado una menor expresión de ER $\alpha$  [90].

En ausencia de un ligando, los receptores estrogénicos se localizan dentro del citoplasma, asociados con proteínas citoplasmáticas que actúan como chaperonas, como, por ejemplo, la proteína de choque térmico 90 (hsp 90). Cuando el estrógeno libre alcanza la célula diana, estas proteínas se disocian del receptor y ocurren varios eventos bioquímicos, tales como la activación de canales iónicos y cambios en la actividad enzimática [92]. Cuando la hsp 90 se disocia del receptor, el complejo receptor estrogénico-estrógeno se desplaza al núcleo, donde es homodimerizado o heterodimerizado por un ER $\alpha$  o un ER $\beta$ . Luego se une al elemento de respuesta a estrógenos (ERE) de la secuencia de ADN, próximo al gen sensible. El proceso de transcripción depende del promotor y de los diversos coactivadores y correpresores. Dependiendo del ligando, el complejo adquiere una conformación especial, que finalmente determina la unión de un cierto coactivador al promotor [82, 83, 88]. La interacción compleja entre corre reguladores y homo o heterodímeros de ER da como resultado una respuesta altamente específica después de llevarse a cabo la activación transcripcional [81].

En la Tabla 1.9 se muestra la influencia de los estrógenos en genes que tienen alguna actividad dentro de la función cardiovascular:

*Tabla 1.9: Influencia genómica de los estrógenos [81].*

<b>Genes regulados por estrógenos</b>
<b>Genes involucrados en vasodilatación</b>
Prostaciclina ciclooxygenasa
Prostaciclina sintetasa
NO sintasa endotelial (eNOS)
<b>Genes involucrados en vasoconstricción</b>
Endotelina-1
Receptor tipo 1 de la angiotensina II (AT1)
Renina
Enzima convertidora de angiotensina
<b>Genes involucrados en el remodelado vascular y angiogénesis</b>
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)
Colágeno
Metaloproteinasa de matriz (MMP)
<b>Genes relacionados con el metabolismo lipídico</b>
Lipoproteína lipasa
Apolipoproteínas A, B, D, E
Leptina
<b>Genes relacionados con el proceso inflamatorio</b>
Citocinas (IL-6, TNF- $\alpha$ )
VCAM-1
<b>Genes relacionados con la coagulación y la fibrinólisis</b>
Fibrinógeno
Proteína S
Factores de coagulación V, VII, IX, X
Inhibidor del activador de plasminógeno 1 (PAI-1)
Antitrombina III
Activador del plasminógeno tisular
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)

Como se ha dicho en este apartado, además de las acciones de tipo genómico, los estrógenos también muestran acciones rápidas. En la actividad no genómica de los estrógenos no está involucrada la maquinaria transcripcional. En este proceso están implicados receptores de membrana, así como vías de señalización celular, con la participación de canales iónicos, sobre todo de Ca y K, proteínas G y receptores acoplados a proteína G (GPCR), y tirosina cinasas, como por ejemplo, la 3-fosfoinositol cinasa (PI3K) [81, 93].

Los receptores de membrana involucrados no han sido bien caracterizados, pero hay evidencia de que pueden ser los mismos receptores citoplasmáticos ER $\alpha$  y ER $\beta$  situados en caveolas de la membrana celular [94, 95]. Recientemente, se ha informado de que un receptor intracelular transmembrana G acoplado a proteína actúa como receptor de estrógeno, probablemente mediando algunos de los efectos de estrógenos que se producen rápidamente [96]. Las acciones no genómicas de los estrógenos resultan críticas para el sistema cardiovascular, porque regulan la vasodilatación rápida de vasos coronarios. Esta vasodilatación se logra a través de la apertura de los canales de Ca y la activación de los canales de K, así como a través de la secreción de moléculas vasoactivas, como el óxido nítrico (NO), del endotelio y las células del músculo liso vascular [93]. De manera similar, la secreción rápida de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas está posiblemente regulada por estrógenos, mediante una acción no genómica [81, 97].

#### *1.4.1.2 Acciones indirectas de los estrógenos*

Durante la etapa fértil, las mujeres tienen concentraciones más bajas de lípidos y C-LDL que los hombres, mientras que estas aumentan después de la menopausia [98–100]. Por el contrario, la diferencia en las concentraciones de C-HDL entre hombres y mujeres posmenopáusicas sigue siendo la misma. Los efectos de los estrógenos sobre el metabolismo de los lípidos están mediados por ER $\alpha$ . Los estrógenos participan tanto en la lipogénesis como en la lipólisis. A nivel transcripcional aumentan la expresión hepática de los genes de receptores de C-LDL y disminuyen la transcripción del gen de la lipoproteína lipasa (LPL) a través de ER $\alpha$ . Por lo tanto, cuando las concentraciones de estrógeno disminuyen después de la menopausia, se observa un aumento de la actividad LPL y esto probablemente contribuye al aumento de ácidos grasos libres y la acumulación de grasa abdominal [81, 101].

A nivel inflamatorio, los estrógenos disminuyen tanto VCAM-1 como la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1) y disminuye la acumulación de leucocitos en el endotelio [102]. Se ha encontrado que tanto monocitos como neutrófilos y linfocitos T y B expresan receptores estrogénicos, principalmente ER $\alpha$ . Ante la disminución de las concentraciones plasmáticas de estrógenos, estas células del sistema inmunológico se muestran más activas, conduciendo a un estado general de carácter proinflamatorio [81, 85, 103].

Los estrógenos alteran la transcripción de genes que codifican para varias proteínas que participan en el sistema de coagulación. Afectan al fibrinógeno y a los factores V, VII, IX, X y al inhibidor de la vía del factor tisular y disminuyen las concentraciones de antitrombina III, proteína S y PAI-1 [104, 105]. Además, los receptores de estrógenos que se expresan en las plaquetas influyen en la migración, la adhesión y la agregación de estas células y, por tanto, aumentan el riesgo trombótico. Estos efectos podrían ofrecer una explicación que justificaría el aumento de eventos trombóticos relacionados con el uso de terapia hormonal sustitutiva (THS) [105, 106].

#### **1.4.2 Menopausia y ganancia de peso**

Las mujeres posmenopáusicas tienden a aumentar de peso desde el primer año de la menopausia y experimentan una redistribución de la grasa corporal de un patrón ginoide a uno androide como ya se explicó en la página 34. Un estudio de Gambacciani y cols. mostró que en mujeres que alcanzaron la menopausia de manera temprana se observaron aumentos significativos en el peso corporal. Estos aumentos, que se produjeron debido al aumento de grasa corporal total, llegaron a ser de hasta 5 kg a lo largo de los 36 meses de seguimiento del estudio [71].

### 1.4.3 Menopausia, diabetes e hipertensión

Los aumentos en la grasa corporal tanto en hombres como en mujeres están asociados con efectos perjudiciales que afectan a la sensibilidad a la insulina, al perfil lipídico plasmático, a la presión arterial y al tono simpático. En particular, el aumento del peso corporal y la obesidad se asocian con una mayor resistencia a la insulina y con un aumento de la presión arterial, como se muestra en la Figura 1.13 [72], cambios que se acentúan en mujeres posmenopáusicas debido al déficit de estrógenos. En comparación con las mujeres premenopáusicas, las mujeres posmenopáusicas tienen una resistencia a la insulina significativamente mayor [107]. La resistencia a la insulina conduce a altas concentraciones de insulina circulante, causando la retención de Na y de líquido, lo que puede conducir a padecer HTA e insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) [70].

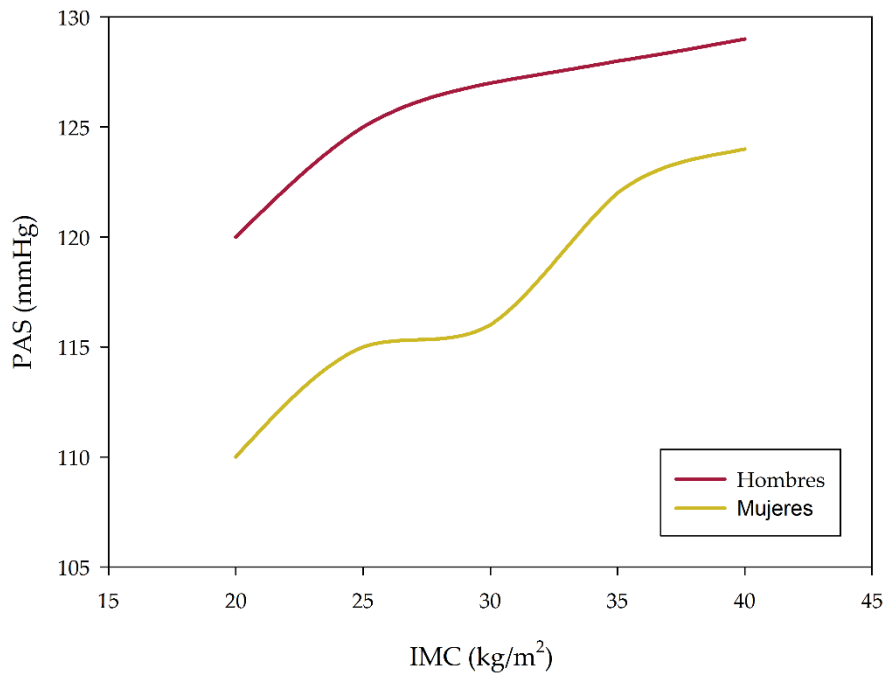


Figura 1.13: Efecto del IMC sobre la PAS. Adaptado de [72].

El desarrollo de HTA y diabetes son factores de riesgo importantes para la aparición de ECV, especialmente en las mujeres posmenopáusicas. Las mujeres con diabetes tienen un mayor riesgo relativo de mortalidad por ECV que los hombres

diabéticos. De la misma manera, las mujeres con hipertensión también tienen un mayor riesgo de sufrir ECV en comparación con hombres hipertensos [108].

### 1.5 BIOMARCADORES DEL ESTADO INFLAMATORIO

En este apartado se pretende realizar una revisión de algunos biomarcadores que actualmente se proponen como el nexo de unión entre la inflamación, la obesidad y sus complicaciones asociadas.

#### 1.5.1 Factor de necrosis tumoral $\alpha$

El TNF- $\alpha$  es una proteína que contiene 233 aminoácidos con un peso molecular de 25,6 kDa. Inicialmente, el TNF- $\alpha$  se produce en una forma asociada a membrana, que se somete a continuación a la eliminación enzimática de 76 aminoácidos N-terminales mediante la enzima metalopeptidasa ADAMS17, una enzima convertidora de TNF- $\alpha$ , para generar la molécula de TNF- $\alpha$  de 17 kDa soluble, que se conforma como homotrímero [109], cuya estructura secundaria se muestra en la Figura 1.14 [110].

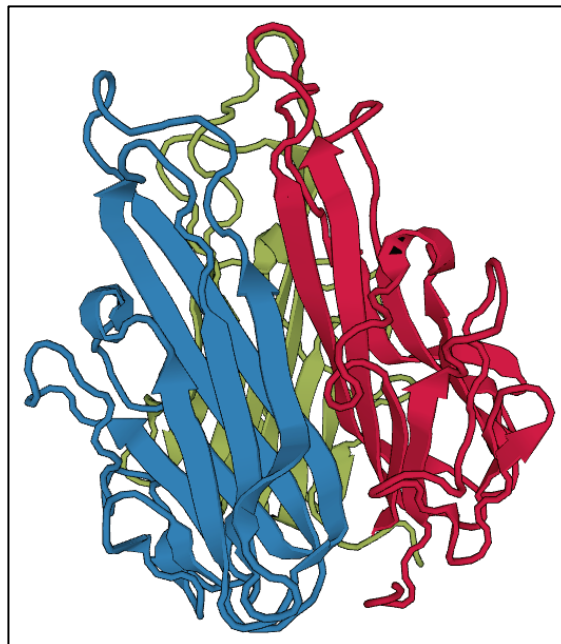


Figura 1.14: Estructura tridimensional del homotrímero de TNF- $\alpha$ . Adaptado de [110].

El TNF- $\alpha$  es una de las principales citocinas mediadoras en la respuesta inmune e inflamatoria [111]. TNF- $\alpha$  es una citocina asociada a la formación de ateroma. Esta molécula es secretada por macrófagos, células del tejido adiposo, células endoteliales y miocitos. Existe evidencia que sugiere que el TNF- $\alpha$  induce la apoptosis de los adipocitos [112] y fomenta la resistencia a la insulina, inhibiendo la vía de señalización del substrato 1 del receptor de la insulina [113]. Su acción paracrina tendería, además, a exacerbar la liberación de AGL, induciendo de este modo una dislipemia aterogénica [114].

La concentración plasmática de TNF- $\alpha$  está aumentada en pacientes obesos en comparación con sujetos sanos. Las concentraciones de TNF- $\alpha$  se correlacionan con el IMC. De la misma manera que en pacientes obesos, aquellos pacientes con síndrome metabólico tienen concentraciones superiores de TNF- $\alpha$  en sangre en comparación con pacientes obesos sin otro criterio de síndrome metabólico [112]. El mismo estudio fue capaz de confirmar que existe correlación positiva entre las concentraciones de TNF- $\alpha$  plasmático y la resistencia a la insulina evaluada mediante el índice HOMA-IR. Este índice, acrónimo en inglés de *homeostatic model assessment – insulin resistance*, utiliza los valores en ayunas de las concentraciones de glucosa e insulina para evaluar el grado de resistencia a la insulina. La ecuación para el cálculo de este índice se detalla en la página 84.

Por el contrario, se estableció una correlación negativa entre la concentración de TNF- $\alpha$  plasmático y la de C-HDL. Como se ha dicho anteriormente, se ha visto que el TNF- $\alpha$  se encuentra sobreexpresado en el tejido adiposo blanco en estados de obesidad y resistencia a la insulina [115]. Además de tener relación con la obesidad y resistencia a la insulina, el TNF- $\alpha$  se ha asociado también con patologías como cáncer, dislipidemia, infección e hipertensión arterial [116]. Se encuentran concentraciones plasmáticas elevadas y mantenidas de TNF- $\alpha$  en aquellos pacientes con elevado riesgo de eventos coronarios recurrentes [117, 118].



### 1.5.2 Interleucina 6

La IL-6 es una proteína glicosilada cuya masa molecular oscila entre los 22 y los 27 kDa, dependiendo del número y tipo de modificaciones postraduccionales que se llevan a cabo en diferentes tejidos. En un primer momento, la IL-6 es sintetizada como un precursor de 212 aminoácidos, de los cuales 28 residuos forman una secuencia señal, lo que da como resultado final una proteína de 184 aminoácidos [119]. La estructura secundaria de la IL-6 se muestra a continuación, en la Figura 1.15 [120]:



Figura 1.15: Estructura tridimensional de la IL-6. Adaptado de [120].

La IL-6 es la principal citocina con actividad procoagulante y junto con el TNF- $\alpha$  son las dos citocinas que mejor han sido estudiadas en relación con la obesidad [121, 122]. En pacientes obesos se han encontrado concentraciones elevadas de IL-6, tanto en suero como en tejido adiposo blanco. Los adipocitos producen el 30% de la cantidad circulante de IL-6, siendo esta contribución mayor en la grasa visceral que en la grasa de localización subcutánea [121]. Se han realizado estudios en humanos que han comprobado que las concentraciones plasmáticas de IL-6 se encuentran elevadas en pacientes con sobrepeso y obesidad. Además, estos estudios correlacionan con medidas de adiposidad, como el perímetro abdominal, la relación cintura/cadera y el IMC [123]. Se han descrito descensos significativos de las concentraciones de IL-6 en pacientes obesos que se someten a estudios de intervención dietética y ejercicio [124].

La asociación que existe entre medidas de resistencia a la insulina, DM2 y concentraciones de IL-6 [125], podría predecir el desarrollo de DM2 en algunas situaciones [126]. De hecho, la DM2 en humanos se ha relacionado con algunos polimorfismos en el promotor del gen IL-6 [127]. Aun así, el papel de la IL-6 en la pérdida de sensibilidad a la insulina está en discusión, ya que algunos autores no han encontrado variaciones en el metabolismo de los carbohidratos tras administración de IL-6, lo que podría indicar que la IL-6 por sí sola es improbable que esté relacionada con el desarrollo de resistencia a la insulina [128].

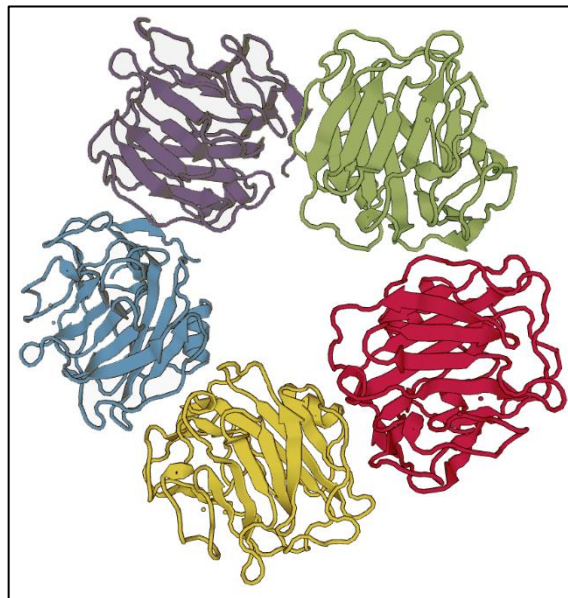
Se ha propuesto que la IL-6 pudiera ser el nexo de unión entre obesidad, inflamación crónica de bajo grado, estrés y enfermedad cardiovascular [129], postulándose su papel en la aparición de enfermedades cardiovasculares [130].

Se conoce el rol de la IL-6 como inductor de la respuesta de fase aguda hepática, promoviendo la síntesis de numerosas proteínas, como la proteína C reactiva, el fibrinógeno, la haptoglobina y la proteína sérica del amiloide A, que intervienen en el proceso inflamatorio [118, 131].

### **1.5.3 Proteína C reactiva**

La PCR se sintetiza como un polipéptido de 206 aminoácidos y se segrega en los hepatocitos como un monómero no glicosilado de aproximadamente 23 kDa [132, 133], que se asocia de manera no covalente para formar una estructura de anillo homopentamérica (Figura 1.16) característica de los miembros de la familia de las pentraxinas, a la que pertenece [134]. La PCR podría ser considerada como el principal biomarcador para evaluar la inflamación sistémica. Se sintetiza en el hígado, en algunos leucocitos y en el tejido adiposo en respuesta a numerosas señales, en particular al incremento de las concentraciones de IL-6 y otras citocinas inflamatorias sistémicas [135, 136].

Tradicionalmente, en la práctica clínica, la PCR se ha usado como un biomarcador indicador de inflamación severa, como la que se da en situaciones como infecciones agudas o enfermedades inflamatorias crónicas (con concentraciones plasmáticas mayores de 0,5 mg/dL). Sin embargo, está demostrado que utilizando ensayos de alta sensibilidad en la medida de PCR, pequeños incrementos en sus concentraciones plasmáticas (en rangos de 0,2 – 0,5 mg/dL) son indicativos de inflamación de bajo grado, que además no está exenta de relevancia clínica [137].



*Figura 1.16: Estructura tridimensional de la PCR. Adaptado de [134].*

La PCR se considera un factor de riesgo cardiovascular independiente y se ha asociado de manera positiva con el IMC, con otras medidas de adiposidad y con la resistencia insulínica [138, 139].

Como el estado proinflamatorio se ha asociado a un aumento del tejido adiposo visceral, se piensa que las concentraciones de PCR ultrasensible (PCRus) están aumentados cuando la obesidad central se cronifica. La magnitud del incremento de PCRus asociado a obesidad visceral puede variar de manera diferente entre individuos [140]. Así pues, una vez establecida la correlación entre PCRus y riesgo de ECV futura, la evaluación de la variación de PCRus podría ser una buena manera de diferenciar los individuos obesos de menor riesgo de aquellos que

presenten mayor riesgo de desarrollo de eventos cardiovasculares en un futuro [140–142].

Se ha publicado que el ejercicio físico y la pérdida de peso inducen una disminución tanto del volumen de tejido adiposo como de las concentraciones plasmáticas de PCR [124]. En otro estudio, la disminución de las concentraciones de PCR tras una intervención dietética y realización de actividad física se asoció a cambios beneficiosos, tanto en la adiposidad abdominal como en el metabolismo lipídico, como se puso de manifiesto en la disminución de la trigliceridemia y de AGL [143]. Así pues, el descenso de las concentraciones de PCR originado por un cambio en el estilo de vida hacia unos hábitos saludables podría explicar, al menos parcialmente, estos efectos cardiosaludables [139].

#### **1.5.4 Otros biomarcadores proinflamatorios**

Además de los biomarcadores bioquímicos del estado inflamatorio descritos a lo largo del presente apartado, existen otros que van a ser descritos a continuación pero que no forman parte de este trabajo.

##### *1.5.5.1 Interleucina 1*

La interleucina 1 (IL-1) es una citocina proinflamatoria prototípica que actúa como mediador precoz de la inflamación. La IL-1 es producida por macrófagos, monocitos, fibroblastos, células dendríticas, linfocitos B y NK y células epiteliales [144]. La IL-1 aumenta la expresión de factores de adhesión en células endoteliales para atraer a macrófagos y linfocitos al lugar de infección o inflamación. Actúa sobre el hipotálamo, ejerciendo un aumento de la temperatura corporal. Debido a que la IL-1 activa el mecanismo de la fiebre a esta citocina se le denomina pirógeno endógeno. Además de la fiebre, la IL-1 promueve también la hipotensión y la vasodilatación [145].

Con el nombre de IL-1 se denomina a un gran grupo de 11 citocinas. Las más estudiadas son la IL-1 $\alpha$  y la IL-1 $\beta$ , ambas con actividad proinflamatoria. IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  se sintetizan como proteínas precursoras (pro-IL-1 $\alpha$  y pro-IL-1 $\beta$ ), que luego se someten a escisión proteolítica por calpaína y caspasa-1, respectivamente, para producir las formas activas maduras [146].

#### *1.5.5.2 Interleucina 18*

La IL-18 es otra citocina proinflamatoria secretada por adipocitos. Presenta propiedades aterogénicas, actuando sobre otras citocinas como IL-6, TNF- $\alpha$  e interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), que podría ser un mediador importante en la inflamación subclínica y la obesidad. De la misma manera, la IL-18 podría suponer el nexo de unión entre la obesidad y la intolerancia a la glucosa, la DM2 y las enfermedades cardiovasculares [147].

Las concentraciones plasmáticas de IL-18 se correlacionan de una manera positiva con el peso corporal y la grasa abdominal. De la misma manera, se ha encontrado que la hiperglucemia provoca un aumento de las concentraciones plasmáticas de este biomarcador [148].

Las concentraciones de IL-18 se han correlacionado positivamente con los criterios clínicos de síndrome metabólico, tales como IMC, circunferencia de cintura, glucemia en ayunas y concentraciones de insulina. Los pacientes con DM2 tienen concentraciones plasmáticas más altas de esta citocina [149]. De la misma manera, las concentraciones de IL-18 se han correlacionado de manera negativa con las concentraciones de C-HDL en personas obesas [150].

#### *1.5.5.3 Leptina*

La leptina es una hormona que se sintetiza principalmente en el tejido adiposo. Es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica hacia el hipotálamo. Allí, puede estimular las neuronas anoréxicas, con la consiguiente disminución del apetito [151]. La leptina también es capaz de aumentar el uso de energía, reduciendo la eficacia metabólica.

Las concentraciones plasmáticas de leptina son proporcionales a la cantidad de grasa corporal. Se considera que la leptina circulante actúa como una señal que indica niveles adecuados de reserva de energía [152]. Por el contrario, sus concentraciones se encuentran reducidas en pacientes anoréxicos. Este hecho demostraría que la concentración de leptina esté mediada por el estado nutricional [153].

Hoy en día, se sabe que la leptina está relacionada con otras citocinas como la IL-6, ya que comparten la mayor parte de la estructura proteica. Este hecho confiere una acción sinérgica entre ambas [152]. Además, no sólo se sabe que la

leptina actúa como controlador del peso corporal, sino que además tiene un papel como vínculo de unión entre el sistema neuroendocrino y el sistema inmune [154].

#### *1.5.5.4 Inhibidor del activador del plasminógeno*

El inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) es la principal enzima de un grupo de cuatro inhibidores de la serina peptidasa, que actúa modulando la remodelación de la matriz extracelular y la fibrinólisis [155].

Se ha demostrado que PAI-1 presenta una estrecha relación con el IMC, los triglicéridos y la resistencia a la insulina [156]. Se han descrito diferencias entre sexos, siendo la relación más fuerte en hombres que en mujeres [157]. También se ha visto que las concentraciones de PAI-1 disminuyen con la restricción calórica, la pérdida de peso, la disminución de la grasa corporal y cuando mejora la resistencia a la insulina [135].

#### *1.5.5.5 Adiponectina*

La adiponectina es una proteína de 30 kDa, cuya región más importante es la situada en un dominio similar al colágeno [158]. La adiponectina se produce principalmente en el tejido adiposo blanco y específicamente en adipocitos maduros. El papel de la adiponectina está mediado por receptores conocidos como receptores de adiponectina 1 y 2 (Adipor 1 y 2). Aunque en proporciones relativas, Adipor1 y Adipor2 pueden variar de tejido a tejido y, en general, se expresan simultáneamente [159]. Una molécula adicional de la superficie celular llamada T-cadherina muestra una afinidad significativa por la adiponectina, que al unirse a esta le asocia un papel cardioprotector [160].

#### *1.5.5.6 Ghrelina*

La ghrelina es una hormona neuroendocrina secretada principalmente por el estómago. Su función es estimular el apetito directamente a través de la activación del receptor de la hormona del crecimiento en el hipotálamo, e indirectamente mediante el aumento del NPY. La obesidad, la resistencia a la insulina y la hipertensión se asocian con bajas concentraciones plasmáticas de ghrelina [161, 162].

### 1.5.5.7 Homocisteína

La homocisteína (Hcys), ácido 2-amino-4-sulfamil butanoico, es un aminoácido no esencial obtenido en los animales vertebrados por desmetilación de la metionina, un aminoácido esencial obtenido de la dieta, principalmente de alimentos de origen animal [163].

El mecanismo por el cual la hiperhomocisteinemia constituye un factor de riesgo cardiovascular no está completamente claro. Se ha propuesto que un incremento de las concentraciones de Hcys tiene como consecuencia un aumento del estrés oxidativo. Este hecho conduce a un deterioro en la función endotelial y a su vez favorece un estado protrombótico, teniendo como resultado un aumento del riesgo aterogénico [164].

En la Figura 1.17 se resume el comportamiento de todos los biomarcadores en relación a la obesidad explicados en este apartado.

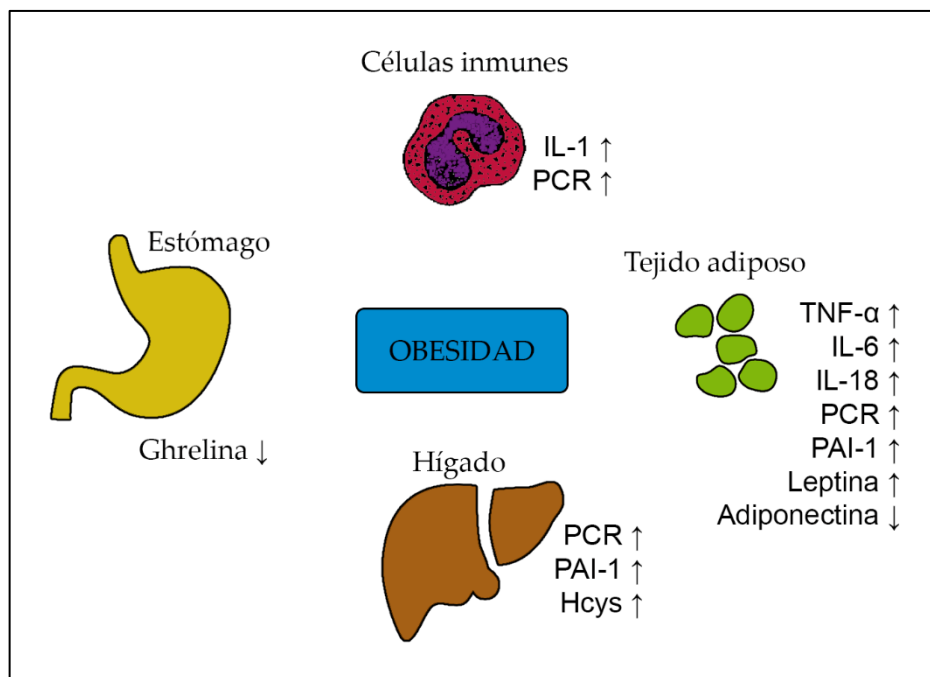


Figura 1.17: Resumen del comportamiento en la obesidad de diferentes biomarcadores bioquímicos relacionados con la inflamación según el tejido en que son producidos.

## 1.6 BRÓCOLI

### 1.6.1 Generalidades

El brócoli (*Brassica oleracea* L. var *Italica*), también conocido como bróquil, bróculi o brécol, debe su nombre a su forma de brazo o rama (*bracchium* en latín). En cuanto a su clasificación taxonómica, el brócoli pertenece a la familia *Brassicaceae* (anteriormente conocido como *Cruciferae*) y al género *Brassica*. Este género engloba una gran cantidad de vegetales, incluyendo entre otros, coliflor, rúcula, rábano, repollo, mostaza y col [165].

Se piensa que procede originariamente de la parte oriental del Mediterráneo, donde se cree que se domesticó hace miles de años como un brócoli primitivo y se introdujo en Europa en la Edad Media [166, 167].

Según datos del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente durante el año 2014 en España se destinó una superficie de tierra de 26.612 ha al cultivo de brócoli, con una producción de 445.884 T. La Región de Murcia fue la primera Comunidad Autónoma del Estado tanto en superficie destinada a su cultivo (12.001 ha) como en producción (213.366 T), lo que supuso el 45% de la superficie total estatal de tierras destinadas a su cultivo y un 48% de la producción total estatal [168].

### 1.6.2 Características morfológicas

La raíz del brócoli es gruesa, fusiforme y se desarrolla verticalmente, con abundantes raíces secundarias que rara vez se ramifican. Es una planta herbácea, vivaz, con un tallo vigoroso y grande. Sobre el tallo nacen, en las axilas de las pequeñas hojas, inflorescencias de tamaño diminuto y forma redondeada que se denominan floretes. Las hojas del brócoli son de color verde más o menos oscuro, dependiendo de la variedad de que se trate. Poseen una nerviatura fuerte y un peciolo largo. Las flores forman inflorescencias de color verde o morado, que se encuentran intercaladas entre hojas sin formar una única pella, a diferencia de su pariente más cercana, la coliflor. Las pellas de brócoli son generalmente de menor tamaño que en otras variedades de la especie *Brassica oleracea*, como la col o la coliflor. La pella de brócoli puede llegar a medir 20 cm de diámetro y alcanzar los



2 kg de peso. El brócoli produce silicuas de 5 a 6 cm con multitud de semillas de color oscuro [169]. En la Figura 1.19 se muestra un ejemplar de brócoli.



*Figura 1.19: Fotografía de un ejemplar de brócoli.*

Los brotes de brócoli son germinados de pocos días de edad, con niveles de concentración de fitoactivos hasta 10 veces superiores a los del brócoli adulto. En la Figura 1.18 se ilustran especímenes de brotes de brócoli:



*Figura 1.18: Fotografía de varios especímenes de brotes de brócoli.*

### **1.6.3 Requerimientos para el cultivo**

En muchas zonas el brécol recibe el nombre de coliflor de invierno (denominándose a la verdadera coliflor como coliflor de verano). El cero de

vegetación (temperatura por debajo de la cual la planta deja de crecer) del brócoli está en 5°C. Su óptimo crecimiento se establece entre 20 y 24°C antes de la formación de los floretes y por debajo de 20°C para la correcta formación de estos. El desarrollo floral óptimo se da entre temperaturas de 15 y 18°C. Es una planta muy sensible a las heladas, sobre todo en la fase de formación del florete. Es, a su vez, una planta sensible a humedades relativas altas, las cuales perjudican la obtención de floretes de calidad. El bróquil es un vegetal exigente, que requiere de suelos profundos y fértiles con elevada materia orgánica. La tierra debe estar suelta o como mucho de consistencia media para evitar encharcamientos. Además, es una planta sensible a la falta de Ca, B y Mg y exigente en cuanto a las concentraciones de K y S. No soporta suelos salinos y requiere un pH entre 6,5 y 7,5 [169].

#### **1.6.4 Compuestos fitoactivos presentes en el brócoli**

La familia de las crucíferas y en concreto el brócoli suponen una buena fuente de multitud de compuestos fitoquímicos potencialmente protectores, incluyendo fenoles (flavonoides y ácidos fenólicos), carotenoides, Se, glucosinolatos (GSLs) o vitaminas [170, 171], aunque el principal poder antioxidante y antiinflamatorio ha sido atribuido principalmente a su contenido en GSLs [166, 172].

Los GSLs son los fitoquímicos que distinguen a las crucíferas del resto de hortalizas, y en el brócoli, principalmente se encuentran los GSLs alifáticos [(glucorafanina (GRA), glucoiberina (GIB) y glucoerucina (GER)] y los GSLs indólicos o derivados del triptófano [glucobrassicina (GBS)] así como hidroxí-(4-OHGBS), metoxi- (4-OMeGBS) y neoglucobrassicina (NeoGBS)) [173, 174]. No obstante, estudios comparativos de variedades de brócoli han mostrado diferencias cualitativas y cuantitativas en cuanto a niveles de vitamina C, flavonoides y GSLs [175, 176].

Los GSLs son tioglucósidos que tienen un grupo nitrilo y un grupo sulfato, y abarcan casi 120 compuestos químicamente estables [177]. Cuando los tejidos de estos vegetales son procesados de diferentes maneras (ya sea cortándolos, cocinándolos, congelándolos o mediante la masticación), los GSLs quedan expuestos a una enzima denominada mirosinasa, presente en muchos vegetales, y cuya acción principal es la de hidrolizarlos a isotiocianatos (ITCs), que son compuestos bioactivos [178]. La flora intestinal presente en los humanos posee una

isoforma de mirosinasa [179]. Aunque existen diferentes tipos de GSLs e ITCs en la naturaleza, la GRA y el sulforafano (SFN), 1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)butano, son los compuestos más estudiados y los que actualmente gozan de mayor evidencia científica de tener efectos beneficiosos, respectivamente [180]. La estructura química de los GSLs y de la GRA se muestra en la Figura 1.20 y la de los ITCs y del SFN en la Figura 1.21.

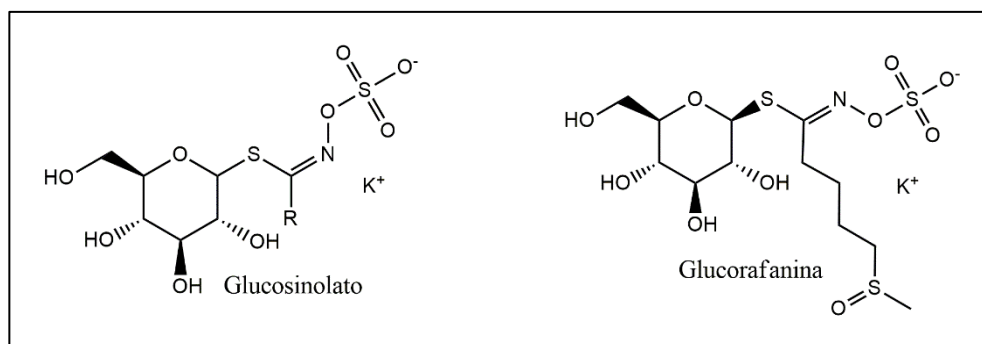


Figura 1.20: Estructura química de la familia de los GSLs y de su compuesto más estudiado (GRA).

El brócoli es reconocido como la mejor fuente de GSLs. En torno al 90% de los GSLs contenidos en el brócoli corresponden a GRA [181]. El SFN es considerado un compuesto muy prometedor. De hecho, en diferentes estudios se ha encontrado que posee propiedades que previenen, retrasan o invierten el desarrollo de lesiones preneoplásicas y mejora las tasas de supervivencia, actuando sobre células cancerosas como agente terapéutico [182, 183].

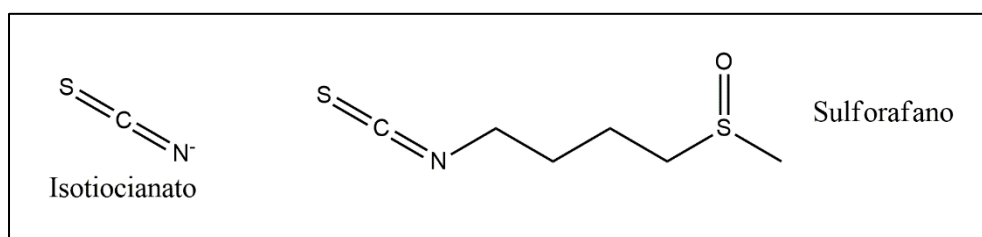


Figura 1.21: Estructuras químicas de la familia de ITCs y de su principal compuesto bioactivo (SFN).

El contenido total de GSLs en brotes de brócoli (*Brassica oleracea* (L.) spp italica) de 63,5  $\mu\text{mol}$  por cada g de brócoli seco cuantificado en brotes de 7 días de

edad [184]. La concentración de diferentes GSLs se detalla a continuación en la Tabla 1.10.

Tabla 1.10: Contenido de diferentes GSLs en brotes de brócoli de 7 días de edad.

GSLs alifáticos		GSLs indólicos	
	μmol/g brócoli seco		μmol/g brócoli seco
GIB	1,6 ± 0,1	4-OHGBS	2,7 ± 0,1
GRA	43,6 ± 0,6	GBS	0,7 ± 0,0
GER	13,1 ± 0,1	4-OMeGBS	0,8 ± 0,0
		NeoGBS	1,0 ± 0,1
Total	58,3 ± 0,8	Total	5,2 ± 0,2

GSLs: glucosinatos; GIB: glucoiberina; GRA: glucorafanina; GER: glucoerucina; 4-OHGBS: 4-hidroxibrassicina; GBS: glucobrassicina; 4-OMeGBS: 4-metoxiglucobrassicina; NeoGBS: neoglucobrassicina.

### 1.6.5 Mecanismos de acción de los fitoactivos presentes en el brócoli

Aunque el SFN podría interactuar con múltiples dianas moleculares, el mecanismo de acción mejor descrito es el que involucra al factor nuclear eritroide 2 (Nrf2). Nrf2 es un factor de transcripción esencial en la regulación del estado redox de la célula, que en células en las que no se encuentra activado, permanece unido a la proteína Keap1, formando un complejo inactivo [185]. Cuando entra en la célula, el SFN interactúa con la proteína Keap1 promoviendo la separación entre Nrf2 y Keap1, lo que permite a Nrf2 activarse y desplazarse al núcleo [186], donde se une al elemento de respuesta antioxidante (ARE), una región promotora de ADN de genes que codifican para enzimas antioxidantes, tales como NADPH, quinona oxidoreductasa 1 (NQO1), hemooxigenasa-1 (HO-1), tiorredoxina y superóxido dismutasa [187, 188].

El SFN además es uno de los inductores naturales más potentes de la ruta Keap1/Nrf2/ARE y esto se manifiesta en cultivos celulares y modelos animales con actividad antioxidante, antiinflamatoria, antiangiogénica y neuroprotectora [189]. Asimismo, un estudio de intervención dietética con brotes de brócoli ha puesto de manifiesto la acción bactericida contra infecciones por *Helicobacter pylori*, que se asocian estrechamente a cáncer gástrico [190].

Además de los ITCs, los fenoles presentes en el brócoli pueden contribuir a los efectos protectores asociados a la ingesta de crucíferas. En concreto, estudios epidemiológicos y experimentales indican que las antocianinas, el grupo más importante de pigmentos flavonoides dentro del grupo de compuestos fenólicos, disminuyen el riesgo de padecer ECV, cáncer y otras patologías crónicas degenerativas [184]. Por otra parte, las antocianinas y los ITCs podrían influir en las mismas rutas de señalización en su actividad quimiopreventiva como, por ejemplo, en la inducción de ARE [191]. La estructura química de las antocianinas se muestra en la Figura 1.22.

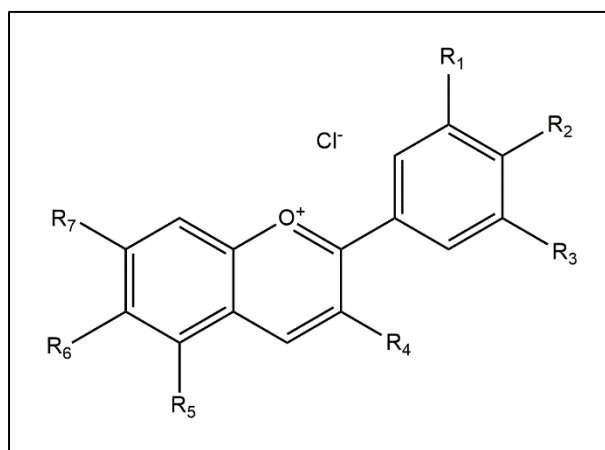


Figura 1.22: Estructura química de las antocianinas.

Diferentes estudios de intervenciones dietéticas en humanos han proporcionado evidencia de que las dietas ricas en verduras crucíferas pueden modificar las concentraciones plasmáticas y el perfil de lípidos y colesterol en plasma [192–196]. A nivel poblacional, una reducción del 1% en el C-LDL se ha asociado con una reducción del 1-2% en el riesgo de padecer ECV [197]. Algunos estudios también han comprobado que existe un requisito de colesterol por parte de las células cancerosas [198], lo que ha llevado a un creciente interés en el uso de estatinas como agentes terapéuticos contra el cáncer [199].

En una ración de brócoli pueden encontrarse hasta 60 mg de GRA. En estudios preclínicos, se han llegado a usar hasta 4.4 mg/Kg al día (equivalente >300 mg SFN/día para una persona de 70 Kg) para investigación en cáncer [200]. Estas cantidades son muy difíciles de obtener con inflorescencias de brócoli por dos motivos. En primer lugar, porque durante el cocinado se pierde un porcentaje alto

---

de estos compuestos [173, 179, 201, 202], y en segundo, porque se necesitarían unas 6 pellas o inflorescencias crudas (en torno a 55 mg cada 500 g de producto). Sin embargo, los brotes de brócoli contienen entre 20 y 100 veces más GRA que una pella. Además, para calcular la cantidad de SFN que puede usarse en nutrición humana, hay que considerar que sólo el 20% de la GRA está biodisponible y se transforma a SFN en el organismo, conversión que puede favorecerse masticando bien los brotes de brócoli para asegurar la liberación de la mirosinasa y evitando hervir el alimento, que la inactivaría [201, 202].

## **2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS**





## 2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

### 2.1 JUSTIFICACIÓN

El sobrepeso y la obesidad suponen un problema de salud pública de primer orden, que padece más del 40% de la población a nivel nacional y mundial, de todas las edades y grupos étnicos. La obesidad supone una pérdida de la calidad y la esperanza de vida, no sólo porque aumenta el riesgo de problemas cardiovasculares, desequilibrios metabólicos y disfunciones del tejido adiposo, sino también porque induce a una mayor incidencia de otras enfermedades no contagiosas como el cáncer. La dieta juega un papel esencial en el bienestar y la salud. Sin embargo, la influencia de los componentes de los alimentos (fitoquímicos bioactivos) sobre condiciones fisiopatológicas es un área de investigación creciente, no estando aún definida la dieta que podría ser “óptima” para la salud adulta.

Los brotes o germinados de brécol (*Brassica oleracea* L. var. Italica) son la mejor fuente dietética de glucorafanina/sulforafano (GRA/SFN). Debido a sus efectos sobre el metabolismo del colesterol y la homeostasis de los lípidos, los glucosinolatos e isotiocianatos del brócoli (GSLs/ITCs) pueden ejercer una actividad biológica positiva sobre la adiposidad y la inflamación sistémica, concurrente en las personas obesas. Por lo tanto, la finalidad de la presente tesis doctoral es evaluar el beneficio del consumo de brotes de brócoli enriquecidos en GSLs/ITCs en población obesa, en particular, mujeres adultas cuya condición de menopáusicas implica un mayor riesgo potencial de problemas cardiovasculares. La identificación de respuestas biológicas a los fitoquímicos bioactivos de los brotes de brócoli, podría permitir su incorporación en programas de nutrición, para el control y manejo de la obesidad.

De las publicaciones científicas, basadas en datos epidemiológicos y estudios experimentales en células y modelos animales, se sabe que los GSLs/ITCs ejercen efectos positivos en la enfermedad cardiovascular, en ciertas formas de cáncer, diabetes y enfermedades degenerativas como Alzheimer o Parkinson. Sin embargo, no se han llevado a cabo estudios que pongan de manifiesto un efecto beneficioso del consumo de brotes de brócoli ricos en GSLs/ITCs en procesos relacionados con

la obesidad y la inflamación crónica en mujeres menopáusicas con sobrepeso y obesas.

En humanos se han realizado pocos estudios con crucíferas para salud cardiovascular, diabetes u obesidad, puesto que la mayoría de los estudios clínicos con crucíferas (y SFN) se han centrado en su actividad anticancerígena [200, 201].

Conocer el efecto beneficioso de los GSLs/ITCs de los brotes de brócoli sobre parámetros metabólicos y fisiológicos de la obesidad, supone una necesidad de la investigación en agroalimentación, que podría aportar un valor añadido a una actividad económica local importante como es la agricultura en la Región de Murcia.

El objetivo central del proyecto es doble: por una parte, potenciar y desarrollar un producto alimentario sano que supone una oportunidad para el sector productivo de la Región de Murcia, como son los brotes de brócoli, y por otro, actuar en un grupo de riesgo de la población, las mujeres menopáusicas que sufren obesidad, y que están en riesgo de sufrir otros problemas de salud asociados a esta condición crónica, que si no se trata ni soluciona conllevará una carga socioeconómica grave.

## 2.2 HIPÓTESIS

El consumo regular de brotes de brócoli, debido a sus propiedades fitoquímicas, podría favorecer la biodisponibilidad de sus GSLs/ITCs, estimulando los mecanismos biológicos del organismo de forma más eficiente que las inflorescencias comerciales de brócoli.

Sus elevadas concentraciones de GSLs/ITCs podrían ejercer un efecto beneficioso en el contexto de la obesidad y en las consecuencias que de ella se derivan para el organismo (estado inflamatorio crónico, resistencia a la insulina, dislipemia y enfermedad cardiovascular).

### **3. OBJETIVOS**



### **3. OBJETIVOS**

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, los objetivos de la presente tesis doctoral fueron:

1. Analizar la variación que experimentan las concentraciones de diferentes biomarcadores del perfil lipídico con el consumo de brotes de brócoli.
2. Valorar los cambios de las concentraciones de biomarcadores del perfil glucídico.
3. Evaluar la variación de concentraciones plasmáticas de diferentes marcadores del estado inflamatorio.
4. Analizar los cambios que se producen en variables como presión arterial y variables antropométricas.



#### **4. MATERIAL Y MÉTODOS**





## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se diseñó un modelo de ensayo prospectivo de intervención dietética para evaluar los efectos sobre la salud del consumo diario de brotes de brócoli en mujeres con sobrepeso u obesidad ( $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ), menopáusicas, no fumadoras, no diabéticas y sin historia de enfermedad cardiovascular documentada.

El estudio se llevó a cabo el año 2015 y consistió en someter a un grupo de voluntarias a un programa de intervención dietética, en el cual, las participantes debían añadir a su dieta habitual 40 g de brotes de brócoli diarios durante 5 semanas. Es importante destacar que las participantes del estudio no debían modificar ni su estilo de vida ni sus hábitos alimentarios. Previo al inicio del consumo de brotes de brócoli se les realizó un estudio bioquímico, estudio de biodisponibilidad y un estudio antropométrico, además de una evaluación de su estilo de vida y sus hábitos nutricionales. Asimismo, se calculó el riesgo de padecer un evento coronario (angina, infarto de miocardio, con o sin síntomas, mortal o no) a 10 años mediante las tablas adaptadas del estudio Framingham a la población española [203]. Al concluir esta fase se les volvió a realizar una valoración bioquímica, antropométrica y de biodisponibilidad.

Después de estas 5 semanas de intervención siguieron 2 semanas de lavado. Al concluir este periodo se les realizó un nuevo estudio de biodisponibilidad, con objeto de garantizar que la fase de lavado era suficiente para aclarar las concentraciones de metabolitos marcadores de consumo de brócoli. Por último, siguió a este periodo de lavado una tercera etapa de 5 semanas de control. Tanto en la fase de lavado como en la fase de control las voluntarias debían abstenerse de consumir cualquier tipo de crucíferas. Al acabar el estudio se les realizó otro estudio bioquímico, antropométrico, de biodisponibilidad y una reevaluación de hábitos alimentarios.

El presente estudio ha sido validado por el Comité Ético del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena (HUSL) (Anexo 1) y se ajusta a las normas éticas recogidas en la Declaración de Helsinki [204]. Todas las participantes en el

estudio lo han sido de manera voluntaria, han sido informadas del estudio y han firmado su correspondiente consentimiento informado (Anexo 2).

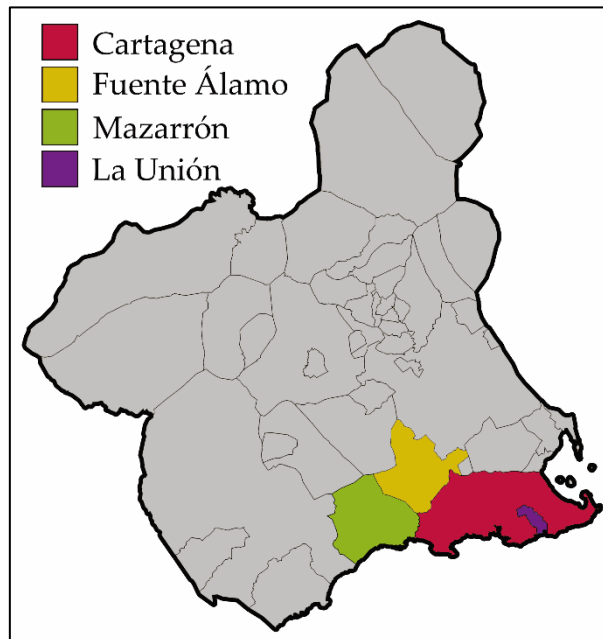
#### 4.2 TAMAÑO MUESTRAL

Se calculó el tamaño muestral necesario para llevar a cabo el estudio mediante una macro [205] habilitada para el programa estadístico SPSS, tomando como datos de referencia un estudio piloto previo (no publicado) en el que la media del descenso del colesterol total era de 11 mg/dL y su desviación estándar de 19 mg/dL. Este tamaño muestral resultó ser de 24 voluntarias, ejerciendo ellas mismas como sus propios controles durante un segundo periodo control. Suponiendo una tasa de abandonos de entre el 10 y el 20% se estableció un tamaño muestral de 30 voluntarias.

#### 4.3 DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE INFLUENCIA DEL ESTUDIO

Para llevar a cabo este trabajo se ha utilizado una muestra elegida entre residentes en la ciudad murciana de Cartagena, capital de la comarca conocida como Campo de Cartagena. Según datos del Registro de Entidades Locales, a fecha de 1 de enero de 2014, la ciudad de Cartagena contaba con una población de 216.301 habitantes y una densidad de población de 387,58 hab/km<sup>2</sup> [206].

La zona elegida corresponde con el Área de Salud II del Servicio Murciano de Salud (SMS), que se muestra en la Figura 4.1 y que incluye los municipios de Cartagena, Fuente Álamo, La Unión y Mazarrón, atendiendo a una población de 284.307 habitantes.



*Figura 4.1: Municipios pertenecientes al Área II de Salud de la Región de Murcia*

En esta zona geográfica se da un clima subtropical seco [207] y se corresponde con una de las regiones más secas de la península ibérica, con unas precipitaciones anuales inferiores a 300 mm/año [208].

En la Región de Murcia, como sucede en las regiones desarrolladas, el sector servicios es el predominante en la economía y el que mayor empleo registra, ocupando a un 69,12% de la población activa en 2015. Sin embargo, este valor era inferior al del total nacional (75,97%), ya que en esta Comunidad Autónoma el sector primario tiene una mayor importancia económica que en la media española. Así, mientras que, en España en 2015, las actividades de agricultura, ganadería, silvicultura y pesca suponían solo un 4,1% de los ocupados, y estaban a la cola de los sectores económicos; en la Región de Murcia ocupaban al 12,83% de la población activa y eran el segundo sector en importancia en este indicador, por delante de la industria y la construcción. Estos datos se presentan con mayor detalle en la Figura 4.2 [209]:

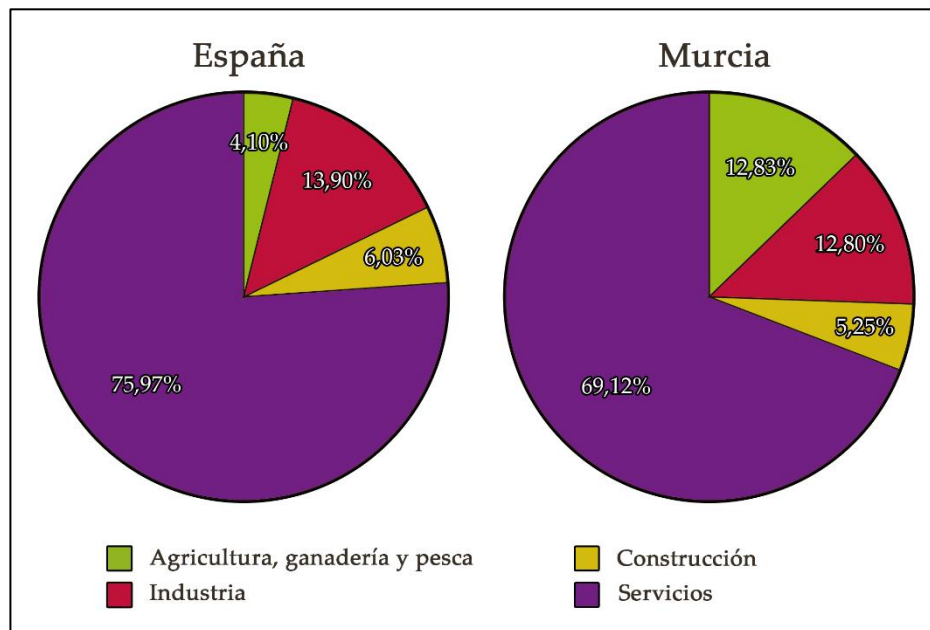


Figura 4.2: Comparativa de % de ocupados según sectores económicos. Año 2015.

#### 4.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se definieron como criterios de inclusión necesarios para la participación en el estudio:

- Ser mujer.
- Presentar, como mínimo, sobrepeso tipo I (IMC  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>).
- Ser menopáusica según la definición de la OMS (detallada en la página 35).

Como criterios de exclusión se establecieron los que siguen a continuación:

- Existencia de enfermedad cardiovascular documentada (cardiopatía isquémica: angina de pecho o infarto de miocardio reciente o antiguo, accidente vascular cerebral o vasculopatía periférica).
- Ser fumadora en activo.
- Padecer diabetes mellitus.
- Ser alérgica o presentar algún tipo de intolerancia a crucíferas
- Abandono del estudio (pérdida durante el seguimiento).

#### 4.5 RECLUTAMIENTO DE PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO

El reclutamiento de voluntarias se realizó en el Centro de Salud Barrio Peral de Cartagena. Tras la revisión de historias clínicas, se identificaron las posibles participantes, que fueron citadas para una visita de cribado y poder constatar así los criterios de inclusión y/o exclusión. A aquellas mujeres que cumplieron con todos los criterios propuestos para el ensayo se les ofreció la posibilidad de participar en un estudio sobre “Evaluación de los efectos del consumo de brotes de brócoli sobre la salud en mujeres menopáusicas con sobrepeso u obesas”. Se les explicó en que iba a consistir el mismo y se les indicó, asimismo, que firmar un consentimiento informado era un requisito indispensable para poder participar en el programa de intervención dietética.

#### 4.6 PLAN DE TRABAJO

Una vez concluido el proceso de reclutamiento de voluntarias para participar en el estudio, se citó a una reunión informativa el 22 de abril de 2015 en la biblioteca del Centro de Salud de Barrio Peral a las 30 mujeres que, habiendo cumplido los criterios de inclusión y exclusión, habían aceptado participar en el estudio. En esta misma reunión se les explicó nuevamente en qué consistía el programa de intervención dietética. Se resolvieron todas las dudas que plantearon y, por último, se les explicó y entregó la siguiente documentación:

- Un consentimiento informado, que fue explicado de nuevo y que tuvieron que firmar para participar en el programa de intervención dietética. Este documento fue recogido al finalizar la reunión.
- Una hoja de información a voluntarias (Anexo 3), con los objetivos detallados del estudio, así como un cronograma.
- Un calendario de seguimiento (Anexo 4), donde las participantes en el estudio tenían que marcar con una X en la casilla del día correspondiente si habían consumido la cantidad establecida de 40g de brotes de brócoli o, por el contrario, dejar la casilla en blanco si ese día no se había podido consumir la dosis acordada. Además, debían indicar con una segunda X si algún día tomaban dos raciones de brotes de brócoli por no haber podido consumir la cantidad recomendada algún día previo.

- Un recetario (Anexo 5) con diferentes sugerencias de cómo comer los brotes de brócoli (ensaladas, bocadillos, arroces y pastas, tortillas, gazpachos...).
- Una encuesta de salud, dieta mediterránea y hábitos alimentarios que tendrían que traer cumplimentada el día 24 de abril (Anexo 6).
- Una encuesta de recuerdo de 24h (Anexo 7).

A su vez, se les repartió a las voluntarias una duquesita para la recogida de una orina de primera hora de la mañana. Se les explicó en qué condiciones y cómo tenían que recoger la muestra de orina y que deberían traerla el día de la primera extracción de sangre y de recogida de las bandejas de brotes de brócoli correspondientes a la primera semana de dieta.

El 24 de abril de 2015 comenzó el programa de intervención dietética ( $t_1$ ). Se citó a las voluntarias a las 8:30h en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Santa María del Rosell (HUSMR) de Cartagena. Se les realizó una extracción de sangre y se recogió tanto la orina como las encuestas de salud y de recuerdo de 24 horas que traían las participantes. Se procedió a la toma de medidas antropométricas. A continuación, se procedió al reparto de la cantidad correspondiente a la primera semana de brotes de brócoli (7 bandejas de 40 g cada una) que previamente se había recepcionado. En la Figura 4.3 se muestra un ejemplar de bandeja de brotes de brócoli utilizado en el estudio y que fue suministrada por la empresa AQP Ingredients (Alcantarilla, España).



Figura 4.3: Bandeja de brócoli utilizada en el presente estudio.

El 30 de abril, el 8 y el 15 de mayo de 16:00 a 19:00 h se procedió al reparto semanal de brotes de brócoli previamente recepcionados en el C.S. Barrio Peral de Cartagena.

El 22 de mayo se recepcionó y repartió de 16:00 a 19:00 h en el C.S. Barrio Peral la cantidad de brotes de brócoli correspondiente a la última semana de dieta. Se entregó, a su vez, una duquesita para recogida de orina de primera hora de la mañana del 29 de mayo.

El 29 de mayo finalizó el periodo de consumo de brotes de brócoli y empezó la fase de lavado ( $t_2$ ). Se citó a las voluntarias a las 8:30 h en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUSMR de Cartagena para extracción de sangre y recogida de orina de primera hora. Asimismo, se les realizó una nueva toma de medidas antropométricas. Se volvió a entregar una duquesita a las voluntarias para recogida de orina de primera hora de la mañana del día 12 de junio.

El 12 de junio, día que finalizaba el periodo de lavado ( $t_{Lav}$ ), se citó a las voluntarias en el C.S. Barrio Peral a las 8:30 h para recogida de orina.

El 17 de julio, día en que concluía el periodo control y el estudio ( $t_3$ ), se citó a las voluntarias a las 8:30 h en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUSMR de Cartagena para extracción de sangre y recogida de orina de primera hora. Además, se les realizó una nueva toma de medidas antropométricas y se recogió la segunda tanda de entrevistas de recuerdo de 24 h. En la Figura 4.4 se muestra el cronograma del estudio:

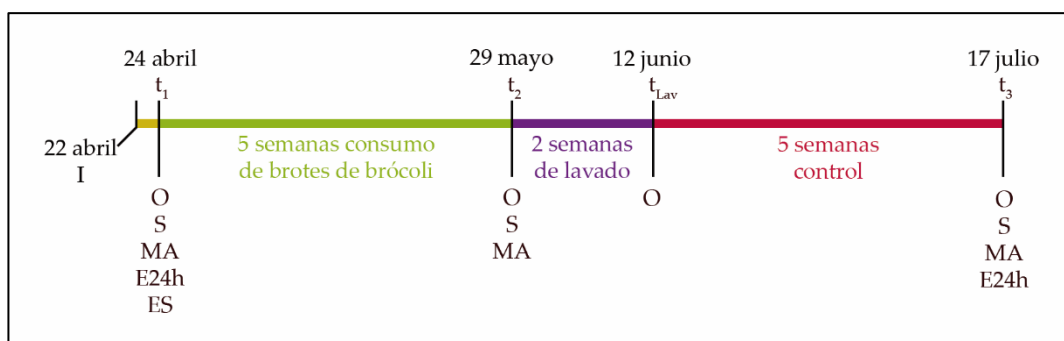


Figura 4.4: Cronograma del ensayo realizado en 2015. I: reunión informativa; O: toma de muestra de orina aislada; S: toma de muestra de sangre; MA: toma de medidas antropométricas; E24h: entrega de encuesta de recuerdo de 24h; ES: entrega de encuesta de salud.

En la Figura 4.5 se muestra, con detalle, los hitos del estudio correspondientes a la fase de consumo de brócoli:

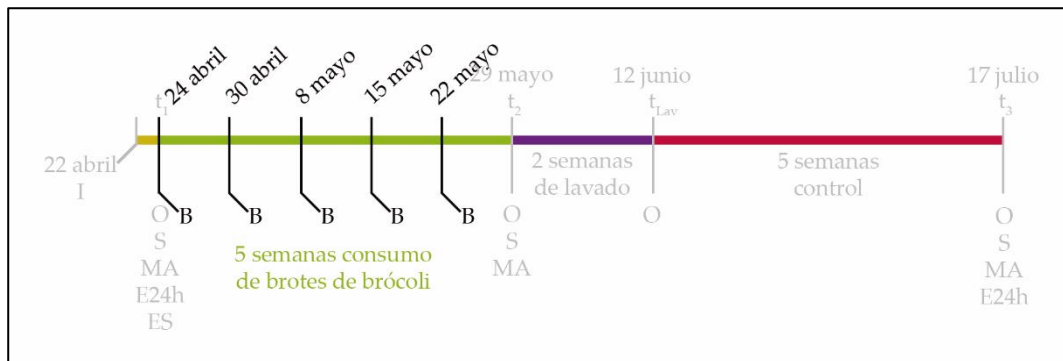


Figura 4.5: Esquema detallado de la fase de consumo de brócoli. B: reparto de 7 bandejas de brócoli.

#### 4.7 VARIABLES DEL ESTUDIO

A continuación, se muestran las variables analizadas en el estudio. Estas se dividen en dos tipos según su naturaleza. El primero de ellos corresponde a variables de tipo clínico, y se detalla en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1: Variables bioquímicas del estudio.

Variables clínicas
<b>Variables bioquímicas</b>
Perfil lipídico
Colesterol total (CT)
Colesterol de alta densidad (C-HDL)
Colesterol de baja densidad (C-LDL)
Triglicéridos (TG)
Metabolismo glucídico
Glucosa
Hemoglobina glicosilada (HbA1c)
Insulina (Ins) e Índice HOMA-IR
Biomarcadores de inflamación
Proteína C reactiva ultrasensible (PCRus)
Factor de necrosis tumoral $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )
Interleucina 6 (IL-6)
<b>Presión Arterial</b>
Presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD)



El segundo grupo corresponde a variables antropométricas y se muestran en la Tabla 4.2:

Tabla 4.2: Variables antropométricas del estudio.

<b>Variables antropométricas</b>
Talla
Peso
IMC
Perímetro abdominal

El marcador de exposición elegido para realizar el estudio de biodisponibilidad, detallado en la Tabla 4.3, fue el sulforafano conjugado a N-acetilcisteína (SFN-NAC), cuantificado en orina, puesto que representa uno de los principales compuestos funcionales, que es a su vez metabolito de uno de los principales compuestos presentes en los brotes de brócoli: la glucorafanina (GRA).

Tabla 4.3: Marcador de exposición cuantificado en el estudio de biodisponibilidad.

<b>Estudio de biodisponibilidad.</b>
<b>Marcador de exposición</b>
SFN-NAC

Para distinguir los diferentes tiempos a los que se realizaron las diferentes medidas se ha utilizado la siguiente numeración entre paréntesis: "1" (momento inicial, previo a la dieta), "2" (momento justo al finalizar las 5 semanas de dieta) y "3" (momento al finalizar la etapa de control y que corresponde a 7 semanas después de finalizar la intervención dietética). En el caso concreto del estudio de biodisponibilidad se ha utilizado la denominación "Lav" para indicar el momento de finalización del periodo de lavado (7 semanas tras el inicio del estudio).

#### 4.8 ESTUDIO DE VARIABLES BIOQUÍMICAS Y PRESIÓN ARTERIAL

La sangre se obtuvo por venopunción del área antecubital del brazo. Para la determinación de pruebas bioquímicas se extrajeron dos tubos de suero de 10 mL.

A su vez, se extrajo un tubo de plasma heparinizado de 5 mL (que fue congelado en seroteca). Se extrajo un último tubo de 5 mL de plasma con EDTA-K<sub>3</sub> como anticoagulante para la determinación de hemoglobina glicosilada.

El análisis bioquímico fue realizado en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, excepto las cuantificaciones de factor de necrosis tumoral  $\alpha$  e interleucina 6 que fueron determinadas en el laboratorio del Hospital Virgen de la Caridad de Cartagena. En la Tabla 4.4 se resumen las técnicas utilizadas y las plataformas analíticas en las que se ha desarrollado el análisis bioquímico de las muestras. Los analizadores ADVIA 2400, BN ProSpec, VISTA 1500, IMMULITE 1000 e IMMULITE 2000 son de la compañía SIEMENS Healthcare Diagnostics (Tarrytown, NY, EEUU), mientras que el analizador Variant II TURBO pertenece a Bio-Rad (Hercules, California, EEUU).

Tabla 4.4: Magnitudes bioquímicas y analizador por el que fueron cuantificadas.

Matriz biológica	Magnitud bioquímica	Técnica	Analizador
Suero	CT C-HDL TG Glucosa	Espectrofotometría	ADVIA 2400
	PCRus		
	TNF- $\alpha$ IL-6	Inmunoquimioluminiscencia	IMMULITE 1000
	Insulina		IMMULITE 2000
	Sangre total	HbA1c	HPLC

Todas las magnitudes bioquímicas analizadas pasaron previamente un control de calidad interno. Se asumió que las técnicas funcionaban correctamente cuando los resultados de los materiales de control se situaban entre  $\bar{x} \pm 2s$  (media y desviación estándar).

Los principios de medida de las magnitudes bioquímicas analizadas pasan a detallarse en los apartados que siguen a continuación.

#### **4.8.1 Colesterol total**

El colesterol total fue determinado en la plataforma analítica ADVIA 2400 mediante un método enzimático por el cual los ésteres de colesterol se hidrolizan por la acción de la enzima colesterol esterasa a colesterol y se liberan ácidos grasos. El colesterol se convierte en colest-4-en-3-ona por la acción de la enzima colesterol oxidasa en presencia de oxígeno formando peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Se forma un complejo coloreado a partir del  $H_2O_2$ , 4-aminoantipirina y fenol bajo la acción catalítica de la peroxidasa. La absorbancia del complejo se mide a 505/694 nm como reacción a punto final siendo la concentración de colesterol directamente proporcional a la absorbancia.

#### **4.8.2 Colesterol de lipoproteína de alta densidad**

El C-HDL fue cuantificado en ADVIA 2400. Se determina mediante un método cinético de dos puntos. En una primera etapa se produce la eliminación de quilomicrones, colesterol C-VLDL y C-LDL mediante las enzimas colesterol esterasa y colesterol oxidasa. El  $H_2O_2$  producido por la oxidasa se elimina por la acción de la catalasa. En la segunda etapa del método se mide el C-HDL de manera específica. La catalasa de la primera etapa es inhibida por la acción de una azida sódica. Mediante la acción de una peroxidasa y por medio de la reacción de Trinder se produce colorante quinoneimina. La intensidad de este colorante es directamente proporcional a la concentración de C-HDL y se determina a 596 nm.

#### **4.8.3 Colesterol de lipoproteína de baja densidad y colesterol no HDL**

El C-LDL no se midió directamente, sino que se calculó mediante la ecuación de Friedewald, tal y como se muestra en la Ecuación 4.1. Cuando la concentración de triglicéridos en suero excede de 200 mg/dL, la exactitud del cálculo de la ecuación se vuelve inadecuada y no debe ser utilizada. En estas situaciones se prefiere expresar el resultado como colesterol no HDL (C-noHDL), siendo este la diferencia entre colesterol total y C-HDL (Ecuación 4.2).

$$\text{C-LDL} = \text{CT} - \left( \text{C-HDL} + \frac{\text{TG}}{5} \right) \quad \text{Ecuación 4.1}$$

En el presente trabajo no se pudieron expresar los resultados como C-LDL debido a que en las tres mediciones siempre existían mujeres con trigliceridemias superiores a 200 mg/dL.

$$\text{C-noHDL} = \text{CT} - \text{C-HDL} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

Los resultados tuvieron que ser expresados, por consiguiente, como colesterol no-HDL (C-noHDL).

#### 4.8.4 Triglicéridos

Los triglicéridos fueron medidos en el autoanalizador ADVIA 2400. El método de cuantificación de triglicéridos en suero se basa en la reacción enzimática en tres pasos de Fossati con un punto final de Trinder. El procedimiento de un solo reactivo cuantifica los triglicéridos totales, incluidos monoglicéridos, diglicéridos y fracciones de glicerol libre. Los triglicéridos se transforman en glicerol y ácidos grasos libres por acción de la enzima lipasa. A continuación, el glicerol se transforma primero en glicerol-3-fosfato por acción de la glicerol cinasa y después en  $\text{H}_2\text{O}_2$  por acción de la glicerol-3-fosfato oxidasa. Bajo la acción catalítica de la peroxidasa se forma un complejo coloreado a partir de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 4-aminofenazona y 4-clorofenol. La absorbancia del complejo se mide a 505/594 nm como reacción de punto final siendo la concentración de triglicéridos directamente proporcional a la absorbancia.

#### 4.8.5 Glucosa

La glucosa se cuantificó en la plataforma analítica ADVIA 2400. La medida de glucosa en suero se basa en el método de Slein, que utiliza las enzimas hexocinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. La glucosa es fosforilada por el trifosfato de adenosina (ATP) en presencia de hexocinasa. La glucosa-6-fosfato que se forma, se oxida en presencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa provocando reducción del dinucleótido nicotinamida y adenina oxidado (NAD) en nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH). La absorbancia de NADH se mide a 340/410 nm

como reacción de punto final siendo la concentración de colesterol directamente proporcional a la absorbancia.

#### **4.8.6 Hemoglobina glicosilada**

La determinación de HbA1c se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de intercambio catiónico en el analizador Variant II TURBO. Las muestras se diluyen de manera automática y se inyectan en el cartucho de análisis. Mediante dos bombas se crea un gradiente de tampones programado de fuerza iónica creciente en el cartucho, donde las hemoglobinas se separan en función de sus interacciones iónicas con el material del cartucho. Después, las hemoglobinas separadas atraviesan una célula de fotometría, donde se miden los cambios de intensidad en la absorbancia a 415 nm siendo la concentración de glucosa directamente proporcional a la absorbancia. Se corrige la absorbancia de fondo con la ayuda de un filtro de 690 nm.

#### **4.8.7 Insulina e índice HOMA-IR**

La insulina se cuantificó mediante un método inmunométrico quimioluminiscente (CLIA por sus siglas en inglés) en fase sólida en el autoanalizador IMMULITE 2000. La fase sólida consta de una bola recubierta con anticuerpo monoclonal murino anti-insulina. La fase líquida consiste en fosfatasa alcalina de intestino de ternera conjugada con anticuerpo policlonal de oveja anti-insulina y fosfatasa alcalina de intestino de ternera conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti-insulina. La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto con la bola durante 60 minutos. Durante este tiempo, la insulina presente en la muestra forma un complejo tipo sándwich de anticuerpos con el anticuerpo monoclonal murino anti-insulina de la bola y el anticuerpo policlonal de oveja anti-insulina conjugado con la enzima del reactivo. La muestra del paciente y el conjugado con la enzima no unidos se eliminan mediante lavados por centrifugación. Finalmente, se añade el substrato quimioluminiscente (dioxetano) al tubo de reacción que contiene la bola y se genera una señal proporcional a la enzima unida.

El cálculo del índice HOMA-IR para evaluar la resistencia a la insulina se calculó de manera automática por el software de gestión de laboratorio clínico del

HUSL, Servolab 4.0, propiedad de Servolab Medizin Software GmbH (Berlín, Alemania). Para el cálculo de este índice se precisó la glucemia en ayunas (mg/dL) y la insulinemia en ayunas (mUI/mL). Ambas se relacionan con el índice HOMA-IR mediante la Ecuación 4.3 [210].

$$\text{HOMA} = \frac{\text{Glucemia} \left( \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) \cdot \text{Insulinemia} \left( \frac{\mu\text{UI}}{\text{mL}} \right)}{405} \quad \text{Ecuación 4.3}$$

#### 4.8.8 PCR ultrasensible

La PCRus fue determinada mediante inmunonefelometría en el autoanalizador VISTA 1500. Para la medida de PCRus se añaden a la muestra a analizar partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos monoclonales propios de la PCR humana. En presencia de PCR se forman unos agregados que son capaces de dispersar un haz de luz que incide en la muestra. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración del analito. El resultado es evaluado mediante comparación con una concentración conocida estándar.

#### 4.8.9 Factor de necrosis tumoral $\alpha$

El TNF- $\alpha$  se cuantificó mediante CLIA en fase sólida con un ciclo de incubación de 60 minutos en el analizador IMMULITE 1000. Como fase sólida se utilizan perlas de plástico recubiertas del anticuerpo monoclonal murino anti-TNF- $\alpha$ . Como reactivo se utiliza fosfatasa alcalina de intestino de ternera conjugada a anticuerpo policlonal de conejo anti-TNF- $\alpha$  en una solución tampón con conservante. La perla de plástico recubierta se encuentra alojada en un dispositivo de plástico propio, que hace de recipiente de reacción para la reacción inmune, los procesos de incubación y lavado, así como para el desarrollo de la señal. Tras la incubación de la perla con la muestra y la fosfatasa alcalina, la mezcla de reacción se separa de la perla mediante centrifugación a alta velocidad. La perla queda entonces sin marcaje residual unido. La cantidad de marcaje que ha quedado unido se cuantifica posteriormente mediante la adición de un sustrato de dioxetano, que produce luz. La emisión de luz se mide mediante un tubo fotomultiplicador siendo la intensidad de esta directamente proporcional a la concentración de TNF- $\alpha$  en la muestra.

#### **4.8.10 Interleucina 6**

La IL-6 se determinó mediante CLIA en fase sólida con dos ciclos de incubación de 30 minutos en la plataforma analítica IMMULITE 1000. Cada unidad de reacción está recubierta con anticuerpo monoclonal murino anti-IL-6. Para la determinación de IL-6 se utilizan dos viales de reactivo. El primero de ellos contiene una matriz proteica, en solución tampón con conservante. El segundo contiene fosfatasa alcalina de intestino de ternera conjugada con anticuerpo policlonal de oveja anti-IL-6. El principio del análisis de la IL-6 es similar al de la determinación de TNF- $\alpha$ , explicado en el apartado anterior.

Las características analíticas de los ensayos descritos y los valores de referencia para población adulta se muestran en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5: Características analíticas de los ensayos de los distintos biomarcadores.

	CT (mg/dL)	C-HDL (mg/dL)	TG (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)
<b>Muestras de elección</b>	Suero o plasma heparinizado	Suero o plasma (heparina o EDTA)	Suero o plasma heparinizado	Suero o plasma heparinizado
<b>Estabilidad de las muestras (-20°C)</b>	3 meses	3 meses	3 meses	3 meses
<b>Sensibilidad funcional</b>	10	5	2	1
<b>Rango de medida</b>	10-675	5-115	2-550	1-700
<b>CV intraensayo (%)</b>	0,3	1,2	0,6	0,4
<b>CV interensayo (%)</b>	0,6	3,2	2,0	1,1



Tabla 4.5 (continuación): Características analíticas de los ensayos de los distintos biomarcadores.

	PCRus (mg/dL)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	Insulina ( $\mu$ UI/mL)	HbA1c (%)
<b>Muestras de elección</b>	Suero o plasma heparinizado	Suero o plasma heparinizado	Suero o plasma (heparina o EDTA)	Suero o plasma heparinizado	Sangre anticoagulada (EDTA)
<b>Estabilidad de las muestras (-20°C)</b>	8 meses	6 meses	6 meses	3 meses	7 días <sup>1</sup>
<b>Sensibilidad funcional</b>	0,016	1,7	2	2	3,5
<b>Rango de medida</b>	0,016-0,95	1,7-1000	2-1000	2-300	3,5-19
<b>CV intraensayo (%)</b>	4,7	3,2	4,7	4,0	0,5
<b>CV interensayo (%)</b>	5,2	5,2	6,4	5,1	1,0

<sup>1</sup> Entre 2y 8°C.

#### **4.8.11 Presión arterial**

Se midió la presión arterial en el brazo derecho con la participante sentada, con las piernas descruzadas y tras un reposo de, al menos, cinco minutos. El brazo se dispuso relajado, sin ropa que lo oprimiera y apoyado en una mesa, quedando, aproximadamente, a la altura del corazón.

El instrumento de medida elegido para la determinación de la presión arterial fue el tensiómetro electrónico M7 Intelli IT HEM-7322T-E de Omron (Hoofddorp, Países Bajos). Este esfigmomanómetro mide la presión arterial de manera automática mediante un método oscilométrico. Se produce el inflado del manguito mediante una bomba eléctrica y el desinflado mediante una válvula automática de liberación de presión. El rango de medición va desde 0 hasta 299 mmHg con una precisión en las medidas de  $\pm 3$  mmHg.

Se midió la presión arterial sistólica y diastólica dos veces distintas por participante y se aceptó el resultado cuando no había más de 5 mmHg de diferencia entre ambas mediciones. En caso de que la diferencia fuese mayor a este valor, se repitió la medida hasta que la diferencia fuese inferior a este punto de corte.

### **4.9 ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO**

La medida de las variables antropométricas fue llevada a cabo en una sala especialmente habilitada para ello en el HUSR. Con el fin de asegurar una mayor uniformidad en las medidas y para minimizar el conocido como error debido al observador, todas ellas fueron tomadas por la misma persona.

#### **4.9.1 Peso**

El peso (P) de las voluntarias se determinó utilizando una báscula pesapersonas RGT de Baxtran® (Vilamalla, España) con capacidad de 200 kg (precisión 100 g). Para la medida de la masa corporal se situó a cada participante en el centro de la báscula. Los resultados se expresaron en kg con una precisión de 0,1kg.

#### 4.9.2 Talla

La talla (T) de cada voluntaria se midió con el tallímetro incluido en la báscula pesapersonas RGT de Baxtran® (Vilamalla, España) con rango desde 75 hasta 200 cm. Se posicionó a cada mujer descalza, erguida, con la región occipital del cráneo, espalda, glúteos y talones en contacto con la pieza vertical del tallímetro. En el momento de la medida se pidió a cada voluntaria que mirase al frente y realizase una inspiración profunda.

#### 4.9.3. Perímetro abdominal

También llamado perímetro de cintura (Pabd). Es la medida de la distancia del abdomen (circunferencia abdominal) que pasa por el ombligo. Para la medida del perímetro abdominal se puso a cada voluntaria en posición erguida y se apartó la ropa que cubría el abdomen. Se utilizó una cinta métrica flexible y no elástica de la casa Fisiomarket® (Madrid, España) de 150 cm de longitud y 0,1 cm de precisión. Los resultados de las medidas se expresaron en cm.

#### 4.9.4 IMC

Se calculó el IMC para cada voluntaria en cada momento del experimento de acuerdo con la Ecuación 1.1. Los resultados se expresaron en  $\text{kg}/\text{m}^2$  con una precisión de  $0,1 \text{ kg}/\text{m}^2$ .

#### 4.10 ANÁLISIS DE BIODISPONIBILIDAD

El análisis de biodisponibilidad se realizó en orina. La orina se obtuvo por micción espontánea de primera hora de la mañana. En primer lugar, se determinó la concentración de creatinina en el Servicio de ACL del HUSL para poder referenciar al cociente  $\text{nmol}_{(\text{SFN-NAC})}/\text{g}_{(\text{Creatinina})}$ . Una vez medida la creatinina, las orinas fueron congeladas y posteriormente enviadas a al Centro de Edafología y Biología Aplicada del Suroeste (CEBAS) para determinación de SFN-NAC.

#### 4.10.1 Creatinina en orina

La creatinina fue cuantificada en el analizador automatizado ADVIA 2400. La creatinina presente en la muestra reacciona con ácido pícrico en un medio alcalino para producir un complejo creatinina-picrato de color rojo. La velocidad de formación del complejo se mide a 505 y a 571 nm y es proporcional a la concentración de creatinina. El método de determinación es una modificación del método de Jaffé con determinación de la velocidad del blanco y corrección de la intersección. La determinación de la velocidad del blanco se utiliza para reducir al mínimo las interferencias por presencia de bilirrubina.

#### 4.10.2 SFN-NAC

La determinación de la concentración de esta biomolécula tuvo diferentes objetivos:

- Comparar el estado basal de concentraciones de SFN-NAC en el momento previo a la ingesta de brotes de brócoli con el momento tras la finalización de la misma y corroborar que ha existido adherencia a la intervención dietética por parte de los sujetos del estudio.
- Verificar que la fase de lavado es tal y que las concentraciones de SFN-NAC tras los 15 días que dura esta etapa vuelven a valores similares al momento previo a la ingesta de brotes de brócoli.
- Asegurar que durante la fase de control las voluntarias cumplieron el requisito de abstener la ingesta de alimentos de la familia de las crucíferas.

Los resultados se expresaron en forma de cociente  $\text{nmol}_{(\text{SFN-NAC})}/\text{g}_{(\text{Creatinina})}$ , puesto que este cociente presenta una precisión similar a cuantificar SFN-NAC en orina de 24h, con el ahorro de inconvenientes que supone la recogida de este tipo de orina.

El SFN-NAC se resolvió cromatográficamente y se identificó mediante UHPLC/MS/MS (un sistema UHPLC acoplado con un espectrómetro de masas 6460 en tándem con tecnología de triple cuadrupolo (UHPLC/MS/MS, Agilent Technologies, Waldbron, Alemania)). La separación cromatográfica se llevó a cabo en un ZORBAX Eclipse Plus C-18 de rápida resolución HD (2,1 · 50 mm, 1,8  $\mu\text{m}$ )

(Agilent Technologies). La temperatura de la columna se mantuvo a 10 °C. La monitorización dinámica de múltiples reacciones (MRM) se realizó en modo ion positivo, asignando  $\pm 0,650$  min como intervalo de tiempo para cada tiempo de retención de los analitos correspondientes. El tiempo de espera fue de 30 ms para todas las transiciones MRM. Las fases móviles empleadas fueron:

- Disolvente A: acetato de amonio, 13 mM (pH 4 con ácido acético).
- Disolvente B: acetonitrilo/ácido acético (99,9:0,1, V/V).

La velocidad de flujo fue de  $0,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  usando el esquema de gradiente lineal (t en min; %B): (0,00; 12), (0,20; 20), (1,00; 52), (2,50; 95) y (2,51; 12). Las condiciones ópticas de la ionización por electrospray (ESI) para la detección de los analitos fueron: temperatura del gas, 225°C; temperatura del gas de envoltura, 350°C; voltaje capilar, 3500 V; tensión de la boquilla, 1250 V; flujo de gas de envoltura, 12%; flujo de gas, 10; nebulizador, 40. El tiempo de adquisición fue de 2 min para cada muestra, con un postciclo de 1,5 min para el equilibrado de la columna.

La adquisición de datos se realizó utilizando la versión de software MassHunter B.04.00 (Agilent). Las concentraciones urinarias de SFN-NAC se calcularon a partir de la relación de área entre los picos iónicos de los compuestos y los de los estándares correspondientes.

#### 4.11 ANÁLISIS DE DATOS

Se realizaron dos tipos de análisis estadísticos de los datos, uno de carácter descriptivo y otro inferencial, que pasan a detallarse a continuación. El paquete estadístico elegido para la realización del análisis descriptivo e inferencial fue SPSS 22.0 (IBM Corp. Amonk, NY). Para la creación de figuras, el programa informático utilizado fue SigmaPlot 12.0 (Systat Software, San José, CA).

##### 4.11.1 Análisis descriptivo

Las variables categóricas fueron descritas en tablas como frecuencia y porcentaje. La distribución normal de las variables cuantitativas se comprobó mediante el test de Shapiro-Wilk. Las variables cuantitativas que seguían una distribución normal se expresaron como media (desviación estándar (DE)).

Aquellas variables que no se ajustaban a una distribución normal se expresaron como mediana [rango intercuartílico (RIC)].

#### 4.11.2 Análisis inferencial

Para realizar el análisis inferencial de los efectos sobre las variables analizadas tras el consumo de brotes de brócoli por parte de la población objeto de estudio se utilizaron diferentes tests y procedimientos, que se describen a continuación:

En el caso de tratarse una variable cuya distribución fuese normal, se comprobó la esfericidad de la variable o, dicho de otro modo, que la varianza de las diferencias cada dos niveles del factor sujeto eran iguales a lo largo de las diferentes medidas repetidas. Para la comprobación de esta condición se utilizó el test estadístico *W* de Mauchy, aceptándose que existía homogeneidad de varianzas cuando  $p > 0,05$  [211].

Una vez comprobadas las condiciones de normalidad y esfericidad de las variables, se procedió a realizar el test ANOVA de medidas repetidas. El nivel de significación de todos los ANOVAs realizados fue evaluado asumiendo la esfericidad cuando existía homogeneidad de las varianzas y mediante la corrección de la esfericidad de Greenhouse-Geisser (GG) cuando no se daba esta condición [211, 212]. Se asumió que existía diferencia significativa cuando  $p < 0,05$ . Además de analizar los datos mediante un test ANOVA de medidas repetidas se realizó un estudio *post hoc*. Se prefirió la corrección de Bonferroni a la corrección de Tukey para este análisis *post hoc* grupo a grupo, por no tratarse de un tamaño muestral elevado [211], considerándose como diferencia significativa un valor de  $p < 0,05$ . Siguiendo a autores como Huck, se realizó un estudio por pares después de haber realizado el test ANOVA, se observasen o no diferencias significativas a nivel global, puesto que cabe la posibilidad de encontrar información adicional relevante en el análisis *post hoc* que de no realizarse podría pasar desapercibida [213].

En aquellos casos en que las variables a evaluar no seguían una distribución normal se utilizó la prueba de Friedman. Se realizó, además, un análisis *post hoc* por pares recurriéndose a la prueba de Wilcoxon de los rangos con signo. Se asumió como diferencia significativa valores de  $p < 0,05$ .

## **5. RESULTADOS**





## 5. RESULTADOS

Inicialmente, fueron 30 las mujeres que cumplieron los requisitos para la participación en el ensayo y que accedieron a participar, habiendo firmado el consentimiento informado. El día de la primera analítica una voluntaria abandonó el estudio al manifestar “un miedo insalvable a las agujas” a pesar de haber sido informada de que se realizarían tres extracciones sanguíneas durante el estudio. 29 mujeres iniciaron el estudio y 3 de ellas no acudieron a la última extracción (correspondiente a la finalización del control), acabando el estudio 26 voluntarias, como se refleja en la Figura 5.1.

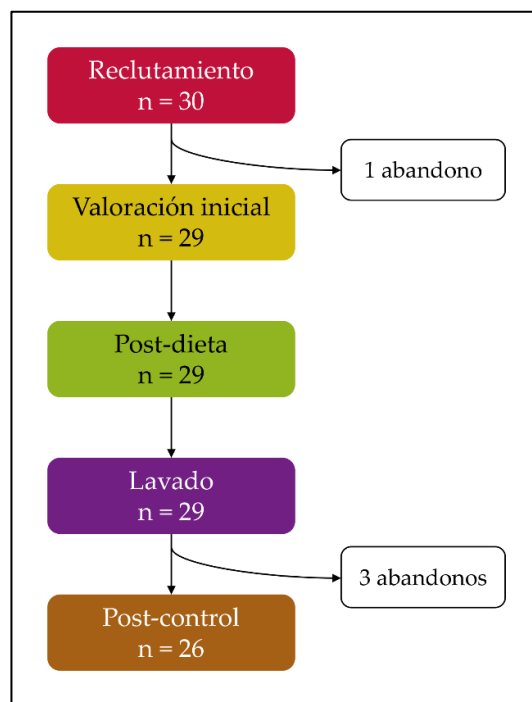


Figura 5.1: Diagrama de flujo de la cohorte de estudio.

### 5.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA POBLACIONAL

La muestra poblacional objeto de estudio se compuso finalmente de 26 mujeres, con una edad media de 55 años (DE: 3; rango: 49 - 62). En la Figura 5.2 se representa el diagrama de cajas que describe la variable edad de la muestra poblacional.

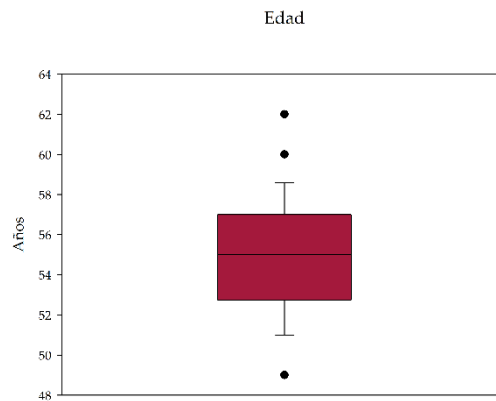


Figura 5.2: Representación de diagrama de cajas de la edad de las participantes.

El IMC medio de las participantes al inicio del estudio fue de 32,9 kg/m<sup>2</sup> (DE: 4,6; rango: 25,6 – 45,3). En la Figura 5.3 se muestra una representación del diagrama de cajas para el IMC al inicio del estudio.

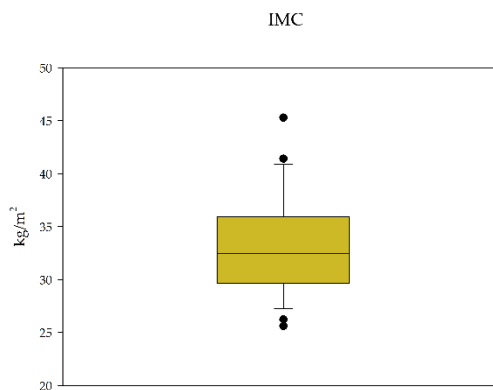


Figura 5.3: Representación de diagrama de cajas del IMC inicial de las participantes

Según los criterios de clasificación del sobrepeso y la obesidad en función del IMC propuestos por la SEEDO el año 2000, las voluntarias quedaron clasificadas como se muestra en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1: Clasificación de las participantes en función del IMC según criterios de la SEEDO 2000.

	Frecuencia	Porcentaje
Peso insuficiente	-	-
Normopeso	-	-
Sobrepeso grado I	2	8%
Sobrepeso grado II	5	19%
Obesidad tipo I	12	46%
Obesidad tipo II	4	15%
Obesidad tipo III	3	12%
Obesidad tipo IV	-	-
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>

Se recogió, además, información referente al consumo de alcohol, tabaco y a la práctica de ejercicio por parte de la muestra poblacional. El resumen de los hábitos de consumo, tanto de alcohol como de tabaco, se recogen en la Tabla 5.2. Debido a que ser fumadora en activo suponía un criterio de exclusión, no hubo ninguna mujer fumadora en activo en el momento del estudio. Además, el 88,5% de las integrantes del ensayo no habían sido fumadoras nunca. En cuanto al consumo enólico se observó que el consumo mayoritario de la población de estudio era mínimo o nulo: las mujeres que no bebían alcohol nunca y las que bebían de manera esporádica representaban el 80,8% del total de la población.

Tabla 5.2: Resumen de hábitos de consumo de alcohol y tabaco de la muestra poblacional.

	Frecuencia	Porcentaje
<i>Tabaquismo</i>		
Sí	-	-
No	23	88,5%
Exfumadora	3	11,5%
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>
<i>Consumo de alcohol</i>		
Sí	13	50,0%
No	13	50,0%
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>
<i>Patrón de consumo enólico</i>		
No consumo	13	50,0%
Consumo esporádico	8	30,8%
1 vaso/día	4	15,4%
2 vasos/día	1	3,8%
≥ 3 vasos/día	-	-
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>

El ejercicio practicado se detalla en la Tabla 5.3, tanto la frecuencia semanal con la que se realizaba como el tipo de ejercicio practicado. Un 41,4% de la muestra de estudio llevaba una vida completamente sedentaria frente al 58,6% que realizaba algún tipo de ejercicio, en menor o mayor intensidad.

Tabla 5.3: Resumen del ejercicio practicado habitualmente.

	Frecuencia	Porcentaje
<i>Días de ejercicio semanal</i>		
Ninguno	12	46,1%
1-2	4	15,4%
3-4	2	7,7%
≥ 5	8	30,8%
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>
<i>Tipo de ejercicio practicado</i>		
Ninguno	12	46,2%
Bicicleta	2	7,7%
Andar 30'	11	42,3%
Natación	1	3,8%
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>

Para concluir la descripción de la muestra poblacional del estudio, se presenta en la Tabla 5.4, el cálculo del riesgo de padecer un evento coronario (angina, infarto de miocardio, con o sin síntomas, mortal o no) a 10 años calculado mediante la tabla REGICOR [203] (Anexo 8).

Tabla 5.4: Resumen del riesgo calculado de padecer un evento coronario a 10 años.

Riesgo REGICOR	Frecuencia	Porcentaje
Bajo (< 5%)	24	92,3%
Moderado (5-9%)	2	7,7%
Alto (10-14%)	-	-
Muy alto (≥ 15%)	-	-
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>

Una vez realizado el análisis descriptivo de la muestra poblacional, se procede a detallar a continuación los resultados obtenidos referentes al estudio de biodisponibilidad en primer lugar, y los resultados obtenidos al estudiar tanto las variables clínicas como las variables antropométricas en segundo lugar.

## 5.2 ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD

Los resultados de biodisponibilidad medida en orina se muestran en la Tabla 5.5 como nmol de SFN-NAC por g de creatinina (nmol/g). Se observa en la misma que hubo diferencias significativas a lo largo del estudio ( $p < 0,001$ ).

Tabla 5.5: Resultados obtenidos tras aplicar test de Friedman a la variable SFN-NAC/creatinina.

	SFN-NAC/creatinina (nmol/g)
<b>Inicio (Med (RIC))</b>	4,235 (23,821)
<b>Post-dieta (Med (RIC))</b>	2.351,743 (6.034,748)
<b>Post-lavado (Med (RIC))</b>	8,657 (7,737)
<b>Post-control (Med (RIC))</b>	3,875 (3,891)
<b>Friedman <math>\chi^2</math></b>	44,896
<b>Friedman p</b>	$p < 0,001$

En la Figura 5.4 se representan los diagramas de cajas correspondientes a las concentraciones de SFN-NAC/creatinina a lo largo del estudio, expresadas en las mismas unidades que las utilizadas en la Tabla 5.5.

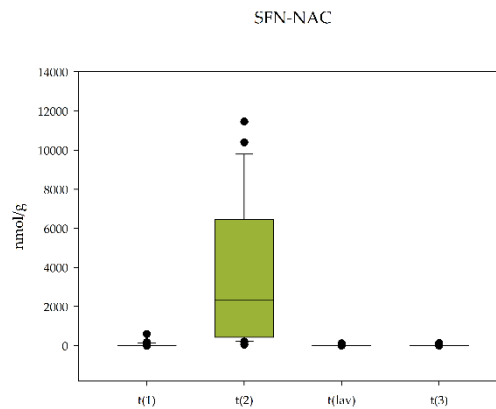


Figura 5.4: Diagrama de cajas de las concentraciones de SFN-NAC/Creatinina a lo largo del estudio.

Tras comprobar que existían diferencias significativas en la concentración de metabolitos a lo largo del estudio se procede a mostrar en la Tabla 5.6 el análisis por pares de la variable SFN-NAC/creatinina.

Tabla 5.6: Comparación por parejas para la variable NFS-NAC a lo largo del estudio.

SFN-NAC/creatinina				
	Inicio	Post-dieta	Post-lavado	Post-control
Inicio	-	p < 0,001 <sup>a</sup>	p = 0,798	p = 0,362
Post-dieta		-	p < 0,001 <sup>b</sup>	p < 0,001 <sup>b</sup>
Post-lavado			-	p = 0,009 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Incremento de signo positivo (aumento significativo de la magnitud).

<sup>b</sup> Incremento de signo negativo (descenso significativo de la magnitud).

Los resultados del estudio *post hoc* por pares a la variable SFN-NAC/creatinina muestran que hubo diferencias significativas en las concentraciones del marcador de biodisponibilidad entre el estado basal de las voluntarias y en la extracción realizada justo al acabar la intervención dietética. Por el contrario, no se observó diferencia significativa entre las concentraciones basales y las concentraciones de metabolito correspondientes a la extracción realizada al acabar el periodo de lavado. De igual manera, no se objetivó diferencia significativa entre las concentraciones de SFN-NAC referenciadas a creatinina correspondientes al estado basal y a la extracción realizada a la finalización del periodo control. Los datos obtenidos del estudio de biodisponibilidad parecen indicar que no hubo incumplimiento por parte de las voluntarias de las indicaciones pautadas conforme al protocolo del estudio y que el periodo de lavado fue correcto.

### 5.3 ESTUDIO DE VARIABLES CLÍNICAS

#### 5.3.1 Perfil lipídico

A continuación, en la Tabla 5.7 se muestran los resultados obtenidos de analizar las variables del perfil lipídico en los tres momentos a lo largo del estudio (momento previo a la dieta o inicial, justo al finalizar la misma y al finalizar el periodo control).

Tabla 5.7: Resultados obtenidos tras aplicar ANOVA o test de Friedman a las variables del perfil lipídico.

	Inicio	Post-dieta	Post-control	ANOVA F	ANOVA p	Friedman $\chi^2$	Friedman p
<b>CT (mg/dL)</b>	214,077 ± 31,837	207,577 ± 31,864	205,500 ± 29,027	2,814	0,069	-	-
<b>C-HDL (mg/dL)</b>	63,615 ± 14,547	61,192 ± 11,983	59,615 ± 11,289	3,737	0,031	-	-
<b>Colesterol</b>							
<b>C-noHDL (mg/dL)</b>	132,654 ± 26,749	126,808 ± 26,373	124,420 ± 24,813	2,725	0,075	-	-
<b>TG (mg/dL)</b>	93,500 (51,800)	104,000 (48,300)	96,000 (54,800)	-	-	0,718	0,698

Las variables normales (CT, C-HDL y colesterol noHDL) se expresan como  $\bar{x} \pm DE$ .

La única variable no normal del perfil lipídico (TG) se expresa como Med (RIC).



Se observaron diferencias significativas a nivel global del estudio en la variable C-HDL ( $p = 0,031$ ). En las variables CT y colesterol noHDL si bien no se observaron diferencias significativas, éstas estuvieron cerca de serlo ( $p = 0,069$  y  $p = 0,075$  respectivamente). La variable TG no mostró variación significativa a nivel global.

En la Figura 5.5 se representan los diagramas de cajas para las variables CT, C-HDL, colesterol noHDL y TG a lo largo de los tres puntos de control del estudio: al inicio, al momento de finalizar la dieta y tras concluir el periodo control.

### Perfil lipídico

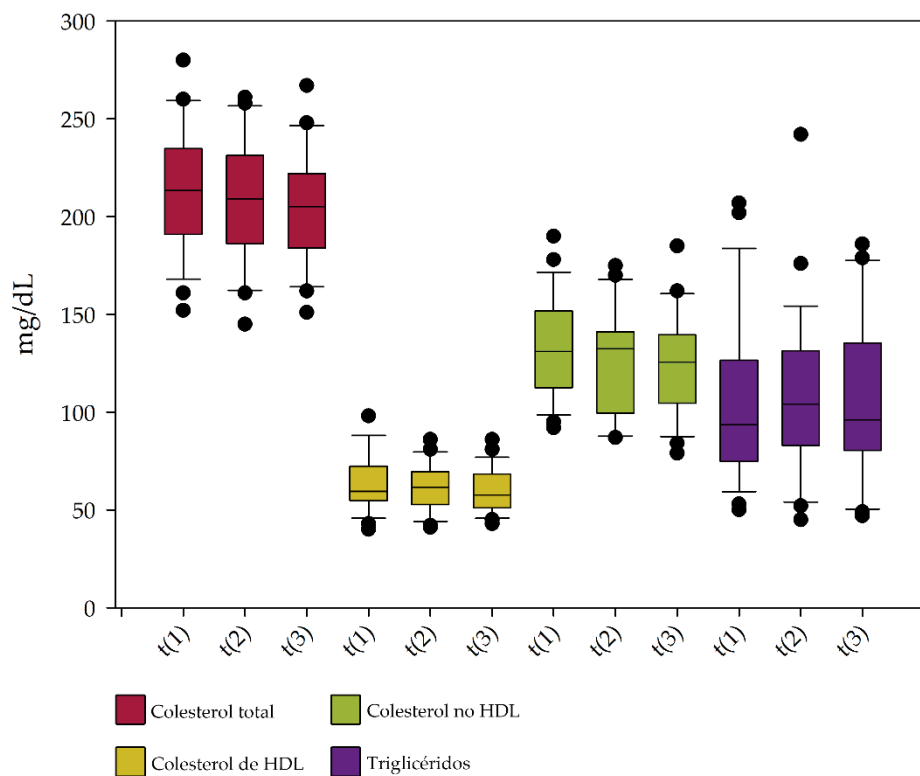


Figura 5.5: Diagrama de cajas de las variables CT, HDL, noHDL y TG del perfil lipídico a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

Después de analizar en global los efectos de la dieta sobre las magnitudes incluidas en el perfil lipídico, se muestran en la Tabla 5.8 los resultados comparados por pares para las variables del perfil lipídico:

Tabla 5.8: Comparación por pares para las variables del metabolismo lipídico.

<b>CT</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 0,289)	NS (p = 0,062)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 1,000)
<b>C-HDL</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 0,403)	NS (p = 0,069)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 0,552)
<b>C-noHDL</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 0,378)	NS (p = 0,159)
<b>Post-dieta</b>			NS (p = 1,000)
<b>TG</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 0,264)	NS (p = 0,451)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 0,760)

NS: *variación no significativa*

La Tabla 5.8 ilustra que no hubo variación significativa al comparar cada punto de control del estudio por pares para cada variable del perfil lipídico. Aun así, se observó una tendencia a la baja de la concentración media de CT desde el inicio del estudio hasta el final del mismo (p = 0,062). Una tendencia bajista algo menos importante fue detectada en la variable C-HDL (p = 0,069).

### 5.3.2 Perfil glucídico

Con respecto a las variables estudiadas del metabolismo glucídico (glucosa, HbA1c, insulina e índice HOMA-IR), se muestran en la Tabla 5.9 los resultados obtenidos al analizar estas variables durante los tres puntos de control a lo largo del estudio (estado basal o inicio del programa, justo al finalizar la dieta y después del periodo control).

Tabla 5.9: Resultados obtenidos tras aplicar ANOVA o test de Friedman a las variables del metabolismo glucídico.

	Inicio	Post-dieta	Post-control	ANOVA		Friedman	
				F	p	$\chi^2$	p
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	88,000 (21,800)	92,500 (16,800)	86,500 (18,800)	-	-	19,373	< 0,001
<b>HbA1c (%)</b>	5,546 ± 0,367	5,546 ± 0,350	5,608 ± 0,453	1,382	0,260	-	-
<b>Insulina (μUI/mL)</b>	9,300 (10,800)	14,500 (14,000)	12,550 (9,300)	-	-	9,538	0,008
<b>HOMA-IR</b>	2,015 (2,720)	3,295 (3,330)	2,640 (2,300)	-	-	13,000	0,002

La única variable normal del perfil lipídico (HbA1c) se expresa como  $\bar{x} \pm DE$ .

Las variables que no presentaron una distribución normal (glucosa, insulina e índice HOMA-IR) se expresan como Med (RIC).

Se encontraron diferencias significativas a lo largo del estudio en las variables glucosa, insulina e índice HOMA-IR no hallándose variación a lo largo del tiempo en la variable HbA1c.

En la Figura 5.6 se muestra el diagrama de cajas para la variable glucosa a lo largo del estudio.

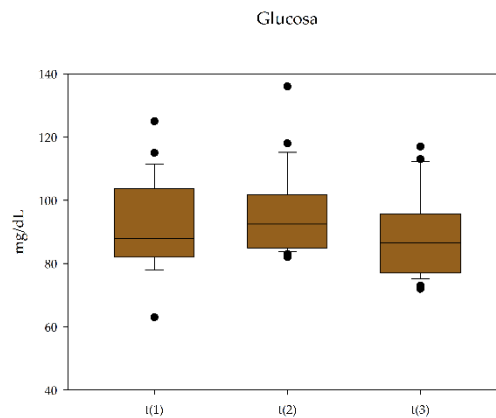


Figura 5.6: Diagrama de cajas de la variable glucosa a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

En la Figura 5.7 se presentan gráficamente los resultados obtenidos a lo largo del periodo de estudio.

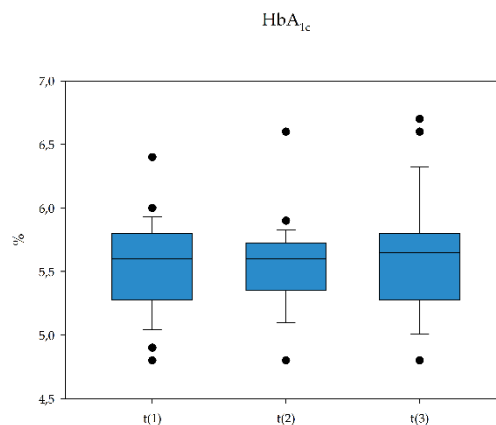


Figura 5.7: Diagrama de cajas de la variable hemoglobina glicosilada a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

En la Figura 5.8 se comparan los diagramas de cajas correspondientes a los tres puntos de control del estudio para la variable insulina.

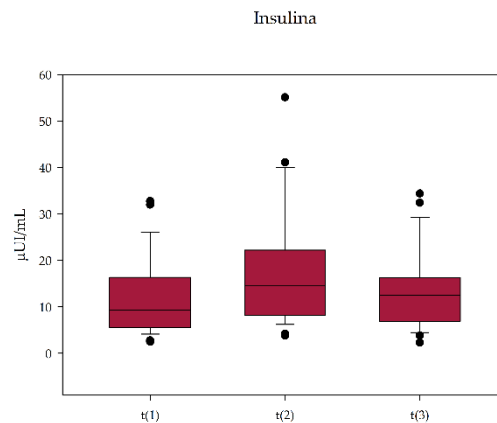


Figura 5.8: Diagrama de cajas de la variable insulina a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

En la Figura 5.9 se presentan los resultados obtenidos durante los tres puntos de control para la variable índice HOMA-IR.

Una vez presentados los diagramas de cajas para las variables del metabolismo glucídico se muestra en la Tabla 5.10 los resultados de los efectos comparados por pares para las variables de este grupo.

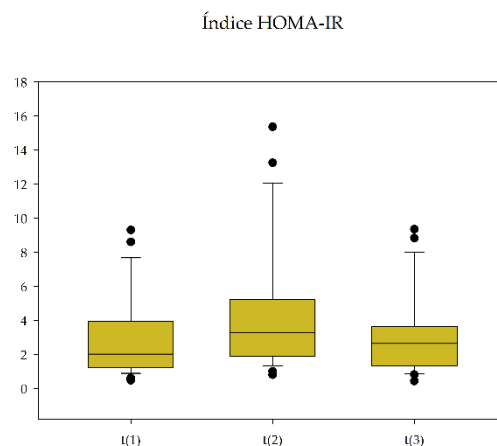


Figura 5.9: Diagrama de cajas de la variable índice HOMA-IR a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

Tabla 5.10: Comparación por parejas para las variables del metabolismo glucídico.

<b>Glucosa</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	p = 0,012 <sup>a</sup>	NS (p = 0,091)
<b>Post-dieta</b>		-	p < 0,001 <sup>b</sup>
<b>HbA1c</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 1,000)	NS (p = 0,713)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 0,484)
<b>Insulina</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	p = 0,002 <sup>a</sup>	NS (p = 0,264)
<b>Post-dieta</b>		-	p = 0,003 <sup>b</sup>
<b>Índice HOMA-IR</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	p = 0,002 <sup>a</sup>	NS (p = 0,534)
<b>Post-dieta</b>		-	p = 0,002 <sup>b</sup>

NS: *variación no significativa*

<sup>a</sup> *Incremento de signo positivo (aumento significativo de la magnitud).*

<sup>b</sup> *Incremento de signo negativo (descenso significativo de la magnitud).*

Se aprecia en la Tabla 5.10 que no existe efecto positivo en la salud sobre las variables del metabolismo glucídico analizadas. Puede observarse que, salvo la hemoglobina glicosilada que no mostró variación, el resto de variables experimentaron variaciones significativas entre el inicio y el momento post-dieta siendo estos incrementos medianos de 4,5 mg/dL para la glucosa (p = 0,012), de 5,2  $\mu$ UI/mL para la insulina (p = 0,002) y de 1,28 puntos para el índice HOMA-IR, (p = 0,002). Si se compara el inicio del estudio con el final del mismo, se observa que no existió diferencia significativa en las concentraciones de ninguna variable del grupo de metabolismo de carbohidratos. Al examinar las variaciones entre el inicio del estudio y el final del mismo no se observó variación significativa entre las concentraciones medias y medianas para ningún biomarcador. Sí se objetivaron, en cambio, descensos medianos significativos entre la extracción realizada en el momento post-dieta y el momento post-control para las variables glucosa

(descenso mediano: 6 mg/dL,  $p < 0,001$ ), insulina (descenso mediano: 1,95  $\mu$ UI/mL,  $p = 0,003$ ) e índice HOMA-IR (descenso mediano: 0,655 puntos,  $p = 0,002$ ).

### 5.3.3 Biomarcadores de inflamación

Siguiendo el mismo esquema de presentación que con el resto de variables anteriores, se muestran en primer lugar, en la Tabla 5.11, los resultados obtenidos al analizar las variables del grupo de biomarcadores de inflamación (PCRus, TNF- $\alpha$  e IL-6) en los tres momentos a lo largo del estudio (momento previo a la dieta, justo después de finalizarla y tras el periodo control).

Tabla 5.11: Resultados obtenidos tras aplicar el test de Friedman al grupo biomarcadores de inflamación.

	PCRus (mg/dL)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
<b>Inicio (Med (RIC))</b>	0,264 (0,340)	6,510 (2,285)	2,900 (2,995)
<b>Post-dieta (Med (RIC))</b>	0,212 (0,211)	5,600 (2,020)	2,890 (3,025)
<b>Post-control (Med (RIC))</b>	0,247 (0,329)	5,330 (1,985)	2,340 (2,835)
<b>Friedman <math>\chi^2</math></b>	6,750	8,702	0,292
<b>Friedman p</b>	0,034	$p = 0,013$	$p = 0,864$

Puede observarse en la Tabla 5.11 que existieron diferencias significativas en las concentraciones de PCRus y de TNF- $\alpha$  a lo largo del estudio. Estos efectos se detallarán, más adelante, en el análisis por parejas.

En la Figura 5.10 se muestran los resultados en forma de diagrama de cajas para la variable PCRus a lo largo del estudio:

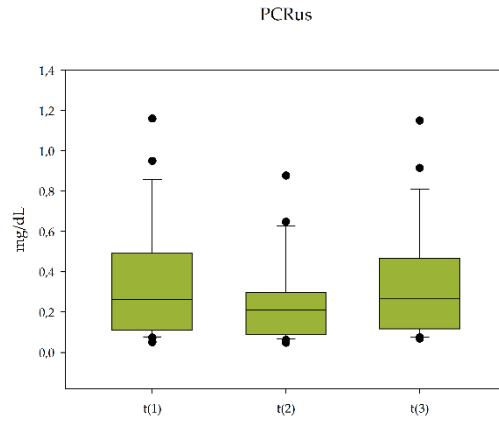


Figura 5.10: Diagrama de cajas para la variable PCRus a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

De igual manera, en la Figura 5.11 se muestran los diagramas de cajas de las concentraciones de las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-6 a lo largo del estudio:

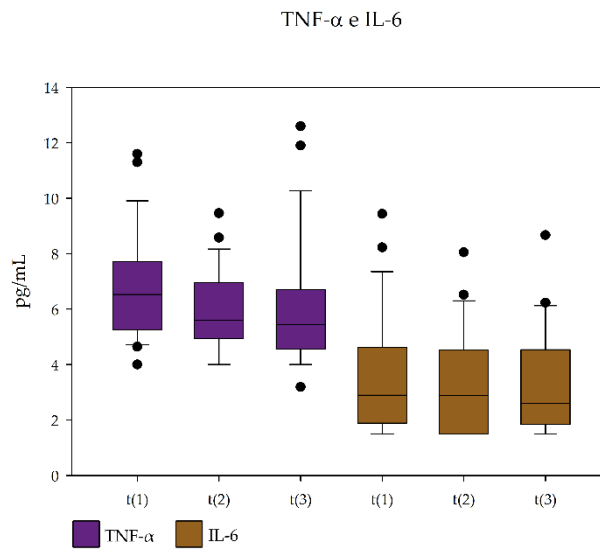


Figura 5.11: Diagrama de cajas de las variables TNF- $\alpha$  e IL-6 a lo largo del ensayo. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.



Una vez mostrados los resultados de forma gráfica para las variables del grupo de biomarcadores de inflamación, se presenta a continuación el análisis de los resultados comparados por pares para las variables de esta categoría. Estos resultados se resumen en la Tabla 5.12:

Tabla 5.12: Comparación por parejas para los biomarcadores de riesgo cardiovascular emergentes.

<b>PCRus</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	p = 0,026 <sup>a</sup>	NS (p = 0,338)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 0,067)
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	p = 0,007 <sup>a</sup>	p = 0,004 <sup>a</sup>
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 0,330)
<b>IL-6</b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 0,513)	NS (p = 0,426)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 1,000)

NS: variación no significativa

<sup>a</sup> Incremento de signo positivo (descenso significativo de la magnitud).

La PCRus disminuyó de manera significativa comparando sus concentraciones basales con las encontradas después del programa de actuación dietética, siendo este descenso de 0,052 mg/dL (p = 0,026). Las concentraciones de PCR no registraron variaciones al comparar el inicio del estudio con el final del mismo. Se observó en cambio una ligera tendencia alcista que, si bien no fue significativa, estuvo cerca de serlo (p = 0,067) de 0,035 mg/dL, comparando el punto post-dieta con el punto post-control.

Puede observarse una disminución significativa de la variable TNF- $\alpha$  tras el periodo de intervención dietética, siendo el descenso mediano de 0,91 pg/mL (p = 0,007). De igual manera, se aprecia una disminución significativa si se compara el momento inicial del estudio con el momento post-control del mismo, siendo esta disminución mediana de 1,18 pg/mL (p = 0,004). En cambio, no se han encontrado diferencias significativas comparando el momento post-dieta y el momento post-

control, es decir, que no se han encontrado diferencias significativas a lo largo del periodo control para la variable TNF- $\alpha$ .

La variable IL-6 no presentó diferencias significativas en ninguna de las comparaciones por pares realizada.

### 5.3.4 Presión arterial

En primer lugar, en la Tabla 5.13, se presentan los resultados obtenidos al analizar las variables PAS y PAD durante los tres puntos de control a lo largo del estudio (estado basal o inicio del programa, justo al finalizar la dieta y después del periodo control).

*Tabla 5.13: Resultados obtenidos tras analizar los diferentes momentos del estudio para las variables PAS y PAD.*

	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
<b>Inicio</b>	126,00 (21,50)	79,16 $\pm$ 7,85
<b>Post-dieta</b>	119,00 (19,00)	78,04 $\pm$ 8,07
<b>Post-control</b>	120,00 (17,50)	80,28 $\pm$ 6,49
<b>ANOVA F</b>	-	1,313
<b>ANOVA p</b>	-	0,279
<b>Friedman <math>\chi^2</math></b>	2,224	-
<b>Friedman p</b>	0,329	-

*La variable PAS se expresa como Med (RIC); la variable PAD como  $\bar{X} \pm DE$ .*

De la tabla anterior se desprende que no existieron diferencias significativas a lo largo del estudio para las variables PAS y PAD. A continuación, se procede a mostrar estos resultados de manera gráfica en la Figura 5.12.

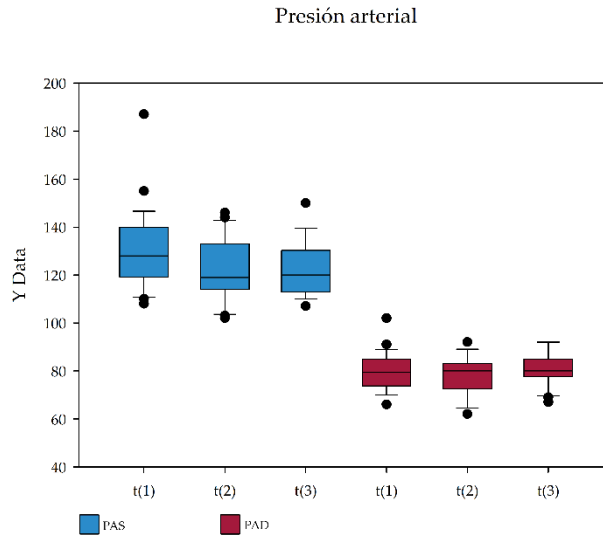


Figura 5.12: Diagrama de cajas de las variables PAS y PAD a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

Una vez analizados los efectos de la intervención dietética de manera global a lo largo del estudio, se muestra a continuación el estudio por pares en la Tabla 5.14.

Tabla 5.14: Análisis por pares de las variables PAS y PAD.

PAS			
	Inicio	Post-dieta	Post-control
Inicio	-	p = 0,040 <sup>a</sup>	p = 0,025 <sup>a</sup>
Post-dieta		-	NS (p = 0,872)
PAD			
	Inicio	Post-dieta	Post-control
Inicio	-	NS (p = 1,000)	NS (p = 1,000)
Post-dieta		-	NS (p = 0,255)

NS: variación no significativa

<sup>a</sup> Incremento de signo negativo (descenso significativo de la magnitud).

Para la PAS se puede apreciar que, a pesar de que en el análisis estadístico global no se evidenciaron diferencias significativas, al realizar el estudio por pares se objetivó un descenso significativo ( $p = 0,040$ ) entre el inicio y el final de la intervención dietética, siendo este descenso mediano de 7,00 mmHg. De la misma manera se observó una disminución significativa entre el inicio del estudio y el final del periodo control siendo el descenso mediano de 6,00 mmHg ( $p = 0,025$ ). En el estudio por pares de PAD no se observó ninguna diferencia significativa en ninguna de las comparaciones por pares.

#### 5.4 ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO

Este grupo engloba las variables masa corporal (que se expresará como peso y como IMC) y perímetro abdominal.

##### 5.4.1 Masa corporal

Se muestran a continuación, en la Tabla 5.15, los resultados obtenidos a lo largo del estudio para las variables peso e IMC:

*Tabla 5.15: Resultados obtenidos tras aplicar ANOVA de medidas repetidas a las variables peso e IMC.*

	Peso (kg)	IMC (pg/mL)
<b>Inicio (<math>\bar{x} \pm DE</math>)</b>	80,636 $\pm$ 12,139	32,628 $\pm$ 4,436
<b>Post-dieta (<math>\bar{x} \pm DE</math>)</b>	79,708 $\pm$ 12,283	32,257 $\pm$ 4,558
<b>Post-control (<math>\bar{x} \pm DE</math>)</b>	79,492 $\pm$ 12,369	32,183 $\pm$ 4,668
<b>ANOVA F</b>	8,739	8,537
<b>ANOVA p</b>	p = 0,001	p = 0,001

Se observaron diferencias significativas entre las medidas a lo largo del estudio. Estos efectos se analizarán detalladamente más adelante en el análisis por pares. A continuación, en la Figura 5.13 se presenta el diagrama de cajas de las variables peso e IMC a lo largo del estudio.

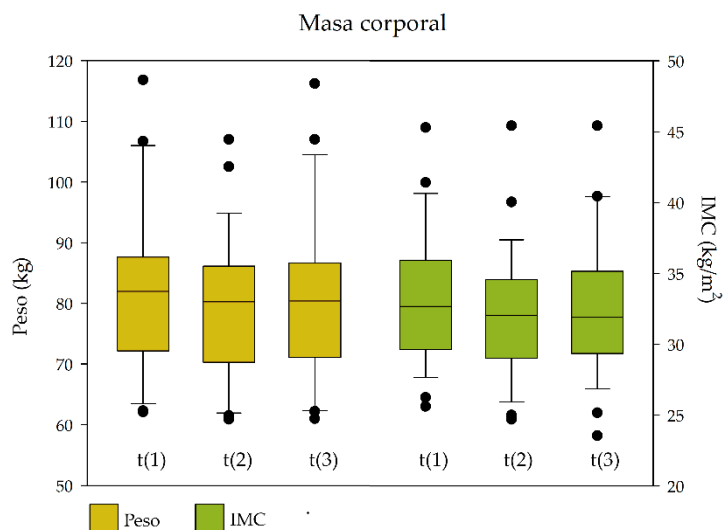


Figura 5.13: Diagrama de cajas de las variables Peso e IMC a lo largo del estudio. t(1): inicio del estudio; t(2): tras finalizar dieta; t(3): tras periodo de control.

Una vez representados los resultados de forma gráfica para estas variables, se presenta a continuación el análisis de los resultados comparados por pares para estas mismas variables. Estos resultados se resumen en la Tabla 5.16.

Tabla 5.16: Comparación por parejas para las variables Peso e IMC.

Peso			
	Inicio	Post-dieta	Post-control
Inicio	-	p = 0,010a	p = 0,004a
Post-dieta		-	NS (1,000)
IMC			
	Inicio	Post-dieta	Post-control
Inicio	-	p = 0,010	p = 0,004
Post-dieta		-	NS (1,000)

NS: variación no significativa

<sup>a</sup> Incremento de signo negativo (descenso significativo de la magnitud).

Se observa en esta tabla que la variable masa corporal (expresada como peso y como IMC) experimentó un descenso en sus valores medios de tipo significativo después de la intervención dietética. Este descenso medio fue de 0,928 kg o

0,371 kg/m<sup>2</sup> ( $p = 0,010$ ). Se observó también disminución significativa comparando el inicio del estudio con el final del periodo control, siendo el descenso medio de 1,144 kg o 0,445 kg/m<sup>2</sup> ( $p = 0,004$ ).

#### 5.4.2 Perímetro abdominal

Se finaliza la presentación de resultados con el estudio de la variable perímetro abdominal ( $P_{abd}$ ) a lo largo del ensayo en la Tabla 5.17.

Tabla 5.17: Resultados obtenidos tras aplicar el test ANOVA de medidas repetidas a la variable perímetro abdominal a lo largo del estudio.

$P_{abd}$ (cm)	
<b>Inicio (<math>\bar{x} \pm DE</math>)</b>	100,115 $\pm$ 10,418
<b>Post-dieta (<math>\bar{x} \pm DE</math>)</b>	99,788 $\pm$ 10,595
<b>Post-control (<math>\bar{x} \pm DE</math>)</b>	99,673 $\pm$ 10,622
<b>ANOVA F</b>	1,171
<b>ANOVA p</b>	$p = 0,303$

De esta misma tabla se desprende que no existieron diferencias significativas a lo largo de la intervención. Estos resultados se representan de manera gráfica a continuación en la Figura 5.14.

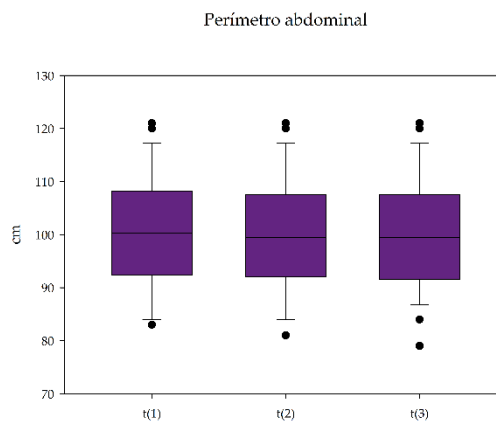


Figura 5.14: Diagrama de cajas de la variable  $P_{abd}$  a lo largo del experimento.  $t(1)$ : inicio del estudio;  $t(2)$ : tras finalizar dieta;  $t(3)$ : tras periodo de control.

El estudio por pares de esta variable se muestra a continuación en la Tabla 5.18:

Tabla 5.18: Análisis por pares de la variable  $P_{abd}$ .

<b><math>P_{abd}</math></b>			
	<b>Inicio</b>	<b>Post-dieta</b>	<b>Post-control</b>
<b>Inicio</b>	-	NS (p = 0,252)	NS (p = 0,772)
<b>Post-dieta</b>		-	NS (p = 1,000)

NS: *variación no significativa.*

No se observó variación significativa en ninguna comparación por pares en la variable  $P_{abd}$ .





## **6. DISCUSIÓN**



## 6. DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar los efectos del consumo de brotes de brócoli sobre la salud en mujeres menopáusicas con sobrepeso u obesas antes y después de una intervención dietética y comparar estos resultados con los obtenidos en la misma población de voluntarias durante un periodo control. En este capítulo se discutirán los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral.

### 6.1 TRABAJOS PUBLICADOS RELACIONADOS CON EL TEMA

Tras revisar la evidencia científica disponible hasta la fecha mediante PubMed, el motor de búsqueda de la base de datos Medline, y mediante la base de datos de tesis doctorales (TESEO) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, no se ha encontrado otro estudio con las mismas condiciones que la presente tesis doctoral. A lo largo de este capítulo se irán comparando y discutiendo los resultados aquí obtenidos con los resultados obtenidos por otros autores.

En la Tabla 6.1 se resumen los estudios hallados en la literatura científica y que evalúan múltiples variables (clínicas y moleculares) tras el consumo de brócoli en diferentes muestras poblacionales y con distintas metodologías [214, 215].

*Tabla 6.1: Estudios de evaluación del consumo de brócoli, GRA y SFN en variables clínicas y moleculares en humanos ordenados por fecha de publicación.*

<b>Autor principal (año)</b>	<b>Tipo de estudio y muestra</b>	<b>Intervención dietética</b>	<b>Variables evaluadas</b>
Galan (2004) [216]	Estudio piloto con adultos colonizados por <i>H. pylori</i> (n = 9)	Brotos de brócoli (14, 28 o 56 g) 2 veces al día durante 7 días	Biomarcadores de colonización de <i>H. pylori</i> (HpSA y UBT)
Murashima (2004) [195]	Estudio piloto con sujetos sanos (n = 12)	Brotos de brócoli frescos (100 g/día) durante 7 días	Perfil lipídico, ácido úrico, urea, perfil hepático, biomarcadores de estrés oxidativo (concentración de PCOOH, ratio CoQ <sub>10</sub> H <sub>2</sub> /CoQ <sub>10</sub> e isoprostano y 8-OHdG en orina.

<b>Autor principal (año)</b>	<b>Tipo de estudio y muestra</b>	<b>Intervención dietética</b>	<b>Variables evaluadas</b>
Kensler (2005) [217]	Ensayo clínico aleatorizado de una población con elevada incidencia de carcinoma hepatocelular (n = 200)	125 mL de infusión de brotes de brócoli conteniendo 400µmol de GRA vs grupo placebo durante 2 semanas	Excreción de biomarcadores tumorales (aflatoxina urinaria y metabolitos de trans, anti-fenantreno tetraol
Gasper (2007) [218]	Ensayo clínico aleatorizado cruzado con sujetos sanos (n = 16)	Dosis única de 150 mL de sopa hecha con brócoli estándar o con brócoli enriquecido con GSLs	Expresión de genes relacionados al metabolismo xenobiótico y al ciclo celular en la mucosa gástrica
Hakooz (2007) [219]	Estudio piloto con individuos sanos (n = 10)	500 g de brócoli crudo vs 500 g de brócoli cocinado durante 6 días	Actividad de las enzimas del citocromo P450 (CYP2A6 y CYP1A2) relacionadas con el metabolismo xenobiótico
Traka (2008) [220]	Ensayo clínico aleatorizado cruzado con hombres de edad avanzada en seguimiento urológico (n = 22)	400 g de brócoli cocinado vs 400 g de guisantes cocinados a la semana durante 12 meses	Marcadores de crecimiento prostático (PSA) y de proliferación celular de carcinoma prostático
Riso (2009) [221]	Ensayo clínico aleatorizado cruzado con fumadores y no fumadores (n = 20)	200 g/día de brócoli cocinado al vapor vs dieta habitual sin crucíferas durante 10 días	Biomarcadores de daño oxidativo del ADN endógeno, biomarcadores de riesgo de cáncer (actividad HDAC) en linfocitos, concentraciones de IGF-1 séricas
Riedl (2009) [222]	Ensayo clínico de aumento de la dosis en sujetos sanos (n = 57)	25, 100, 125, 150, 175 o 200 g de brotes de brócoli homogeneizados conteniendo cerca de 0,283 µmol/mL de SFN vs 200 g de brotes de alfalfa durante 3 días	Expresión de enzimas antioxidantes de fase II (glutatión-S-transferasa M1 y P1, NADPH quinona oxidoreductasa y HO-1) en células de lavado nasal
Christiansen (2010) [223]	Ensayo clínico aleatorizado con pacientes hipertensos (n = 40)	10 g diarios de brotes de brócoli en polvo conteniendo casi 30,3 µmol/g de GRA vs dieta habitual durante 4 semanas	Presión arterial, función endotelial (dilatación mediada por flujo), colesterol total, C-HDL y C-LDL
Riso (2010) [224]	Ensayo clínico aleatorizado cruzado con adultos fumadores (n = 27)	250 g/día de brócoli cocinado al vapor vs dieta habitual sin crucíferas durante 10 días	Daño en el ADN y biomarcadores de reparación

<b>Autor principal (año)</b>	<b>Tipo de estudio y muestra</b>	<b>Intervención dietética</b>	<b>Variables evaluadas</b>
Bahadoran (2011) [225]	Ensayo clínico aleatorizado doble ciego en pacientes con DM2 (n = 63)	5 o 10 g diarios de brotes de brócoli en polvo conteniendo cerca de 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN vs placebo (almidón de maíz teñido con clorofila) durante 4 semanas	Marcadores de estrés oxidativo (capacidad antioxidante total del suero, estado total de oxidante, índice de estrés oxidativo, concentración sérica de malondialdehído y C-LDL oxidado)
Mirmiran (2012) [226]	Ensayo clínico aleatorizado doble ciego en pacientes con DM2 (n = 63)	5 o 10 g diarios de brotes de brócoli en polvo conteniendo cerca de 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN vs placebo (almidón de maíz teñido con clorofila) durante 4 semanas	Glucemia en ayunas, concentraciones séricas de PCR, IL-6 y TNF- $\alpha$
Bahadoran (2012) [227]	Ensayo clínico aleatorizado doble ciego en pacientes con DM2 (n = 63)	5 o 10 g diarios de brotes de brócoli en polvo conteniendo cerca de 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN vs placebo (almidón de maíz teñido con clorofila) durante 4 semanas	Glucemia en ayunas, insulina plasmática, sensibilidad a la insulina (GBA/insulina), índice HOMA
Bahadoran 2012 [228]	Ensayo clínico aleatorizado doble ciego en pacientes con DM2 (n = 72)	5 o 10 g diarios de brotes de brócoli en polvo conteniendo cerca de 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN vs placebo (almidón de maíz teñido con clorofila) durante 4 semanas	GBA, colesterol total, TG, C-LDL, C-HDL y C-LDL y C-LDL oxidado; C-LDL oxidado/C-LDL; índice aterogénico del plasma (log TG/C-HDL), colesterol total/C-HDL y C-LDL/C-HDL
Kensler (2012) [229]	Ensayo clínico aleatorizado cruzado con individuos de una comunidad con una alta incidencia de carcinoma hepatocelular (n = 50)	Bebidas elaboradas con brotes de brócoli liofilizado diluido con zumo de mango conteniendo 800 $\mu\text{mol}$ de GRA o 150 $\mu\text{mol}$ de SFN al día vs zumo de mango durante 7 días	Excreción urinaria de metabolitos de contaminantes del aire (ácidos mercaptúricos de acroleína, crotonaldehído, óxido de etileno y benceno)
Armah (2013) [230]	Ensayo clínico aleatorizado con sujetos con riesgo moderado de desarrollar ECV (n = 48)	400 g de brócoli enriquecido con GSLs (21,6 $\mu\text{mol/g}$ de GRA) vs brócoli estándar (6,9 $\mu\text{mol/g}$ de GRA) vs 400g de guisantes al vapor semanalmente durante 3 meses	PAS y PAD, colesterol total, C-HDL, C-LDL, C-LDL oxidado, TG, PCR, velocidad de onda de pulso y rigidez de pulso arterial evaluada por el índice de aumento

<b>Autor principal (año)</b>	<b>Tipo de estudio y muestra</b>	<b>Intervención dietética</b>	<b>Variables evaluadas</b>
Riso (2014) [215]	Ensayo clínico aleatorizado cruzado con adultos fumadores (n = 17)	250 g/día de brócoli cocinado al vapor vs dieta habitual sin crucíferas durante 10 días	Biomarcadores inflamatorios (PCR, TNF- $\alpha$ , IL-6, receptor de IL-6 y adiponectina) y biomarcadores del estado nutricional (folato, luteína, $\alpha$ y $\beta$ -caroteno, zeaxantina, $\beta$ -criptoxantina y licopeno)

## 6.2 MUESTRA POBLACIONAL

Tal y como se muestra en la Tabla 6.1, diferentes trabajos han evaluado los efectos del consumo de este vegetal en individuos sanos, como los publicados por Murashima y cols. (2004), Gisper y cols. (2007), Hakooz y Hamdan (2007) y Riedl y cols. (2009); en fumadores, como los estudios de Riso y cols. (2009, 2010 y 2014); en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, como los ensayos de Bahadoran y cols. (2011 y 2012) y Mirmiran y cols. (2012); en pacientes con riesgo cardiovascular moderado, como el llevado a cabo por Armah y cols. (2013); en pacientes hipertensos, como el estudio realizado por Christiansen y cols. (2010); en población con alta incidencia de carcinoma hepatocelular, como los trabajos publicados por Kensler y cols. (2005 y 2012); en pacientes infectados por *H. pylori*, como los ensayos realizados por Galan y cols. (2004) y Yanaka y cols. (2009), y por último en pacientes varones ancianos en seguimiento urológico, como el estudio realizado por Traka y cols. (2008).

No se han encontrado otros trabajos que evalúen los efectos del consumo de brotes de brócoli en la salud en la misma cohorte que esta tesis doctoral. Las características de la muestra poblacional estudiada ya han sido descritas en el apartado 5.1 y pueden ser consultadas en la página 96.

En cuanto al tamaño muestral de este trabajo, puede afirmarse que el número de sujetos que formaron parte del estudio está en consonancia con otros trabajos que evaluaban parámetros similares a los aquí analizados. Si bien es cierto que existen trabajos con una población sensiblemente superior, como es el publicado por Kensler y cols. (2005), en el que estudiaron una población de 200 sujetos, los objetivos de su estudio distan notablemente de los aquí propuestos (estudio de excreción de biomarcadores tumorales en una población con alta incidencia de

carcinoma hepatocelular). Existen otros trabajos con una población superior, como el de Bahadoran y cols. (2012), con una n de 72 sujetos o el de Armah y cols. (2013), con una población de 48 voluntarios. En el presente trabajo, la población que finalizó el estudio fue de 26 mujeres, situándose por encima de estudios como el de Murashima y cols. (2004), con una población de 12 sujetos, el de Riso y cols. (2009), con una población de 20 voluntarios o el de Riso y cols. (2014), con una población de 17 sujetos.

### 6.3 ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD

El propósito de realizar una evaluación de la biodisponibilidad fue el de servir de herramienta de control para valorar la adherencia al consumo de brócoli y valorar el cumplimiento de la restricción de crucíferas para revelar así posibles incumplimientos, en caso de que se dieran lugar, de las indicaciones conforme al protocolo que debían seguir las voluntarias del estudio.

Las concentraciones medianas basales de SFN-NAC en orina (referenciadas a g de creatinina) aumentaron notablemente (más de 550 veces) tras el periodo de consumo de 5 semanas, pasando de 4,235 nmol/g a 2.351,743 nmol/g,  $p < 0,001$ . Las concentraciones medias urinarias de SFN-NAC descendieron nuevamente tras la fase de 2 semanas de lavado a niveles semejantes al inicio del estudio (8,657 nmol/g,  $p < 0,001$ ) indicando que el periodo de lavado fue suficiente para aclarar la concentración de metabolitos derivados del consumo de la glucorafanina contenida en el brócoli. Además, no se observó variación comparando las concentraciones basales de SFN-NAC con las halladas después del periodo de lavado ( $p = 0,798$ ). Después de las 5 semanas del periodo de control no se observó variación significativa con respecto al inicio del estudio ( $p = 0,362$ ) aunque si existió una disminución mediana significativa en las concentraciones de SFN-NAC de 4,782 nmol/g durante el periodo de control ( $p = 0,009$ ), indicando que se cumplió la recomendación de no consumir crucíferas durante la fase de lavado y durante el periodo control.

Los resultados del estudio de biodisponibilidad indican que las participantes del ensayo siguieron las recomendaciones dietéticas, al menos las referentes a consumo de brotes de brócoli durante la fase de intervención dietética y a la restricción de consumo de crucíferas durante los periodos de lavado y de control.

#### 6.4 PERFIL LIPÍDICO

Debido a la existencia de diversos estudios que han descrito el efecto hipolipemiente de las crucíferas (y del brócoli en particular) [192–196], se decidió evaluar los efectos de su consumo sobre diferentes parámetros del perfil lipídico en nuestra cohorte. Los resultados de esta tesis doctoral muestran que no hubo variación significativa global a lo largo del estudio en las concentraciones de CT ( $p = 0,069$ ). El análisis *post hoc* constató que el periodo de consumo de brotes de brócoli no indujo cambios en las concentraciones de colesterol plasmático al finalizar las 5 semanas de consumo ( $p = 0,289$ ). Tampoco se observaron cambios a lo largo del periodo control ( $p = 1,000$ ), aunque al comparar el valor basal al inicio de la intervención dietética con el final del periodo control se observó un descenso medio de 8,577 mg/dL, que, si bien no resultó significativo, presentó un nivel de significación cercano a 0,05 ( $p = 0,062$ ) que podría estar indicando una tendencia a la baja.

En cuanto al comportamiento del C-HDL, se observaron diferencias significativas en las concentraciones medias tras evaluar el efecto global de la intervención ( $p = 0,031$ ). Esta diferencia significativa observada cuando se analizó el estudio desde una óptica global no se tradujo después en ninguna diferencia significativa cuando se sometió a un análisis por pares mediante las pruebas *post hoc*. No se observaron diferencias significativas entre ningún par de puntos de control. Tan solo el par inicio/post-control mostró un descenso de la concentración sérica de C-HDL de 4,000 mg/dL, que sin ser significativo estuvo cerca de serlo ( $p = 0,069$ ).

A pesar de estar hablando de descensos tanto en el CT como en C-HDL que no suponen una diferencia significativa, ambos descensos se observan entre el inicio del estudio y después del periodo control. Por ello, habría que profundizar en esta observación y evaluar si finalmente se confirma esta tendencia a la baja mediante estudios con mayor número de sujetos y/o con un tiempo de intervención o dosis superior o si, por el contrario, se trata de un artefacto sin efecto real.

Al analizar la variable colesterol noHDL no se evidenciaron diferencias significativas globales a lo largo del estudio. Tampoco se observaron diferencias significativas después de realizar el estudio *post hoc* por pares de grupos.



De igual manera que con la variable colesterol noHDL, no se observó ninguna diferencia significativa ni a nivel global ni por pares en la variable TG.

Hay que tener cautela a la hora de comparar y extrapolar los resultados aquí obtenidos con los encontrados por otros autores, puesto que, como ya se comentó anteriormente, tanto las cohortes estudiadas en otros trabajos publicados como las metodologías aplicadas son diferentes a la de esta tesis doctoral.

Murashima y cols. (2004), en un estudio piloto con 12 pacientes sanos (6 hombres y 6 mujeres con edades comprendidas entre los 20 y los 36 años) en el que se añadieron 100 g de brotes de brócoli diarios durante 7 días, obtuvieron disminuciones significativas en las concentraciones de CT en hombres mientras que en el grupo de mujeres no observaron variaciones significativas. En el grupo de mujeres se observó un aumento significativo de las concentraciones de C-HDL después de la intervención dietética. No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones medias de TG antes y después del consumo de brócoli. Este estudio contó con una baja muestra poblacional y con una edad media sensiblemente menor a la de la presente tesis doctoral.

Christiansen y cols. (2010), en un estudio con una cohorte mayor que la del publicado por Murashima y cols., donde contaron con 40 pacientes hipertensos (20 mujeres y 20 hombres) y en el cual se incluyeron en la dieta 10 g de brotes de brócoli en polvo durante 4 semanas no encontraron diferencias significativas antes y después del consumo en CT, C-HDL, C-LDL y TG, siendo estos resultados similares a los obtenidos en el presente estudio.

Bahadoran y cols. (2012), en un trabajo con 63 pacientes diabéticos tipo 2 divididos en tres grupos de consumo diferente de brotes de brócoli (10 g diarios, 5 g diarios y placebo) durante 4, semanas obtuvieron descensos significativos entre los dos grupos de consumo y el grupo placebo en las variables TC y C-LDL. Se observó, a su vez, un descenso significativo en los TG comparando el grupo de 10 g diarios respecto del grupo placebo. El C-HDL no experimentó cambios en el grupo de 10 g de consumo diarios, pero sí en el grupo de consumo de 5 g diarios y en el grupo placebo, donde se observó un descenso significativo. Estos resultados podrían presentar cierta consonancia con las tendencias a la baja halladas en el CT y en el C-HDL en la presente tesis doctoral, salvando las distancias entre las cohortes y los diseños de las intervenciones de los dos trabajos.

Armah y cols. (2013), en un estudio llevado a cabo con 48 pacientes (24 hombres y 24 mujeres) con riesgo moderado de padecer ECV, no encontraron diferencias significativas entre las concentraciones medias de CT, C-HDL, C-LDL ni TG después del consumo de 12 semanas en tres grupos distintos (400 g de brócoli, 400 g de brócoli enriquecido con GRA y 400 g de guisantes). El trabajo de Armah y cols. es el que tuvo un mayor tiempo de intervención de toda la literatura encontrada y a pesar de ello no encontró diferencias significativas en ninguna variable, de igual manera que los resultados obtenidos en esta tesis doctoral.

### 6.5 PERFIL GLUCÍDICO

Estudios diferentes han observado mejoría en parámetros del perfil glucídico tras el consumo de alimentos ricos en isotiocianatos, como es el caso del brócoli [226, 227]. Este hecho llevó a evaluar los efectos del consumo de brotes de brócoli en la cohorte de este estudio.

Excepto la hemoglobina glicosilada que no experimentó cambios a lo largo de todo el estudio, el resto de variables indicadoras del estado del metabolismo glucídico empeoraron tras la intervención con brotes de brócoli. Los valores medianos volvieron a valores similares a los basales tras el periodo control en las variables glucosa, insulina e índice HOMA-IR. Estos biomarcadores que reflejan el estado del metabolismo de los hidratos de carbono de manera puntual podrían estar distorsionados debido a cambios puntuales en la alimentación de las voluntarias que no quedaron reflejados en las encuestas de hábitos alimentarios y de recuerdo de 24h. Una vez comprobado que las voluntarias del estudio cumplieron con el consumo de brotes de brócoli en la fase de intervención y con la restricción de crucíferas en las fases de lavado y de control, no podría atribuirse los efectos negativos observados en el estudio a un incumplimiento de las directrices de consumo de brócoli/crucíferas pautadas.

Mirmiran y cols. y Bahadoran y cols. (2012) encontraron descensos significativos en sendos trabajos en las concentraciones medias de glucosa en ayunas y de índice HOMA-IR después del consumo de brotes de brócoli en grupos de consumo de 5 y 10 g diarios de brócoli durante 4 semanas en comparación con un grupo placebo.

A pesar de que se cumplieran las directrices de consumo referentes a los brotes de brócoli y de crucíferas a lo largo del estudio, no debería rechazarse la posibilidad de que se cometieran transgresiones dietéticas de otros tipos debido a la sensación de salud aportada por el hecho de participar en un programa de intervención dietética donde las participantes eran conocedoras de que se iban a investigar las probables propiedades beneficiosas del brócoli en la salud.

#### 6.6 BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN

El SFN se ha propuesto como uno de los inductores naturales con mayor acción sobre la ruta Keap1/Nrf2/ARE, otorgándole una actividad antiinflamatoria [189]. Por ello se decidió evaluar si existía variación en las concentraciones séricas de biomarcadores de inflamación como la PCRus, el TNF- $\alpha$  y la IL-6.

Los resultados obtenidos para la PCRus mostraron que tras el consumo de brotes de brócoli se produjo un descenso significativo de su concentración, con una disminución mediana de 0,052 mg/dL ( $p = 0,026$ ), variación que no se observó si se compara el inicio del estudio con el final del mismo. Se halló, por el contrario, una leve tendencia al alza que, si bien no fue significativa, estuvo cerca de serlo ( $p = 0,067$ ) comparando el punto post-dieta con el punto post-control. Este ligero aumento mediano, que se cuantificó en 0,035 mg/dL, podría estar sugiriendo que los valores medianos de PCR que han descendido tras el consumo activo de cantidades sustanciales de brotes de brócoli podrían normalizarse y repuntar tras el cese del consumo. Habría que profundizar en este sentido y realizar trabajos que contemplasen más tiempo (o más medidas) durante una fase control y ver así si realmente la PCR vuelve a sus valores previos antes del consumo de alimentos ricos en GRA o, por el contrario, se mantiene en valores inferiores a los iniciales tiempo después del cese del consumo.

Mirmiran y cols. (2012) encontraron descensos significativos de PCRus en dos grupos de intervención (consumo de 5 g y 10 g diarios) durante 4 semanas frente a un grupo placebo. Los descensos obtenidos en el estudio de Mirmiran y cols. fueron sensiblemente menores que los obtenidos en este trabajo: el descenso fue de 0,016 mg/dL para el grupo que consumió 5 g diarios y de 0,021 mg/dL para el que consumió 10 g frente al descenso obtenido en este estudio (0,035 mg/dL). Si bien los números son difícilmente comparables (ya se ha comentado anteriormente que la

cohorte de esta tesis doctoral no ha sido evaluada en otros estudios llevados a cabo con consumo regular de brócoli) los resultados obtenidos por Mirmiran y cols. convergen con los aquí obtenidos.

Riso y cols. (2014), en un estudio con 17 voluntarios jóvenes varones y fumadores sanos (edad e IMC medios de 21,8 años y 21,8 kg/m<sup>2</sup>) que consumieron 250 g diarios de brócoli durante 10 días, también obtuvieron un descenso significativo de 0,08 mg/dL ( $p < 0,05$ ) en las concentraciones medias de PCR después de los 10 días de consumo.

Por el contrario, Armah y cols. (2013) no encontraron diferencias significativas en las concentraciones medias de PCR tras el consumo de brócoli con distintas concentraciones en GRA durante 3 meses en relación a un grupo placebo.

De los tres estudios que evalúan el comportamiento de las concentraciones séricas de PCR tras el consumo de brócoli o brotes de brócoli, dos de ellos obtuvieron los mismos resultados que este trabajo y tan solo uno encontró diferencias en el comportamiento del biomarcador. Esto parece indicar que los resultados aquí obtenidos estarían en convergencia con la mayoría de trabajos publicados (teniendo en cuenta la diferencia de cohortes y de metodologías de trabajo).

Los resultados obtenidos muestran que hubo diferencias significativas en la variable TNF- $\alpha$  tras el consumo de brócoli observándose un descenso mediano de 0,91 pg/mL ( $p = 0,007$ ). Durante el periodo de control no se observó variación significativa en las concentraciones medianas de esta citocina. Sí que se observó diferencia significativa si se compara la concentración mediana basal, previa al inicio de este trabajo, y el momento post-control (posterior a la finalización del estudio). La diferencia mediana entre el primer punto de control y el tercero fue de 1,18 pg/mL ( $p = 0,04$ ). Parece pues que se produce un efecto beneficioso tras el consumo de 5 semanas de 40 g de brotes de brócoli en este biomarcador. A diferencia de la PCRus, que presentó una tendencia alcista (que no fue significativa pero su nivel de significación estuvo próximo a 0,05) después de 7 semanas tras el abandono del consumo de brotes de brócoli y de crucíferas en general, las concentraciones séricas de TNF- $\alpha$  se mantuvieron a niveles comparables a los obtenidos tras el cese del consumo durante 5 semanas de brotes de brócoli. Podría desprenderse de estos resultados (aunque cabe ser cautos debido a las limitaciones del estudio, por ejemplo, derivadas del bajo número de participantes en el mismo)

que los efectos beneficiosos producidos por el consumo de brócoli en el estado inflamatorio y que tienen un reflejo en las concentraciones séricas de TNF- $\alpha$  perduran al menos 7 semanas más allá del cese del consumo de brócoli. Esta aseveración no debería asumirse como una conclusión sin más y se necesitaría realizar estudios posteriores que incidiesen en este aspecto, evaluando un número de sujetos mayor y realizando más medidas para verificar esta hipótesis.

Mirmiran y cols. (2012), en su estudio con 63 pacientes diabéticos, no encontraron diferencias significativas en las concentraciones medias de TNF- $\alpha$  tras el consumo de brotes de brócoli, si bien en ese estudio los grupos sujetos a intervención dietética consumieron menor cantidad de brotes de brócoli (5 y 10 g frente a los 40g que se ha evaluado en este estudio) y además el tiempo de consumo fue también menor (4 semanas frente a las 5 semanas de este trabajo).

Riso y cols. (2014) tampoco encontraron diferencias significativas en las concentraciones medias de TNF- $\alpha$ , pero además de estudiar una cohorte diferente (pacientes varones, jóvenes y fumadores) el tiempo de evaluación fue tan solo de 10 días y el consumo fue de 250 g de brócoli diario cocinado al vapor. Como se explicó en el capítulo de introducción de la presente tesis doctoral, los brotes de brócoli pueden contener entre 20 y 100 veces más GRA que una pella de brócoli adulto, pudiendo resultar la concentración obtenida de SFN en el estudio de Riso y cols. insuficiente y/o no comparable con las obtenidas por las participantes de este estudio.

Asimismo, los trabajos de Mirmiran y cols. (2012) y Riso y cols. (2014) además de estudiar poblaciones diferentes, tuvieron tiempos de intervención menores y cantidades de GRA presumiblemente menores a las de esta tesis doctoral.

En cambio, la IL-6 no mostró variaciones a lo largo de todo el estudio ni en ninguna de las comparaciones realizadas por pares. Estos resultados convergen con los obtenidos en los trabajos de Mirmiran y cols. (2012) y Riso y cols. (2014), en los que en ninguno de los dos se observó diferencia significativa en las concentraciones medias séricas de IL-6, al comparar antes y después de la intervención dietética.

#### 6.7 PRESIÓN ARTERIAL Y VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS

En la evaluación de las dos variables relativas a la presión arterial (PAS y PAD) no se observaron diferencias significativas a nivel global. En el estudio por

pares la PAS presentó un descenso mediano de 7,00 mmHg entre el inicio y tras el consumo de brotes de brócoli que resultó significativo ( $p = 0,040$ ). Igual que en variables anteriores, este comportamiento debería ser confirmado en estudios con mayor población, tiempo de intervención superior y/o cantidades diarias de GRA mayores. La comparación entre los dos primeros tiempos del estudio reveló un descenso de la PAS y se confirmó otro descenso significativo entre las PAS medianas cuando los tiempos comparados fueron el primero y el tercero de la intervención. Esta disminución fue de 6,00 mmHg ( $p = 0,025$ ). En cambio, no se observó diferencia entre el momento post-dieta y el momento post-control.

Ninguna variación fue observada en las comparaciones por pares en la variable PAD. Debido a la discrepancia entre los resultados hallados entre estas dos variables sería conveniente realizar estudios que incidan en estos aspectos, como se viene comentando hasta ahora.

Dos estudios diferentes, uno de Christiansen y cols. (2010), donde se evaluó el consumo de brócoli en pacientes con HTA, y otro de Armah y cols. (2013), donde se evaluaron los efectos del brócoli en pacientes con riesgo moderado de padecer ECV, no encontraron diferencias significativas en cuanto a cifras de presión arterial.

Puesto que en este estudio solo se han hallado descensos significativos en la PAS y no en la PAD, y sumado a que dos otros trabajos no han encontrado mejoría en esta variable tras el consumo de brócoli, sería oportuno profundizar en este aspecto mediante estudios más amplios que comprobasen si realmente el consumo de brotes de brócoli incide de manera positiva sobre estas variables.

No se han encontrado trabajos que evaluaran el efecto del consumo de brócoli sobre la variable masa corporal, no pudiéndose comparar los resultados aquí obtenidos con otros trabajos de diferentes autores.

Los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral objetivan un descenso medio significativo de 0,928 kg ( $p = 0,010$ ) en la fase de consumo de brócoli. También se observó un descenso cuando se comparó el primer punto del estudio con el último siendo esta disminución media de 1,144 kg ( $p = 0,004$ ). No se hallaron diferencias significativas correspondientes al periodo de control.

Como se acaba de mencionar, al no existir otros trabajos que relacionen el consumo de brotes de brócoli con pérdida de peso, podría resultar arriesgado establecer una relación entre ambos. Este estudio podría resultar el paso previo a

un trabajo de mayores dimensiones donde se evalúen de manera más minuciosa variables como las aquí estudiadas.

De igual manera que con la variable masa corporal, no se han encontrado trabajos que evalúen si existen variaciones en el perímetro abdominal en el contexto de un programa de intervención dietética con brotes de brócoli.

Sin embargo, y a diferencia de la variable masa corporal, no se encontraron diferencias significativas ni a nivel global ni en la comparación por pares. Estos resultados parecen indicar que el consumo de brócoli no induciría una disminución en el perímetro abdominal, no al menos en esta cohorte, durante este tiempo de intervención y seguimiento, y con la cantidad de brotes de brócoli utilizada en este trabajo.

#### 6.8 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La principal limitación del estudio radica en el tamaño muestral, que, si bien cumplió con el tamaño mínimo calculado, sería recomendable realizar un estudio posterior ampliado, con más población y con más tiempo de seguimiento. Esto permitiría evaluar si las tendencias sutiles detectadas en esta tesis doctoral se tornan en cambios significativos en estudios más amplios, con mayor tiempo de seguimiento y/o más población o, por lo contrario, estas posibles tendencias se disipan.

Aunque se pudo establecer un control del consumo de brócoli y crucíferas durante la fase de intervención dietética y las fases de lavado-control respectivamente, comprobándose de manera fehaciente que la ingesta de brócoli se cumplió de manera correcta, no fue posible determinar si hubo modificaciones en el patrón de ejercicio y de alimentación, a pesar de que se realizaron encuestas para controlar que no existían cambios en estos factores. El cumplimiento del mismo quedó sujeto a la voluntad de las participantes del estudio.

Una limitación adicional, fruto de las necesidades del grupo (debido sobre todo a fechas y problemas de logística), fue que no se pudo diseñar un estudio tipo *crossover*, en el que la mitad de las participantes empezasen consumiendo los brotes de brócoli y la otra mitad empezase en el periodo control, cambiándose de grupo tras finalizar las cinco primeras semanas y después de pasar por una fase de dos semanas de lavado. Este diseño, que es más adecuado en este tipo de

intervenciones, no pudo realizarse y tuvo que modificarse y adaptarse al que se ha llevado a cabo en la presente tesis doctoral.



## **7. CONCLUSIONES**



## 7. CONCLUSIONES

### **Conclusión 1:**

El consumo de brotes de brócoli no produjo efectos beneficiosos sobre el perfil lipídico en una población de mujeres obesas o con sobrepeso.

### **Conclusión 2:**

El consumo durante 5 semanas de brotes de brócoli no indujo cambios positivos en el perfil glucídico.

### **Conclusión 3:**

Se observó un efecto positivo sobre los biomarcadores de inflamación tras la intervención dietética.

### **Conclusión 4:**

Se observó un descenso de las cifras de PAS y peso tras el consumo de brotes de brócoli durante 5 semanas.



## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Nota descriptiva nº 311: Obesidad y sobrepeso. Ginebra; 2014.
2. Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B, Grupo Colaborativo de la SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)*. 2007;128(5):184-96.
3. Eknayan G. Adolphe Quetelet (1796–1874) – the average man and indices of obesity. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(1):47-51.
4. Bellido Guerrero D, García Lorda P, Martínez Olmos M. Composición corporal en el obeso. En: Moreno B, Monereo S, Álvarez J, editores. *La obesidad en el tercer milenio*. 3.<sup>a</sup> ed. Buenos Aires. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2004. p. 73-90.
5. Bolado García V, Calvillo Solana G, Meijerink Una CJ. Crecimiento en la edad escolar. En: Meléndez G, editor. *Factores asociados con sobrepeso y obesidad en el ambiente escolar*. Ciudad de México: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 7-18.
6. Malina RM, Katzmarzyk PT. Validity of the body mass index as an indicator of the risk and presence of overweight in adolescents. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(1):131S-6S.
7. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO). Consenso SEEDO'2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)*. 2000;115(15):587-97.
8. World Health Organization (WHO). *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity*. [Internet]. Geneva; 1998. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/63854>
9. Onat A, Avci GŞ, Barlan MM, Uyarel H, Uzunlar B, Sansoy V. Measures of abdominal obesity assessed for visceral adiposity and relation to coronary risk. *Int J Obes*. 2004;28(8):1018-25.
10. Yusuf S, Hawken S, Ôunpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet*. 2005;366(9497):1640-9.
11. Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *J Am Med Assoc*. 1998;280(21):1843-8.
12. World Health Organization (WHO). *Global Health Observatory Map Gallery* [Internet]. 2014. Disponible en: <http://gamapservr.who.int/mapLibrary/>
13. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. *La salud y el sistema sanitario en 100 tablas* [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.msssi.gob.es/>
14. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Alberdi-Aresti G, Ramos-Carrera N, Lázaro-Masedo S. Prevalencia de obesidad general y obesidad abdominal en la población adulta española (25 – 64 años) 2014 – 2015: estudio ENPE. *Rev Española Cardiol*. 2016;69(6):579-

- 87.
15. Hurt RT, Frazier TH, McClave SA, Kaplan LM. Obesity epidemic: Overview, pathophysiology, and the intensive care unit conundrum. *J Parenter Enter Nutr.* 2011;35(5 SUPPL.).
  16. Palou A, Serra F, Bonet ML, Picó C. Obesity: Molecular bases of a multifactorial problem. *Eur J Nutr.* 2000;39(4):127-44.
  17. Schwartz MW, Woods SC, Porte Jr. D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000;404(6778):661-71.
  18. Orphanet: Obesidad por deficiencia del receptor de melanocortina 4 [Internet]. Disponible en: <http://www.orpha.net>
  19. Clapham JC, Arch JRS, Chapman H, Haynes A, Lister C, Moore GBT, et al. Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean. *Nature.* 2000;406(6794):415-8.
  20. Rosmond R. Role of stress in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology.* 2005;30(1):1-10.
  21. Adán C, Cabot C, Vilà R, Grasa MM, Masanés RM, Esteve M, et al. Oleoyl-estrone treatment affects the ponderostat setting differently in lean and obese Zucker rats. *Int J Obes.* 1999;23(4):366-73.
  22. Villena JA, Roy S, Sarkadi-Nagy E, Kim K-H, Hei SS. Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: Ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem.* 2004;279(45):47066-75.
  23. Serene Tung EH, Shamarina S, Mohd Nasir MT. Familial and socio-environmental predictors of overweight and obesity among primary school children in Selangor and Kuala Lumpur. *Malays J Nutr.* 2011;17(2):151-62.
  24. Hernández Cordero S. Prevención de la obesidad infantil. *Gac Med Mex.* 2011;147 Suppl:46-50.
  25. Junnila R, Aromaa M, Heinonen OJ, Lagström H, Liuksila P-R, Vahlberg T, et al. The weighty matter intervention: A family-centered way to tackle an overweight childhood. *J Community Health Nurs.* 2012;29(1):39-52.
  26. Doo M, Kim Y. Association between ESR1 rs1884051 polymorphism and dietary total energy and plant protein intake on obesity in Korean men. *Nutr Res Pract.* 2011;5(6):527-32.
  27. Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, et al. The human obesity gene map: The 2004 update. *Obes Res.* 2005;13(3):381-490.
  28. Peng S, Zhu Y, Xu F, Ren X, Li X, Lai M. FTO gene polymorphisms and obesity risk: A meta-analysis. *BMC Med.* 2011;9:71-85.
  29. Liu G, Zhu H, Dong Y, Podolsky RH, Treiber FA, Snieder H. Influence of common variants in FTO and near INSIG2 and MC4R on growth curves for adiposity in African- and European-American youth. *Eur J Epidemiol.* 2011;26(6):463-73.



30. Nativio DG. The genetics, diagnosis, and management of Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Heal Care*. 2002;16(6):298-303.
31. Marshall JD, Beck S, Maffei P, Naggert JK. Alström syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2007;15(12):1193-202.
32. González Jiménez E. Obesidad: análisis etiopatogénico y fisiopatológico. *Endocrinol y Nutr*. enero de 2013;60(1):17-24.
33. Cavadini C. US adolescent food intake trends from 1965 to 1996. *Arch Dis Child*. 1 de julio de 2000;83(1):18-24.
34. González Jiménez E. Evaluación de una intervención educativa sobre nutrición y actividad física en niños y adolescentes escolares con sobrepeso y obesidad de Granada y provincia. Tesis Doctoral. Universidad de Granada; 2010.
35. Viner RM, Segal TY, Lichtarowicz-Krynska E, Hindmarsh P. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child*. 1 de enero de 2005;90(1):10-4.
36. Welsh JA, Cogswell ME, Rogers S, Rockett H, Mei Z, Grummer-Strawn LM. Overweight among low-income preschool children associated with the consumption of sweet drinks: Missouri, 1999-2002. *Pediatrics*. 2005;115(2):e223-9.
37. Salmon J, Timperio A, Telford A, Carver A, Crawford D. Association of family environment with children's television viewing and with low level of physical activity. *Obes Res*. 2005;13(11):1939-51.
38. Serra-Majem L, Aranceta Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Ribas-Barba L, Delgado-Rubio A. Prevalence and determinants of obesity in Spanish children and young people. *Br J Nutr*. 2006;96(Suppl.1).
39. Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, Church TS. The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. *Prog Cardiovasc Dis*. 2014;56(4):441-7.
40. Organización Mundial de la Salud (OMS). Factores de riesgo [Internet]. World Health Organization; 2011. Disponible en: <http://www.who.int/topics>
41. Abellán Alemán J, Hernández Menárguez F, García-Galbis Marín JA, Gómez Castaño JB, Madrid Conesa J, Martínez Pastor A, et al. Los nuevos factores de riesgo cardiovascular. *Hipertens y Riesgo Vasc*. 2001;18(4):171-85.
42. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Campañas - Prevención de enfermedades cardio y cerebrovasculares [Internet]. 2007. Disponible en: <https://www.msssi.gob.es/>
43. Stienstra R, Duval C, Müller M, Kersten S. PPARs, Obesity, and Inflammation. *PPAR Res*. 2007;2007:1-10.
44. Flier JS, Maratos-Flier E. Obesidad. En: Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, editores. *Harrison Principios de Medicina Interna*. 16.ª ed. Mexico DF: Mc Graw Hill Interamericana; 2005. p. 2599-636.
45. Brito-Núñez NJ, Alcázar Carett RJ. Obesidad y riesgo cardiometabólico. Revisión. *CIMEL Cienc e Investig Médica Estud Latinoam*. 2011;16(2):106-13.
46. Luengo Fernández E, Ordóñez Rubio B, Bergua Martínez C, Laclaustra Gimeno M.

- Obesidad, dislipemia y síndrome metabólico. *Rev Española Cardiol.* 2006;5(Supl.D):21-9.
47. Rahmouni K, Correia MLG, Haynes WG, Mark AL. Obesity-Associated Hypertension: New Insights Into Mechanisms. *Hypertension.* 2005;45(1):9-14.
  48. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med.* 2009;360(15):1509-17.
  49. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(4):473-81.
  50. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation task force on epidemiology and prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation. *Circulation.* 2009;120(16):1640-5.
  51. Wahba IM, Mak RH. Obesity and Obesity-Initiated Metabolic Syndrome: Mechanistic Links to Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(3):550-62.
  52. López-Jiménez F, Cortés-Bergoderi M. Obesidad y corazón. *Rev Española Cardiol.* 2011;64(2):140-9.
  53. McWilliams RR, Petersen GM. Overweight, obesity and pancreatic cancer: Beyond risk alone. *JAMA.* 2009;301(24):2592-3.
  54. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med.* 2005;143(10):722-8.
  55. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med.* 2003;348(17):1625-38.
  56. Bansal N. Prediabetes diagnosis and treatment: A review. *World J Diabetes.* 2015;6(2):296-303.
  57. Haffner SM. Abdominal adiposity and cardiometabolic risk: Do we have all the answers? *Am J Med.* 2007;120(9):S10-6.
  58. Organización Mundial de la Salud (OMS). Nota descriptiva nº 312: Diabetes. Ginebra; 2016.
  59. Ciszek A, Bermúdez V, Elliuz L, Bermúdez F, Cano R, Finol F, et al. Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) y su relación con la aterosclerosis coronaria. *Rev Latinoam Hipertens.* 2007;2:151-6.
  60. Grundy SM. Cardiovascular and metabolic risk factors: how can we improve outcomes in the high-risk patient? *Am J Med.* 2007;120(9):S3-8.
  61. Rodríguez G, Mago N, Rosa F. El papel de la inflamación en la aterogénesis. Revisión. *Invest Clin.* 2009;50(501):109-29.
  62. Libby P. Patogenia de la aterosclerosis. En: Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, editores. *Harrison Principios de Medicina Interna.* 16.<sup>a</sup> ed. Mexico DF: Mc Graw Hill Interamericana; 2005. p. 7814-38.

63. Sacks FM, Campos H. Dietary therapy in hypertension. *N Engl J Med.* 2010;362(22):2102-12.
64. Chobanian A V, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo Jr. JL, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* 2003;42(6):1206-52.
65. Sandoval R, Vásquez LR, Rodríguez de Salazar M, Torres M, Paredes R, Vásquez de Ricciardi L. Prevalencia de hipertensión arterial y dislipidemias en escolares y adolescentes en Valera Estado Trujillo. Venezuela. *Gac Med Caracas.* 2009;117(3):243-9.
66. Lima MM, Nuccio JC, Villalobos M, Torres C, Balladares N. Sistema renina angiotensina y riesgo cardio-Metabólico. Revisión. *Rev Venez Endocrinol y Metab.* 2010;8(1):3-10.
67. Kaur J. A Comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014;2014:1-21.
68. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Bruselas; 2006.
69. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol.* 2009;5(7):374-81.
70. Rosano GMC, Vitale C, Marazzi G, Volterrani M. Menopause and cardiovascular disease: the evidence. *Climacteric.* 2007;10(sup1):19-24.
71. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, De Simone L, Orlandi R, Genazzani AR. Prospective evaluation of body weight and body fat distribution in early postmenopausal women with and without hormonal replacement therapy. *Maturitas.* 2001;39(2):125-32.
72. Ferrannini E. Physiological and metabolic consequences of obesity. *Metabolism.* 1995;44(SUPPL. 3):15-7.
73. Eberhardt M V, Lee CY, Liu RH. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature.* 2000;405(6789):903-4.
74. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Documentos de consenso. Separata terapia hormonal sustitutiva. Madrid. Barcelona; 2003.
75. Hirayama T. Nutrition and cancer - a large scale cohort study. *Prog Clin Biol Res.* 1986;206:299-311.
76. Ingram D, Sanders K, Kolybaba M, Lopez D. Case-control study of phyto-oestrogens and breast cancer. *Lancet.* 1997;350(9083):990-4.
77. WHO Scientific Group on Research on the Menopause in the 1990s. WHO Technical Report Series. Geneva; 1996.
78. Marin Torres R, Pastor Villalba E, Quiles Izquierdo J, Bueno Cañigral F. Programa de atención integral a la mujer climatérica en la Comunitat Valenciana. Evaluación preliminar. *Matronas Profesión.* 2000;1(2):26-34.
79. Kasper D, Braunwald E. Transición de la menopausia y hormonoterapia posmenopáusica: introducción. En: Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, editores. *Harrison Principios de Medicina Interna.* 16.ª ed. Mc Graw Hill Interamericana; 2009. p. 11608-23.

80. Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson L. Enfermedades del ovario y del aparato reproductor femenino: introducción. En: Harrison Principios de Medicina Interna. 16.<sup>a</sup> ed. 2009. p. 11566-607.
81. Saltiki K, Alevizaki M. Coronary heart disease in postmenopausal women; the role of endogenous estrogens and their receptors. *Hormones (Athens)*. 2007;6(1):9-24.
82. Epstein FH, Mendelsohn ME, Karas RH. The Protective Effects of Estrogen on the Cardiovascular System. *N Engl J Med*. 1999;340(23):1801-11.
83. Turgeon JL, Carr MC, Maki PM, Mendelsohn ME, Wise PM. Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system and brain: Insights from basic science and clinical studies. *Endocr Rev*. 2006;27(6):575-605.
84. Mendelsohn ME. Genomic and nongenomic effects of estrogen in the vasculature. *Am J Cardiol*. 2002;90(1A):3F-6F.
85. Pfeilschifter J, Köditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev*. 2002;23(1):90-119.
86. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest*. 2006;116(3):561-70.
87. Koehler KF, Helguero LA, Haldosén L-A, Warner M, Gustafsson J-Å. Reflections on the discovery and significance of estrogen receptor  $\beta$ . *Endocr Rev*. 2005;26(3):465-78.
88. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002;346(5):340-52.
89. Venkov CD, Rankin AB, Vaughan DE. Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells. A potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation*. 1996;94(4):727-33.
90. Losordo DW, Kearney M, Kim EA, Jekanowski J, Isner JM. Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. *Circulation*. 1994;89(4):1501-10.
91. Usselman CW, Stachenfeld NS, Bender JR. The molecular actions of oestrogen in the regulation of vascular health. *Exp Physiol*. 2016;101(3):356-61.
92. Kimmins S, MacRae TH. Maturation of steroid receptors: an example of functional cooperation among molecular chaperones and their associated proteins. *Cell Stress Chaperones*. 2000;5(2):76-86.
93. Simoncini T, Genazzani AR. Non-genomic actions of sex steroid hormones. *Eur J Endocrinol*. 2003;148(3):281-92.
94. Chambliss KL, Yuhanna IS, Anderson RGW, Mendelsohn ME, Shaul PW. ER $\beta$  has nongenomic action in caveolae. *Mol Endocrinol*. 2002;16(5):938-46.
95. Kim H, Lee J, Jeong J, Bac S, Lee H, Jo I. Nongenomic stimulation of nitric oxide release by estrogen is mediated by estrogen receptor  $\alpha$  localized in caveolae. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;263(1):257-62.
96. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science (80- )*.

- 2005;307(5715):1625-30.
97. Björnström L, Sjöberg M. Signal transducers and activators of transcription as downstream targets of nongenomic estrogen receptor actions. *Mol Endocrinol*. 2002;16(10):2202-14.
  98. Matthews KA, Meilahn E, Kuller LH, Kelsey SF, Caggiula AW, Wing RR. Menopause and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1989;321(10):641-6.
  99. Mudali S, Dobs AS, Ding J, Cauley JA, Szklo M, Golden SH, et al. Endogenous postmenopausal hormones and serum lipids: The atherosclerosis risk in communities study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(2):1202-9.
  100. Campos H, Walsh BW, Judge H, Sacks FM. Effect of estrogen on very low density lipoprotein and low density lipoprotein subclass metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):3955-63.
  101. Mayes JS, Watson GH. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. *Obes Rev*. 2004;5(4):197-216.
  102. Sumino H, Ichikawa S, Kasama S, Takahashi T, Kumakura H, Takayama Y, et al. Different effects of oral conjugated estrogen and transdermal estradiol on arterial stiffness and vascular inflammatory markers in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2006;189(2):436-42.
  103. Kalaitzidis D, Gilmore TD. Transcription factor cross-talk: the estrogen receptor and NF- $\kappa$ B. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16(2):46-52.
  104. Bracamonte MP, Miller VM. Vascular effects of estrogens: arterial protection versus venous thrombotic risk. *Trends Endocrinol Metab*. 2001;12(5):204-9.
  105. Koh KK. Effects of hormone replacement therapy on coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. *Int J Hematol*. 2002;76 Suppl 2:44-6.
  106. Bińkowska M. Menopausal hormone therapy and venous thromboembolism. *Prz menopauzalny = Menopause Rev*. 2014;13(5):267-72.
  107. Lindheim SR, Buchanan TA, Duffy DM, Vijod MA, Kojima T, Stanczyk FZ, et al. Comparison of estimates of insulin sensitivity in pre- and postmenopausal women using the insulin tolerance test and the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *J Soc Gynecol Investig*. 1994;1(2):150-4.
  108. Hu G. Gender difference in all-cause and cardiovascular mortality related to hyperglycaemia and newly-diagnosed diabetes. *Diabetologia*. 2003;46(5):608-17.
  109. Chen F. TNF (tumor necrosis factor (TNF superfamily, member 2)) [Internet]. 2006. Disponible en: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/TNFaID319.html>
  110. Eck MJ, Sprang SR. The structure of tumor necrosis factor-alpha at 2.6 Å resolution. Implications for receptor binding. *JBiolChem*. 1989;264:17595-605.
  111. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes*. 2006;30(3):400-18.
  112. Xydakis AM, Case CC, Jones PH, Hoogeveen RC, Liu M-Y, O'Brian Smith E, et al. Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese

- individuals: The impact of rapid weight lose through caloric restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2697-703.
113. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance. *Science* (80- ). 1996;271(5249):665-8.
114. Krauss RM. Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27(6):1496-504.
115. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1821-30.
116. Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E, Eid G, Kuller L, Kelley DE, et al. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: Implications and effect of weight loss. *Obes Surg.* 2004;14(5):589-600.
117. Monzillo LU, Hamdy O, Horton ES, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, et al. Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obes Res.* 2003;11(9):1048-54.
118. Zulet M, Puchau B, Navarro C, Martí A, Martínez JA. Biomarcadores del estado inflamatorio: nexo de unión con la obesidad y complicaciones asociadas. *Nutr Hosp.* 2007;22(5):511-27.
119. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature.* 1986;324(6092):73-6.
120. Xu GY, Yu HA, Hong J, Stahl M, Mcdonagh T, Kay LE, et al. Solution structure of recombinant human interleukin-6. *J Mol Biol.* 1997;268:468-81.
121. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(5):911-20.
122. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation.* 2004;109(21 SUPPL.).
123. Thorand B, Baumert J, Chambless L, Meisinger C, Kolb H, Döring A, et al. Elevated markers of endothelial dysfunction predict type 2 diabetes mellitus in middle-aged men and women from the general population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(2):398-405.
124. Bruun JM, Helge JW, Richelsen B, Stallknecht B. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2006;290(5).
125. Fernandez-Real J-M, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, et al. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(3):1154-9.
126. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *J Am Med Assoc.* 2001;286(3):327-34.

127. Vozarova B, Fernández-Real J-M, Knowler WC, Gallart L, Hanson RL, Gruber JD, et al. The interleukin-6 (-174) G/C promoter polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native Americans and Caucasians. *Hum Genet.* 2003;112(4):409-13.
128. Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Møller K, Mittendorfer B, Pedersen BK. Influence of TNF- $\alpha$  and IL-6 infusions on insulin sensitivity and expression of IL-18 in humans. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2006;291(1).
129. Goyenechea E, Parra MD, Martínez Hernández JA. Implicación de la IL-6 y su polimorfismo -174G/C en el control del peso corporal y en las complicaciones metabólicas asociadas. *An Sist Sanit Navar.* 2005;28(3):357-66.
130. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: Is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis.* 2000;148(2):209-14.
131. Engström G, Stavenow L, Hedblad B, Lind P, Tydén P, Janzon L, et al. Inflammation-sensitive plasma proteins and incidence of myocardial infarction in men with low cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(12):2247-51.
132. Lei KJ, Liu T, Zon G, Soravia E, Liu TY, Goldman ND. Genomic DNA sequence for human C-reactive protein. *J Biol Chem.* 1985;260(24):13377-83.
133. Woo P, Korenberg JR, Whitehead AS. Characterization of genomic and complementary DNA sequence of human C-reactive protein, and comparison with the complementary DNA sequence of serum amyloid P component. *J Biol Chem.* 1985;260(24):13384-8.
134. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure.* 1999;7(2):169-77.
135. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, Wood AM, White IR, Gao P, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med.* 2012;367(14):1310-20.
136. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002;347(20):1557-65.
137. Doumatey AP, Lashley KS, Huang H, Zhou J, Chen G, Amoah A, et al. Relationships among obesity, inflammation, and insulin resistance in African Americans and West Africans. *Obesity.* 2010;18(3).
138. Garanty-Bogacka B, Syrenicz M, Syrenicz A, Gebala A, Walczak M. Relation of acute-phase reaction and endothelial activation to insulin resistance and adiposity in obese children and adolescents. *Neuroendocrinol Lett.* 2005;26(5):473-9.
139. Tchernof A, Nolan A, Sites CK, Ades PA, Poehlman ET. Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation.* 2002;105(5):564-9.
140. Wee CC, Mukamal KJ, Huang A, Davis RB, McCarthy EP, Mittleman MA. Obesity and C-reactive protein levels among white, black, and hispanic US adults. *Obesity.* 2008;16(4):875-80.
141. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, McGinn AP, Rajpathak S, Wylie-Rosett J, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering. *Arch Intern Med.* 2008;168(15):1617.

142. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000;342(12):836-43.
143. Dvorakova-Lorenzova A, Suchánek P, Havel PJ, Stávek P, Karasová L, Valenta Z, et al. The decrease in C-reactive protein concentration after diet and physical activity induced weight reduction is associated with changes in plasma lipids, but not interleukin-6 or adiponectin. *Metabolism.* 2006;55(3):359-65.
144. Contassot E, Beer H, French L. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13590.
145. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* abril de 2011;117(14):3720-32.
146. Risbud M V., Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc content. *Nat Rev Rheumatol.* 2013;10(1):44-56.
147. Skurk T, Kolb H, Müller-Scholze S, Röhrig K, Hauner H, Herder C, et al. The proatherogenic cytokine interleukin-18 is secreted by human adipocytes. *Eur J Endocrinol.* 2005;152(6):863-8.
148. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: Role of oxidative stress. *Circulation.* 2002;106(16):2067-72.
149. Aso Y, Okumura K-I, Takebayashi K, Wakabayashi S, Inukai T. Relationships of plasma interleukin-18 concentrations to hyperhomocysteinemia and carotid intimal-media wall thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26(9):2622-7.
150. Hung J, McQuillan BM, Chapman CML, Thompson PL, Beilby JP. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(6):1268-73.
151. Solomon A, Martínez JA. Participación del sistema nervioso y del tracto gastrointestinal en la homeostasis energética. *Rev Med Unav.* 2006;50:27-37.
152. Otero M, Nogueiras R, Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino JJ, Gualillo O. Chronic inflammation modulates ghrelin levels in humans and rats. *Rheumatology.* 2004;43(3):306-10.
153. Grinspoon S, Gulick T, Askari H, Landt M, Lee K, Anderson E, et al. Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(11):3861-3.
154. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol.* 2000;68(4):437-46.
155. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, Krebs M, et al. Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles. *News Physiol Sci.* 2002;17:56-61.
156. Kraja AT, Province MA, Arnett D, Wagenknecht L, Tang W, Hopkins PN, et al. Do inflammation and procoagulation biomarkers contribute to the metabolic syndrome cluster? *Nutr Metab (Lond).* 2007;4:28.
157. Alessi M-C, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: Links, causes, and



- consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(10):2200-7.
158. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia.* septiembre de 2012;55(9):2319-26.
159. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med.* 2007;13(3):332-9.
160. Awazawa M, Ueki K, Inabe K, Yamauchi T, Kubota N, Kaneko K, et al. Adiponectin enhances insulin sensitivity by increasing hepatic IRS-2 expression via a macrophage-derived IL-6-dependent pathway. *Cell Metab.* 2011;13(4):401-12.
161. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes.* 2001;50(4):707-9.
162. Lomenick JP, Clasey JL, Anderson JW. Meal-related changes in ghrelin, peptide YY, and appetite in normal weight and overweight children. *Obesity.* 2008;16(3):547-52.
163. Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML). Utilidad clínica y recomendaciones para la medición de la concentración de homocisteína como factor de riesgo cardiovascular. Barcelona; 2014.
164. Wierzbicki AS. Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diabetes Vasc Dis Res.* 2007;4(2):143-9.
165. Rochfort SJ, Jones R. Glucosinolate phytochemicals from broccoli (*Brassica oleracea* L. var *botrytis* L.) Seeds and their potential health effects. En: Preedy VR, Watson RR, Patel VB, editores. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. 1.<sup>a</sup> ed. Londres. Burlington. San Diego: Elsevier; 2011. p. 253-61.
166. Latté KP, Appel K-E, Lampen A. Health benefits and possible risks of broccoli - an overview. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(12):3287-309.
167. Gray AR. Taxonomy and evolution of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Econ Bot.* 1982;36(4):397-410.
168. Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente. Anuario de Estadística. Avance 2015. Madrid; 2016.
169. Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente. Material vegetal: Coliflor y brócoli [Internet]. Disponible en: <http://www.mapama.gob.es>
170. Kumar S, Andy A. Health promoting bioactive phytochemicals from brassica. *Int Food Res J.* 2012;19(1):141-52.
171. Manchali S, Chidambara Murthy KN, Patil BS. Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. *J Funct Foods.* 2012;4(1):94-106.
172. Verhoeven DT, Verhagen H, Goldbohm RA, Van Den Brandt PA, Van Poppel G. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem Biol Interact.* 1997;103(2):79-129.
173. Moreno DAA, Carvajal M, Lopez-Berenguer C, Garcia-Viguera C, López-Berenguer C, García-Viguera C. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J Pharm Biomed Anal.* 2006;41(5):1508-22.

174. Dominguez-Perles R, Martinez-Ballesta MC, Carvajal M, Garcia-Viguera C, Moreno DA. Broccoli-derived by-products - a promising source of bioactive ingredients. *J Food Sci.* 2010;75(4):C383-92.
175. Moreno DA, Pérez-Balibrea S, Ferreres F, Gil-Izquierdo Á, García-Viguera C. Acylated anthocyanins in broccoli sprouts. *Food Chem.* 2010;123(2):358-63.
176. Pérez-Balibrea S, Moreno DA, García-Viguera C. Glucosinolates in broccoli sprouts (*Brassica oleracea* var. *italica*) as conditioned by sulphate supply during germination. *J Food Sci.* 2010;75(8):C673--C677.
177. Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry.* 2001;56(1):5-51.
178. Bones AM, Rossiter JT. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry.* 2006;67(11):1053-67.
179. Fahey JW, Wehage SL, Holtzclaw WD, Kensler TW, Egner PA, Shapiro TA, et al. Protection of humans by plant glucosinolates: Efficiency of conversion of glucosinolates to isothiocyanates by the gastrointestinal microflora. *Cancer Prev Res.* 2012;5(4):603-11.
180. Ares AM, Nozal MJ, Bernal J. Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. Vol. 1313, *Journal of Chromatography A.* 2013.
181. Kushad MM, Brown AF, Kurilich AC, Juvik JA, Klein BP, Wallig MA, et al. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem.* 1999;47(4):1541-8.
182. Fimognari C, Hrelia P. Sulforaphane as a promising molecule for fighting cancer. *Mutat Res - Rev Mutat Res.* 2007;635(2-3):90-104.
183. Tang L, Zirpoli GR, Guru K, Moysich KB, Zhang Y, Ambrosone CB, et al. Intake of cruciferous vegetables modifies bladder cancer survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(7):1806-11.
184. De Nicola GR, Bagatta M, Pagnotta E, Angelino D, Gennari L, Ninfali P, et al. Comparison of bioactive phytochemical content and release of isothiocyanates in selected brassica sprouts. *Food Chem.* 2013;141(1):297-303.
185. Kensler TW, Egner PA, Agyeman AS, Visvanathan K, Groopman JD, Chen J-G, et al. Keap1-Nrf2 signaling: A target for cancer prevention by sulforaphane. *Top Curr Chem.* 2013;329:163-78.
186. Vomhof-DeKrey EE, Picklo MJ. The Nrf2-antioxidant response element pathway: A target for regulating energy metabolism. *J Nutr Biochem.* 2012;23(10):1201-6.
187. Evans PC. The influence of sulforaphane on vascular health and its relevance to nutritional approaches to prevent cardiovascular disease. *EPMA J.* 2011;2(1):9-14.
188. Turpaev KT. Keap1-Nrf2 signaling pathway: Mechanisms of regulation and role in protection of cells against toxicity caused by xenobiotics and electrophiles. *Biochem.* 2013;78(2):111-26.
189. Calabrese V, Cornelius C, Dinkova-Kostova AT, Iavicoli I, Di Paola R, Koverech A, et al.

- Cellular stress responses, hormetic phytochemicals and vitagenes in aging and longevity. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2012;1822(5):753-83.
190. Yanaka A, Fahey JW, Fukumoto A, Nakayama M, Inoue S, Zhang S, et al. Dietary sulforaphane-rich broccoli sprouts reduce colonization and attenuate gastritis in *Helicobacter pylori*-infected mice and humans. *Cancer Prev Res.* 2009;2(4):353-60.
191. Fimognari C, Lenzi M, Hrelia P. Chemoprevention of cancer by isothiocyanates and anthocyanins: Mechanisms of action and structure-activity relationship. *Curr Med Chem.* 2008;15(5):440-7.
192. Aiso I, Inoue H. b, Seiyama Y., Kuwano T. b. Compared with the intake of commercial vegetable juice, the intake of fresh fruit and komatsuna (*Brassica rapa L. var. perviridis*) juice mixture reduces serum cholesterol in middle-aged men: A randomized controlled pilot study. *Lipids Health Dis.* 2014;13(1).
193. Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Potential efficacy of broccoli sprouts as a unique supplement for management of type 2 diabetes and its complications. *J Med Food.* 2013;16(5):375-82.
194. Kim SY, Yoon S, Kwon SM, Park KS, Lee-Kim YC. Kale Juice improves coronary artery disease risk factors in hypercholesterolemic men. *Biomed Environ Sci.* 2008;21(2):91-7.
195. Murashima M, Watanabe S, Zhuo X-GX, Uehara M, Kurashige A. Phase 1 study of multiple biomarkers for metabolism and oxidative stress after one-week intake of broccoli sprouts. *BioFactors.* 2004;22(1-4):271-5.
196. Suido H, Tanaka T, Tabei T, Takeuchi A, Okita M, Kishimoto T, et al. A mixed green vegetable and fruit beverage decreased the serum level of low-density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic patients. *J Agric Food Chem.* 2002;50(11):3346-50.
197. National Cholesterol Education Program (NCEP). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) final report. *Circulation.* 2002;106(25):3143-421.
198. Cruz PMR, Mo H, McConathy WJ, Sabnis N, Lacko AG. The role of cholesterol metabolism and cholesterol transport in carcinogenesis: a review of scientific findings, relevant to future cancer therapeutics. *Front Pharmacol.* 2013;4.
199. Pisanti S, Picardi P, Ciaglia E, D'Alessandro A, Bifulco M. Novel prospects of statins as therapeutic agents in cancer. *Pharmacol Res.* 2014;88:84-98.
200. Herr I, Büchler MW. Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: Implications for prevention and therapy of cancer. *Cancer Treat Rev.* 2010;36(5):377-83.
201. Jeffery EH, Araya M. Physiological effects of broccoli consumption. *Phytochem Rev.* 2009;8(1):283-98.
202. Dominguez-Perles R, Medina S, Moreno DÁ, García-Viguera C, Ferreres F, Gil-Izquierdo Á. A new ultra-rapid UHPLC/MS/MS method for assessing glucoraphanin and sulforaphane bioavailability in human urine. *Food Chem.* 15 de enero de 2014;143(Enero 2014):132-8.
203. Registre Gironí del Cor (REGICOR). Tablas para el cálculo del riesgo coronario a 10 años.

- Adaptación de las tablas de Framingham a la población española. 2012.
204. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. JAMA. 27 de noviembre de 2013;310(20):2191.
205. Domenech J, Granero R. MACRO !NSIZE Type CO1M. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona; 2012.
206. Ministerio de Hacienda y Administraciones Públicas. Datos del Registro de Entidades Locales [Internet]. 2014. Disponible en: [ssweb.seap.minhap.es](http://ssweb.seap.minhap.es)
207. Montaner E, Montaner C, Tudela M. Murcia, una región al borde del Mediterráneo. Murcia: Editum. Ediciones de la Universidad de Murcia; 2002. 126 p.
208. Conesa García C. El campo de Cartagena: clima e hidrología de un medio semiárido. Universidad de Murcia; 1990. 450 p.
209. INE - Mercado laboral. Actividad, ocupación y paro [Internet]. 2015. Disponible en: [www.ine.es](http://www.ine.es)
210. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia. 1985;28(7):412-9.
211. Field AP. Discovering Statistics Using SPSS (and Sex, Drugs and Rock'n'roll). 3.<sup>a</sup> ed. Londres: SAGE; 2013. 779 p.
212. Martínez González MÁ, Sánchez-Villegas A, Toledo Atucha EA, Faulín Fajardo J. Bioestadística amigable. 3.<sup>a</sup>. Barcelona: Elsevier; 2014. 596 p.
213. Huck SW. Statistical Misconceptions. 1.<sup>a</sup> ed. Nueva York: Taylor & Francis Group; 2009.
214. Conzatti A, Fróes FCT da S, Schweigert Perry ID, Souza CG de. Clinical and molecular evidence of the consumption of broccoli, glucoraphanin and sulforaphane in humans. Nutr Hosp. 2014;31(2):559-69.
215. Riso P, Vendrame S, Del Bo' C, Martini D, Martinetti A, Seregni E, et al. Effect of 10-day broccoli consumption on inflammatory status of young healthy smokers. Int J Food Sci Nutr. 2014;65(1):106-11.
216. Galan M V, Kishan AA, Silverman AL. Oral broccoli sprouts for the treatment of Helicobacter pylori infection: A preliminary report. Dig Dis Sci. 2004;49(7-8):1088-90.
217. Kensler TW, Chen J-G, Egnér PA, Fahey JW, Jacobson LP, Stephenson KK, et al. Effects of glucosinolate-rich broccoli sprouts on urinary levels of aflatoxin-DNA adducts and phenanthrene tetraols in a randomized clinical trial in He Zuo Township, Qidong, People's Republic of China. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005;14(11 I):2605-13.
218. Gasper A V, Traka M, Bacon JR, Smith JA, Taylor MA, Hawkey CJ, et al. Consuming broccoli does not induce genes associated with xenobiotic metabolism and cell cycle control in human gastric mucosa. J Nutr. 2007;137(7):1718-24.
219. Hakooz N, Hamdan I. Effects of dietary broccoli on human in vivo caffeine metabolism: A pilot study on a group of Jordanian volunteers. Curr Drug Metab. 2007;8(1):9-15.
220. Traka M, Gasper A V, Melchini A, Bacon JR, Needs PW, Frost V, et al. Broccoli

- consumption interacts with GSTM1 to perturb oncogenic signalling pathways in the prostate. *PLoS One*. 2008;3(7).
221. Riso P, Martini D, Visioli F, Martinetti A, Porrini M. Effect of broccoli intake on markers related to oxidative stress and cancer risk in healthy smokers and nonsmokers. *Nutr Cancer*. 2009;61(2):232-7.
222. Riedl MA, Saxon A, Diaz-Sanchez D. Oral sulforaphane increases Phase II antioxidant enzymes in the human upper airway. *Clin Immunol*. 2009;130(3):244-51.
223. Christiansen B, Muguerza NB, Petersen AM, Kveiborg B, Madsen CR, Thomas H, et al. Ingestion of broccoli sprouts does not improve endothelial function in humans with hypertension. *PLoS One*. 2010;5(8).
224. Riso P, Martini D, Møller P, Loft S, Bonacina G, Moro M, et al. DNA damage and repair activity after broccoli intake in young healthy smokers. *Mutagenesis*. 2010;25(6):595-602.
225. Bahadoran Z, Mirmiran P, Hosseinpanah F, Hedayati M, Hosseinpour-Niazi S, Azizi F. Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2 diabetes: A randomized double-blind clinical trial. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(8):972-7.
226. Mirmiran P, Bahadoran Z, Hosseinpanah F, Keyzad A, Azizi F. Effects of broccoli sprout with high sulforaphane concentration on inflammatory markers in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *J Funct Foods*. 2012;4(4):837-41.
227. Bahadoran Z, Tohidi M, Nazeri P, Mehran M, Azizi F, Mirmiran P. Effect of broccoli sprouts on insulin resistance in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind clinical trial. *Int J Food Sci Nutr*. 2012;63(7):767-71.
228. Bahadoran Z, Mirmiran P, Hosseinpanah F, Rajab A, Asghari G, Azizi F. Broccoli sprouts powder could improve serum triglyceride and oxidized LDL/LDL-cholesterol ratio in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;96(3):348-54.
229. Kensler TW, Ng D, Carmella SG, Chen M, Jacobson LP, Muñoz A, et al. Modulation of the metabolism of airborne pollutants by glucoraphanin-rich and sulforaphane-rich broccoli sprout beverages in Qidong, China. *Carcinogenesis*. 2012;33(1):101-7.
230. Armah CN, Traka MH, Dainty JR, Defernez M, Janssens A, Leung W, et al. A diet rich in high-glucoraphanin broccoli interacts with genotype to reduce discordance in plasma metabolite profiles by modulating mitochondrial function. *Am J Clin Nutr*. 2013;98(3):712-22.



## **9. ANEXOS**





## ANEXO 1: APROBACIÓN COMITÉ DE ETICA



**D<sup>a</sup> LALY GÓMEZ SAN NICOLÁS**, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica Hospital Universitario "Santa María del Rosell" de Cartagena,

### CERTIFICA

Que este Comité evaluó y aprobó el 04/04/14, la propuesta de realización del proyecto de investigación:

TITULO DEL PROYECTO:

**Valoración del control de los factores de riesgo cardiovascular en mujeres menopausicas obesas tras el seguimiento de un programa estructurado de educación dietética y ejercicio físico. N<sup>o</sup> Reg: T.I. 14/04**

Siendo el equipo investigador:

**D./D<sup>a</sup>, Zaira García Soto, Investigador Principal** desde 04/04/14 hasta (activo en la actualidad)

**D./D<sup>a</sup>, Jose Pedregosa Díaz, Investigador Colaborador** desde 04/04/14 hasta (activo en la actualidad)

**D./D<sup>a</sup>, Yoaha Mroz Investigador, Colaborador** desde 04/04/14 hasta (activo en la actualidad)

**D./D<sup>a</sup>, Antonio Manuel Cordovilla Moreno, Investigador Colaborador** desde 04/04/14 hasta (activo en la actualidad)

Y para que conste se expide el presente certificado.

En Cartagena a 09 de mayo de 2017

Fdo: Laly Gómez Sannicolás



C/ Mezquita s/n, Paraje los Arcos  
Barrio de Santa Lucía, 30202 - Cartagena - Murcia  
Tlf 968 110752 hgusinvestigacion@gmail.com



## ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, ....., con DNI:.....

DECLARO:

---

Haber sido informado/a del estudio “Efectos del consumo de brotes de brócoli en mujeres con menopausia y sobrepeso sin otros factores de riesgo cardiovascular” y de los procedimientos que se van a llevar a cabo en la investigación. Los investigadores que van a acceder a mis datos personales y a los resultados de las pruebas son los integrantes en el proyecto.

Asimismo, he podido hacer preguntas del estudio, comprendiendo que me presto de forma voluntaria al mismo y que en cualquier momento puedo abandonarlo sin que me suponga perjuicio de ningún tipo.

CONSIENTO:

---

- 1.-) Someterme a las siguientes pruebas exploratorias: encuestas de hábitos nutricionales y de estilo de vida, medidas antropométricas, análisis de sangre y de orina.
- 2.-) El uso de los datos obtenidos según lo indicado en el párrafo siguiente:  
En cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, le comunicamos que la información que ha facilitado y la obtenida como consecuencia de las exploraciones a las que se va a someter pasará a formar parte del fichero automatizado INVESALUD, cuyo titular es la FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN ANTONIO, con la finalidad de INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN LAS ÁREAS DE CONOCIMIENTO CIENCIAS EXPERIMENTALES Y CIENCIAS DE LA SALUD. Tiene derecho a acceder a esta información y cancelarla o rectificarla, dirigiéndose al domicilio de la entidad, en Avda. de los Jerónimos de Guadalupe 30107 (Murcia). Esta entidad le garantiza la adopción de las medidas oportunas para asegurar el tratamiento confidencial de dichos datos.

En Cartagena, (Murcia) a ..... de ..... de 20

Fdo:.....



## ANEXO 3: HOJA INFORMATIVA A VOLUNTARIAS

### PROGRAMA DE INTERVENCIÓN DIETÉTICA EN VOLUNTARIAS SOBRE LAS PROPIEDADES BENEFICIOSAS DE UN CONSUMO CONTINUADO DE BROTES DE BRÓCOLI.

#### OBJETIVO DEL PROGRAMA

El objetivo del siguiente programa de intervención dietética es evaluar los efectos beneficiosos del consumo de brotes de brócoli sobre el sobrepeso y la obesidad.

Los brotes de brócoli son los tallos iniciales de la planta de brócoli, antes de que se desarrolle la verdura que conocemos como brócoli. En estos tallos se encuentra en una concentración muy elevada unos compuestos conocidos como glucosinolatos, a los que se les atribuye propiedades beneficiosas.

Algunas investigaciones en animales han demostrado que los glucosinolatos del brócoli son capaces de reducir la absorción de grasas a nivel intestinal, además de aumentar las concentraciones de “colesterol bueno” (HDL) y reducir algunos parámetros de inflamación, como las citoquinas IL-6, TNF- $\alpha$ , asociados al sobrepeso y a la obesidad. Sin embargo, los estudios en humanos son escasos.

Por ello, nuestro programa está enfocado a evaluar los efectos de la ingesta de brócoli en personas sanas con sobrepeso. Esperamos que el consumo continuado durante varias semanas de brotes de brócoli vaya acompañado de un descenso de peso corporal, una mejora en varios parámetros de la analítica en sangre (con niveles más bajos de lípidos y “colesterol malo” (LDL) y una reducción de la inflamación.

De este modo, si los resultados que obtenemos son positivos, podría recomendarse el consumo de brotes de brócoli en personas con sobrepeso y obesidad para mejorar su estado nutricional y de salud.

#### EN QUÉ CONSISTE EL PROGRAMA

##### Primera parte: consumo de brotes de brócoli

La primera parte del programa consiste en el consumo continuado de brotes de brócoli durante 5 semanas.

A cada voluntaria se le suministrará el viernes de cada semana (donde y cuando acordemos), 7 bandejas pequeñas de brotes de brócoli, una para cada día. Es decir, cada día de la semana deberá tomar una bandeja de brócoli. En cada bandeja hay unos 25-30g de brotes de brócoli, que se pueden tomar en ensalada, en tortilla, o incluso en un gazpacho/batido, mezclado con otras frutas o verduras, lo importante es tomarlos crudos (sin cocinar ni hervir). Hemos preparado un documento con sugerencias de recetas para que puedan variar la forma de comer los brotes de brócoli.

Cada semana se volverá a repartir a cada voluntaria las 7 bandejas correspondientes de la semana hasta completar las 5 semanas.

#### Segunda parte: periodo de lavado y seguimiento

La segunda parte del programa consiste en el seguimiento de las voluntarias, ya sin consumir brotes de brócoli. Primero haremos dos semanas que se llaman de lavado y luego las 5 semanas de seguimiento.

#### CALENDARIO DEL ESTUDIO

El estudio se iniciará el día 24 de abril.

La primera parte del estudio (consumo de brócoli) durará 5 semanas, hasta el 29 de mayo.

Haremos 2 semanas de descanso, del 29 de mayo al 12 de junio.

La segunda parte del programa de intervención durará otras 5 semanas, hasta el 17 de julio.

#### CONSEJOS DIETÉTICOS

Es aconsejable seguir una dieta equilibrada durante todo el estudio. A ser posible evitar tomar verduras crucíferas como brócoli, coliflor, coles de Bruselas, rúcula, rábano y seguir una dieta equilibrada y variada (ej. Dieta Mediterránea) baja en grasas.

A cada voluntaria daremos, durante el programa, unas encuestas de recordatorio de 24h, donde deben apuntar los alimentos que hayan tomado el día anterior.

#### ANÁLISIS QUE REALIZAREMOS



#### PRIMERA PARTE DEL PROGRAMA DE INTERVENCIÓN DIETÉTICA: BRÓCOLI.

**24 de abril:** previamente a ese día se les entregará un pequeño recipiente (duquesita), donde deberán recoger una muestra de orina en ayunas antes de acudir al laboratorio del Hospital Santa María del Rosell. Cada voluntaria deberá acudir en ayunas. Se les tomará muestra de sangre para hacer una analítica completa y posteriormente podrá desayunar. Se les entregará las 7 bandejas de brócoli correspondientes a la primera semana., con las instrucciones para su consumo. Debe tomarse una bandeja cada día.

**27 de abril:** quedaremos en el C.S. de Barrio Peral para medirles la presión arterial y realizarles medidas del índice de masa corporal (IMC), y perímetro abdominal.

**Siguientes semanas:** Quedaremos normalmente los viernes en el C.S. de Barrio Peral donde les repartiremos las bandejas de brotes de brócoli. Es importante tomar 1 bandeja al día, durante las 5 semanas que durará el programa de intervención.

**29 de mayo:** previamente a ese día se les entregará un pequeño recipiente (duquesita), donde deberán recoger una muestra de orina en ayunas antes de acudir al laboratorio del Hospital Santa María del Rosell. Cada voluntaria deberá acudir en ayunas. Se les tomará muestra de sangre para hacer una analítica completa y posteriormente podrá desayunar.

SEGUNDA PARTE DEL PROGRAMA: SEGUIMIENTO.

**12 de junio:** previamente a ese día se les entregará un pequeño recipiente (duquesita), donde deberán recoger una muestra de orina en ayunas antes de acudir al laboratorio del Hospital Santa María del Rosell. Este día no es necesario que vengan en ayunas pues no se les realizará extracción de sangre.

**17 de julio:** previamente a ese día se les entregará un pequeño recipiente (duquesita), donde deberán recoger una muestra de orina en ayunas antes de acudir al laboratorio del Hospital Santa María del Rosell. Cada voluntaria debe acudir en ayunas. Se les tomará muestra de sangre para hacer una analítica completa y posteriormente podrá desayunar.





## ANEXO 4: CALENDARIO DE SEGUIMIENTO

### CALENDARIO DE SEGUIMIENTO:

Instrucciones: Marque con una X los días que se ha seguido la indicación dietética de consumir una bandeja de brotes de brócoli diaria. Si un día no ha podido consumir, deje la casilla en blanco y escriba doble (XX) en la casilla del día siguiente si ha cumplido con la toma diaria como con la toma que tenía pendiente.

#### Abril 2015

Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30			

icalendario.net

#### Mayo 2015

Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31

icalendario.net

24 DE ABRIL: INICIO DEL CONSUMO DIARIO DE UNA BANDEJA DE BRÓCOLI (APROX 30g).

29 DE MAYO: FINALIZACIÓN DEL CONSUMO DE BROTES DE BRÓCOLI.

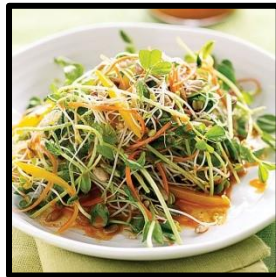


## ANEXO 5: RECETAS

### EJEMPLOS DE RECETAS CON BROTES DE BRÓCOLI 1

#### Ensaladas

Podemos mezclarlo con otros ingredientes o añadirlo como toque final a una ensalada ya hecha



#### Sándwich y bocadillos

Podemos añadir brotes de brócoli como un ingrediente más en bocadillos y sándwiches, en todas las combinaciones que se nos ocurran. Por ejemplo: Sándwich o bocadillo de:

Jamón de york + queso + brotes de brócoli

Tomate + queso + brotes de brócoli

Jamón de york + mayonesa + brotes de brócoli

Verduras a la parrilla + queso de cabra + brotes de brócoli

Pollo a la plancha + tomate + lechuga + cebolla + brotes de brócoli + queso

Pan integral + Atún + mayonesa + brotes de brócoli



Recomendamos que los quesos sean bajos en grasas.

### **Hamburguesas**

Podemos añadir brotes de brócoli como un ingrediente más en hamburguesas, como el ejemplo de la “Californian style burger”, que lleva como ingredientes brotes de brócoli, bacon, aguacate, tomate, hamburguesa y pan.



### **Platos de pasta y arroz**

En una ensalada fría de pasta los brotes pueden ser un buen ingrediente, incluso en platos de pasta caliente, o arroz, basta añadirlos como toque final.

### **En tortilla**

Se puede añadir los brotes cuando estamos cuajando la tortilla.



### **En gazpacho**

Puede ser un ingrediente más añadido en la elaboración de un gazpacho, o añadirlo al gazpacho como toque final.



### **Otros platos**

En puré de patatas con queso fundido, añadiéndolo como toque al final.

Simply as a snack, adding a little salt.  
Mix them with a soft cheese under fat and spread on bread slices.





## ANEXO 6: ENCUESTA DE SALUD

### ENCUESTA DE SALUD

Identificación:

Sexo:

Peso:

Talla:

IMC:

Perímetro de la cintura:

Talla de pantalón:

### FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Fumador            A sí

B no

C Exfumador

1.    ¿Cuántos cigarrillos fuma al día??

A	Ninguno, Nunca fumo
B	Sólo fumo de forma ocasional
C	Menos de 5 cigarrillos al día
D	Entre 5-20 cigarrillos al día
E	Más de 20 cigarrillos al día

Tiempo en años.....

2.    ¿Tiene el colesterol elevado?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

3.    ¿Tiene elevados los triglicéridos?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

4.    ¿Es diabético?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

5.    ¿Tiene hipertensión?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

Medicamentos que habitualmente consume.....  
.....

Tiempo en años:.....

6. ¿Dedica un tiempo a realizar ejercicio físico, incluyendo actividades como caminar o subir y bajar escaleras?

A	Todos los días
B	4-5 veces por semana
C	2-3 veces por semana
D	No

7. Si realiza ejercicio físico ¿Cuántas horas al día hace ejercicio físico?

A	Más de 2 horas
B	2 horas
C	1 hora y media
D	Media hora
E	Menos de media hora

8. Cuanto tiempo al día dedica a ver la televisión

A	30 minutos o menos
B	Entre 1-2 horas
C	Entre 2-3 horas
D	Más de 3 horas

9. ¿Es vegetariano?

A	No
B	Si

10. ¿Consume suplementos nutricionales o vitamínicos?

A	No
B	Si
C	Ocasionalmente

11. ¿Qué estudios ha cursado?

A	Estudios primarios
B	Bachiller
C	Estudios universitarios de grado medio
D	Estudios universitarios de grado superior



ENCUESTA DE DIETA MEDITERRÁNEA

1. ¿Consumes cereales (arroz, pasta, pan, galletas, cereales de desayuno, etc....)?

A	Más de 7 raciones al día
B	5-7 raciones al día
C	3-4 raciones al día
D	1-2 raciones al día
E	Nunca

2. ¿Cuántas piezas de frutas consume al día?

A	Más de 6 raciones al día
B	5-6 raciones al día
C	3-4 raciones al día
D	1-2 raciones al día
E	Ninguna

3. ¿Cuántas veces a la semana consume legumbres?

A	Más de 4 veces a la semana
B	3-4 veces por semana
C	1-2 veces por semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

4. ¿Cuántas veces consume verduras y hortalizas al día?

A	Más de 2 veces al día
B	2 veces al día
C	1 vez al día
D	Menos de una vez al día
E	Nunca

5. ¿Cuántas veces a la semana consume pescado?

A	Más de 4 veces a la semana
B	3-4 veces por semana
C	1-2 veces por semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

6. ¿Cuántas veces a la semana consume carne de ave?

A	Más de 4 veces a la semana
B	3-4 veces por semana
C	1-2 veces por semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

7. ¿Cuántas veces a la semana consume otro tipo de carne ?

A	Más de 4 veces a la semana
B	3-4 veces por semana
C	1-2 veces por semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

8. ¿Cuántas veces al día consume leche y derivados lácteos?

A	Más de 4 raciones al día
B	3-4 raciones al día
C	1-2 raciones al día
D	Nunca

9. ¿Qué tipo de aceite consume habitualmente?

A	Aceite de oliva
B	Aceite de semillas
C	Aceite de oliva y de semillas

10. ¿Utiliza aceite de oliva para cocinar?

A	Diariamente
B	3-5 veces a la semana
C	1-2 veces a la semana
D	Menos de 1 vez a la semana
E	Nunca

11. ¿Consume normalmente frutos secos?

A	Más de 5 veces a la semana
B	3-4 veces a la semana Menos de una vez a la semana
C	1-2 veces a la semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

12. ¿Cuántos huevos consume a la semana?

A	Más de 5 huevos a la semana
B	3-5 huevos a la semana
C	1-2 huevos a la semana
D	Menos de un huevo a la semana
E	Nunca

13. ¿Cuántas veces a la semana consume embutido?

A	Todos los días
B	3-5 veces por semana
C	1-2 veces por semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

14. ¿Consume normalmente vino tinto? (125 mL, un vasito de vino)

A	Más de 7 vasitos de vino a la semana
B	4-7 vasitos de vino a la semana
C	1-3 vasitos de vino a la semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

15. ¿Con que frecuencia consume productos de bollería industrial

A	Diariamente
B	3 o 4 veces a la semana
C	1-2 veces a la semana
D	Menos de una vez a la semana
E	Nunca

## HÁBITOS ALIMENTARIOS

1. ¿Prefiere el pescado azul o el blanco?
  - A El pescado azul
  - B El pescado blanco
  - C Ninguno
  
2. ¿Cuántas veces a la semana consume pescado azul?
  - A Más de 4 veces a la semana
  - B 3-4 veces por semana
  - C 1-2 veces por semana
  - D Menos de una vez a la semana
  - E Nunca
  
3. ¿Cuántas veces a la semana consume carne roja?
  - A Más de 4 veces a la semana
  - B 3-4 veces por semana
  - C 1-2 veces por semana
  - D Menos de una vez a la semana
  - E Nunca
  
4. ¿Consume más pescado que carne a lo largo de la semana?
  - A Si
  - B Igual
  - C No
  
5. ¿Los derivados lácteos que consume son desnatados?
  - A Nunca
  - B A veces
  - C Siempre
  - D Son semidesnatados
  
6. ¿Consume normalmente café?
  - A Nunca
  - B Ocasionalmente
  - C 1-2 veces al día
  - D 3-4 veces al día
  - E Más de 4 veces al día
  
7. ¿Consumes normalmente cerveza?
  - A Nunca
  - B Menos de una vez a la semana

- C 1-2 veces a la semana
  - D 3-4 veces a la semana
  - E Más de 4 veces al día
8. ¿Consume normalmente bebidas alcohólicas?
- A Nunca
  - B Menos de una vez a la semana
  - C 1-2 veces a la semana
  - D 3-4 veces a la semana
  - E Más de 4 veces a la semana
9. ¿Cuántas veces a la semana consume verduras de hoja verde?
- A Nunca
  - B Menos de una vez a la semana
  - C 1-2 veces por semana
  - D 3-4 veces por semana
  - E Más de 4 veces a la semana
10. ¿Cuántas veces a la semana consume tomate?
- A Nunca
  - B Menos de una vez a la semana
  - C 1-2 veces por semana
  - D 3-4 veces por semana
  - E Más de 4 veces a la semana
11. ¿Cuántas veces a la semana consume pimiento rojo?
- A Nunca
  - B Menos de una vez a la semana
  - C 1-2 veces por semana
  - D 3-4 veces por semana
  - E Más de 4 veces a la semana
12. ¿Ha realizado alguna vez alguna dieta para adelgazar?
- A No
  - B Si
13. ¿Está realizando en este momento algún tipo de dieta?
- A No
  - B Si
14. ¿Consume alimentos funcionales generalmente en su dieta?
- A No
  - B Si
  - C Sólo de forma ocasional

ANEXO 7: ENCUESTA RECUERDO 24h

ENTREVISTA  
RECUERDO DE 24H

NÚMERO

IDENTIFICACIÓN:

Nombre: .....

Apellidos: .....

Dirección: .....

Población: .....

Código postal:

Teléfono: prefijo ..... número .....

---

Día y mes en que se realiza:

Hora:

---













## ANEXO 8: TABLAS DE CÁLCULO REGICOR

### MUJERES SIN DIABETES NO FUMADORAS

PAS/PAD (mmHg)	≥160/100	3	4	5	5	7
	140-159/90-99	3	3	4	4	5
	130-139/85-89	2	3	3	3	4
	120-129/80-84	2	3	3	3	4
	<120/80	2	2	2	2	3
45-54 años	< 160	160-199	200-239	240-279	≥ 280	
Colesterol (mg/dL)						

PAS/PAD (mmHg)	≥160/100	5	6	8	8	10
	140-159/90-99	4	5	6	6	8
	130-139/85-89	3	4	5	5	6
	120-129/80-84	3	4	5	5	6
	<120/80	2	3	3	3	4
55-64 años	< 160	160-199	200-239	240-279	≥ 280	
Colesterol (mg/dL)						

\*Si C-HDL < 35 mg/dL: riesgo real  $\approx$  riesgo  $\cdot$  1,5

\*Si C-HDL  $\geq$  60 mg/dL: riesgo real  $\approx$  riesgo  $\cdot$  0,5

