



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Evaluación del efecto del tipo de grasa ingerida en el
desayuno sobre parámetros bioquímicos asociados al
riesgo cardiovascular

Autora:

Jessica Marcia Delgado Alarcón

Directora:

Dra. D^a. Juana María Morillas Ruíz

Murcia, Marzo de 2022



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Evaluación del efecto del tipo de grasa ingerida en el
desayuno sobre parámetros bioquímicos asociados al
riesgo cardiovascular

Autora:

Jessica Marcia Delgado Alarcón

Directora:

Dra. D^a. Juana María Morillas Ruíz

Murcia, Marzo de 2022



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

La Dra. D^a. Juana María Morillas Ruíz como Directora⁽¹⁾ de la Tesis Doctoral titulada “Evaluación del efecto del tipo de grasa ingerida en el desayuno sobre parámetros bioquímicos asociados al riesgo cardiovascular” realizada por D^a. Jessica Marcia Delgado Alarcón en el Programa de Doctorado de Ciencias de la Salud, **autoriza su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

LO QUE FIRMO, PARA DAR CUMPLIMIENTO AL REAL DECRETO 99/2011 DE 28 DE ENERO, EN MURCIA A 10 DE MARZO DE 2022.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'J.M. Morillas Ruíz', is centered on the page.

⁽¹⁾ Si la Tesis está dirigida por más de un Director tienen que constar y firmar ambos.

Resumen

El tipo de grasa ingerida en el desayuno puede modificar el perfil lipídico y otras variables de riesgo cardiovascular en mujeres posmenopáusicas con riesgo de enfermedad cardiovascular. También se ha sugerido que cambiar la composición de las grasas en la dieta puede modificar la producción de factores relacionados con la inflamación y con la oxidación de grasas. Estudios recientes señalan que no solo la ingesta diaria de energía y nutrientes, sino el momento del día en que se ingieren regula notablemente el metabolismo de los lípidos y el riesgo cardiovascular. Por tanto, el objetivo del estudio fue evaluar si el tipo de grasa ingerida en el desayuno puede modificar el metabolismo lipídico y otros marcadores de riesgo cardiovascular en mujeres adultas.

Se diseñó un ensayo clínico aleatorizado cruzado en el que un grupo de 56 mujeres institucionalizadas consumieron un desayuno rico en AGS (mantequilla), AGPI (margarina) o AGMI (aceite de oliva virgen) alternativamente. Los desayunos fueron separados por dos periodos de lavado. En el primer y último día de cada período de estudio, se registró el peso, la presión arterial, el perímetro de cintura y el índice de masa corporal en condiciones de ayuno y se recogió una muestra de sangre para medir el perfil de lípidos séricos. Se determinaron las lipoproteínas, apolipoproteínas y las subfracciones de lipoproteínas. También se evaluaron los marcadores inflamatorios y marcadores de estrés oxidativo.

Al comparar los tres tipos de grasa en desayuno, se observa que afectan al perfil lipídico sérico en las participantes, siendo las AGPI las únicas que incrementan el porcentaje de participantes con un perfil lipídico óptimo, que se refleja en una disminución de los valores de colesterol LDL y un aumento en la concentración de colesterol HDL. La ingesta de AGMI no puso de manifiesto estos cambios significativos estadísticamente, aunque sí se aprecia una tendencia en el mismo sentido que la grasa polinsaturada.

La influencia de los tres tipos de grasas ingeridas en los desayunos sobre el perfil de lipoproteínas, subfracciones lipoproteicas y apolipoproteínas pone de manifiesto que el desayuno rico en AGPI disminuye las concentraciones séricas de parámetros proaterogénicos (lipoproteínas LDL (específicamente la subfracción LDL-5), subfracción IDL-C, apoproteína B, Lp(a)) e incrementa la concentración de lipoproteínas HDL (y de apo AI), y en las subfracciones

lipoproteicas LDL se aprecia un aumento de las LDL₂, que son de las menos aterogénicas. El desayuno rico en AGMI no muestra efecto sobre estos parámetros. El desayuno rico en AGS muestra el efecto proaterogénico, que se expresa en una disminución de apoproteínas AI y AII, e incremento de la concentración de partículas LDL y de subfracciones muy aterogénicas (IDL-C e IDL-B).

En relación a la capacidad de los tres tipos de grasas consumidas en el desayuno para modificar parámetros relacionados con el estrés inflamatorio, ninguna de las grasas modifica los valores de proteína C reactiva. La tendencia de AGMI a aumentar las citoquinas proinflamatorias, antiinflamatorias e inmunosupresoras es sorprendente. Mientras que los desayunos ricos en AGS y AGPI muestran tendencias a disminuir las citocinas proinflamatorias, antiinflamatorias e inmunosupresoras.

Del efecto de los tres tipos de grasas administrados en el desayuno sobre biomarcadores de estrés oxidativo y riesgo cardiovascular, destaca que, los AGM a través del aceite de oliva virgen extra, provocaron una disminución de los niveles de homocisteína, antioxidante total y la concentración de LDL oxidada, que en la muestra poblacional analizada se encontraban en valores muy altos, como corresponde a este grupo con RCV.

En resumen, modificar el tipo de grasa ingerida en el desayuno es suficiente para modificar significativamente el metabolismo lipídico de las mujeres con RCV, lo que puede ser de gran relevancia para establecer nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de estos sujetos. La grasa poliinsaturada en el desayuno ha mejorado el perfil de lípidos séricos en la población de muestra analizada, lo que sugiere que el desayuno a base de AGPI puede ser aconsejable en mujeres con riesgo de ECV. Así también la ingesta de AGPI, es suficiente para promover un perfil de menor síntesis de marcadores inflamatorios y puede ser apropiado para mejorar las complicaciones cardiovasculares.

Palabras clave

Ácidos grasos, lípidos, riesgo cardiovascular

Abstract

The type of fat ingested at breakfast can modify the lipid profile and other cardiovascular risk variables in postmenopausal women at risk of cardiovascular disease. It has also been suggested that changing dietary fat composition can modify the production of inflammatory-related factors, and lipid-oxidative factors. Recent studies point out that not only the daily intake of energy and nutrients but the time of day when they are ingested notably regulates lipid metabolism and cardiovascular risk (CVR). Therefore, the aim of the study was to assess if the type of fat ingested at breakfast can modify lipid metabolism and other markers of CVR in postmenopausal women.

A crossover randomized clinical trial was designed in which a group of 56 institutionalized women consumed a breakfast rich in SFA (butter), PUFA (margarine), or MUFA (virgin olive oil) alternately. The breakfast was separated by two washout periods. On the first and last days of each study period, weight, arterial blood pressure, waist circumference, and body mass index were recorded in fasting conditions and a blood sample was collected to measure plasma lipid profile. Serum lipoprotein fractions and apolipoprotein were determined. The inflammatory and oxidative markers were evaluated.

When comparing the three types of fat at breakfast, it is observed that they affect the serum lipid profile in the participants, PUFA are the only that significantly increase the percentage of participants with optimal lipid profile, which is reflected in decrease levels of LDL cholesterol and increase levels of HDL cholesterol. MUFA intake did not reveal these statistically significant changes, although a trend in the same direction as polyunsaturated fat is observed.

The influence of the three types of fats eaten at breakfast on the profile of lipoproteins, lipoprotein subfractions and apolipoproteins show that PUFA-rich breakfast decreases the serum concentrations of proatherogenic parameters (LDL lipoproteins (specifically the LDL-5 subfraction), IDL subfraction -C, apoprotein B, Lp(a)) and increases the concentration of HDL lipoproteins (and apo AI), and in the LDL lipoprotein subfractions there is an increase in LDL₂, which are the least atherogenic. the MUFA-rich breakfast shows not effect on these parameters. The SFA-rich breakfast shows a proatherogenic effect, which is expressed in

decrease levels of apoproteins AI and AII and increase the concentration of LDL particles and highly atherogenic subfractions (IDL-C and IDL-B).

In relation to the capacity of the three types of fats eaten at breakfast to modify parameters related to inflammatory stress, no changes in C-reactive protein levels were observed with none of the fats. The tendency of MUFA to increase proinflammatory, anti-inflammatory and immunosuppressive cytokines is surprising. Whereas Breakfasts SFA-rich and PUFA-rich show tendencies to decrease proinflammatory, anti-inflammatory and immunosuppressive cytokines.

The effect of the three types of fats administered at breakfast on biomarkers of oxidative stress and cardiovascular risk, stands out that, MUFA through extra virgin olive oil, caused a decrease homocysteine levels, antioxidant total and the concentration of oxidized LDL, which in the population sample analyzed were at very high values, as corresponds to this group with CVR.

In summary, to modify the type of fat eaten at breakfast is enough to significantly modify the lipid metabolism of women with CVR, which can be of great relevance to establish new therapeutic strategies for the treatment of these subjects. The polyunsaturated fat at breakfast has improved the serum lipid profile in the analyzed sample population, suggesting that PUFA-based breakfast can be advisable in women at risk of CVD. PUFA intake, is enough to promote a less inflammatory-markers synthesis profile and may be appropriate for improving cardiovascular complications.

Key words

Fatty acids, Lipids, cardiovascular risk

AGRADECIMIENTOS

Al escribir este apartado, me doy cuenta de que este largo camino ha llegado a su fin, tantos años han pasado desde el inicio de este bonito proyecto, atrás quedaron las amanecidas para obtener las muestras, los días sin comer por ajustar técnicas, alguna que otra pérdida en la entonces nueva ciudad/hospital y muchas otras anécdotas, y por supuesto diversas circunstancias u obstáculos que me hicieron ver un incierto futuro del trabajo, dentro de algunas circunstancias de la vida, algunos maravillosos regalos en medio de este camino como la maternidad dos veces, circunstancias laborales, mudanza de País, una pandemia, entre otros y bueno obstáculos siempre hay en la vida, pero cuando la voluntad de Dios prima todo sale adelante. Por lo que hoy me da una inmensa alegría que este capítulo se cierre, para iniciar uno nuevo con muchas ganas y amor por la ciencia.

Quiero agradecer a todas y cada una de las personas que de alguna manera me brindaron el apoyo en la realización del presente estudio, ya sea de manera directa o indirecta.

A la directora de Tesis, Juana Morillas, agradecerle por la dirección a lo largo de este camino.

A las voluntarias participantes del presente estudio, por toda su disposición y colaboración, sin ellas no hubiera sido posible.

Al personal de la UCAM que participaron en la recogida de muestras y algunas actividades adicionales. Josemi gracias por los madrugones y travesías en la colecta de muestras y por compartir buenos ratos de laboratorio. A todos los que fueron parte de este proyecto y guardo un grato recuerdo siempre.

Al personal del laboratorio del HUVA, tanto del departamento de bioquímica Francisco Avilés, Soledad Parra, María José, Ignacio y Mari Carmen, así como del Hitachi, María Dolores, por su gran aporte al procesar y enseñarme los protocolos para procesar las muestras biológicas, así también por su amable colaboración cuando lo he requerido.

A los compañeros de la UCAM, Gabi, Alfonso y a todos los que compartimos ratos de laboratorio y otros, que hicieron muy agradable el trabajo.

A Juan José Hernández agradecerle por su importante aporte y a David Planes por ayudarme a retomarle cariño a las estadísticas.

A la Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM), por la gran oportunidad de formarme en éste tercer grado y cumplir así un anhelo muy deseado.

Al departamento de investigación de la UCAM, por estar siempre atentos y dispuestos a atenderme y solventarme la ayuda y orientación necesaria en todo. Gracias de corazón Estrella, Andrés, Silvia y Mariano.

A mis padres siempre estaré eternamente agradecida y en deuda por todo su esfuerzo para educarnos, por hacer de mi lo que soy y por todo su amor incondicional. A mi mamá, por su constante estímulo a terminar la tesis y a mi papá por su disposición y apoyo en todo ámbito de mi vida, también porque a través de su enfermedad y la larga superación de tan duro momento, me dio fortaleza para culminar la tesis y así pueda ofrecerle esta gran alegría. A mi big family murciana por todo su ánimo y apoyo siempre.

Finalmente, al mejor regalo que Dios me pudo dar, a mi familia, en especial a mi compañero de vida Isaac, por la comprensión, paciencia, ayuda, cariño y soporte. A mis pequeños hijos Micaela y Joaquín, por robarles un poco de tiempo para dedicarme a culminar algo que inicie, cuando aún no existían. Espero compensarlo en cuanto pueda y poder siempre estar para ellos.

“Cada vez que subas un escalón de triunfo, sube dos de
humildad” (Autor desconocido)

INDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
SIGLAS Y ABREVIATURAS	27
ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ANEXOS	33
I - INTRODUCCIÓN.....	43
1.1 Dieta y salud cardiovascular	43
1.1.1 Modificaciones metabólicas que implican los componentes de la dieta..	44
1.1.2 Importancia del desayuno	48
1.2. Relación entre los lípidos de la dieta y la salud.....	50
1.2.1 Metabolismo lipídico	53
1.2.2 Tipos de lípidos	55
1.2.3 Inferencia en el estado de salud	57
1.2.4 Inferencia en enfermedad	59
1.3 Síndrome metabólico.....	60
1.4 Riesgo cardiovascular	65
1.4.1 Obesidad y riesgo cardiovascular	69
1.4.2 Diabetes y riesgo cardiovascular.....	71
1.4.3 Hipertensión y riesgo cardiovascular.....	74
1.4.4 Menopausia y riesgo cardiovascular	76
1.5 Estrés oxidativo.....	79
1.5.1 Estrés oxidativo y patologías asociadas a ECV	82
1.5.2 Daño oxidativo a biomoléculas	84
1.5.2.1 Daño a los lípidos	85
1.5.2.2 Daño a las proteínas	87
1.5.2.3 Daño al ADN.....	90
1.5.2.4 Daño al ARN	91

1.6	Biomarcadores	92
1.6.1	Biomarcadores de riesgo cardiovascular	93
1.6.1.1	Biomarcadores basados en lípidos	94
1.6.1.1.1	Lipoproteínas	95
1.6.1.1.2	Subfracciones lipoproteicas.....	99
1.6.1.1.3	Apolipoproteínas	104
1.6.1.2	Biomarcadores basados en inflamación	108
1.6.1.3	Biomarcadores de estrés oxidativo.....	115
II	- JUSTIFICACIÓN	127
III	- OBJETIVOS	131
3.1.	Objetivo general	131
3.2.	Objetivo específico	131
IV	- MATERIAL Y MÉTODO	135
4.1	Población de estudio	135
4.1.1	Criterios de inclusión.....	135
4.1.2	Criterios de exclusión	135
4.2	Diseño del estudio	136
4.2.1	Identificación y protección de datos de las voluntarias.....	138
4.3	Materiales y métodos	139
4.3.1	Tipos de desayunos.....	139
4.3.2	Extracciones sanguíneas.....	140
4.3.3	Valoración nutricional	142
4.3.3.1	Análisis informático de la valoración nutricional de las dietas	143
4.3.4	Parámetros antropométricos y Tensión arterial.....	143
4.3.4.1	Talla	148
4.3.4.2	Peso.....	148
4.3.4.3	Perímetro de cintura.....	149
4.3.4.4	Cálculo de IMC	149
4.3.4.5	Tensión arterial	150
4.3.5	Parámetros bioquímicos.....	150
4.3.5.1	Análisis de homocisteína.....	153
4.3.5.2	Análisis del estado antioxidante total (TAS).....	154
4.3.5.3	Análisis de Lipoproteínas: Quilomicrones, Beta, PreBeta y Alfa.....	155

4.3.5.4	Análisis de Apolipoproteína A-I, A-II, B y E.....	158
4.3.5.5	Análisis de Lp(a) por Nefelometría.....	159
4.3.5.6	Análisis de subfracciones de Lipoproteínas.....	161
4.3.5.7	Análisis de Citoquinas.....	166
4.3.5.8	Análisis de LDL oxidadas.....	168
4.4	Análisis estadístico.....	170
V	– RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	175
5.1.	ANALISIS DESCRIPTIVO EN CONDICIONES BASALES.....	175
5.1.1	Composición de alimentos de los cuatro tipos desayuno.....	175
5.1.2	Composición nutricional de los desayunos: D1, D2, D3, D Lavado.....	176
5.1.3	Composición de ácidos grasos de los lípidos de las intervenciones.....	177
5.1.4	Análisis descriptivo de la población.....	178
5.1.5	Perfil lipídico sérico de la muestra poblacional en condiciones basales.....	180
5.1.6	Perfil lipídico óptimo.....	183
5.1.7	Parámetros bioquímicos asociados a riesgo cardiovascular en condiciones basales.....	184
5.1.8	Concentraciones séricas basales de parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado.....	186
5.1.9	Concentraciones séricas basales de glucosa y electrolitos en la muestra poblacional.....	187
5.1.10	Resultados de la valoración nutricional de la ingesta.....	188
5.1.10.1	Macronutrientes.....	189
5.1.10.2	Micronutrientes.....	192
5.2.	ANALISIS INFERENCIAL.....	193
5.2.1	Efecto en el perfil lipídico sanguíneo de los tres tipos de desayuno evaluados.....	194
5.2.1.1	Parámetros convencionales de perfil lipídico.....	194
5.2.1.2	Perfil lipídico óptimo.....	199
5.2.1.3	Lipoproteínas.....	200
5.2.1.4	Apolipoproteínas.....	204
5.2.1.5	Subfracciones lipoproteicas.....	207
5.2.2	Efecto en los parámetros bioquímicos asociados al riesgo cardiovascular de los tres tipos de desayunos.....	212
5.2.2.1	Homocisteína.....	214

5.2.2.2	Antioxidantes totales.....	216
5.2.2.3	LDL oxidadas.....	218
5.2.2.4	Proteína C reactiva	221
5.2.2.5	Citoquinas.....	223
5.2.3	Efecto en los parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado de los tres tipos de desayunos	231
5.2.4	Efecto en la glucemia y niveles sanguíneos de electrolitos de los tres tipos de desayunos.....	235
5.2.5	Análisis de regresión lineal múltiple sobre variable dependiente	239
5.2.5.1	Análisis de regresión lineal múltiple sobre glucemia.....	242
5.2.5.2	Análisis de regresión lineal múltiple sobre la uremia	244
5.2.5.3	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de lipoproteínas HDL.....	245
5.2.5.4	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de Quilomicrones.....	246
5.2.5.5	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica IDL-C	247
5.2.5.6	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-1	249
5.2.5.7	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-2	250
5.2.5.8	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-3	251
5.2.5.9	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-4	252
5.2.5.10	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de LDL-oxidadas.....	253
5.2.5.11	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de citoquina IFNG.....	254
5.2.5.12	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de citoquina IL1A.....	255
5.2.5.13	Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de citoquina EGF	256
VI - CONCLUSIONES		261

ÍNDICE GENERAL	23
----------------	----

VII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	267
--	-----

VIII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	271
--	-----

SIGLAS Y ABREVIATURAS

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AACR	Aminoácidos de cadena ramificada
ADN y ARN	Ácidos nucleicos
ADNmt	ADN mitocondrial
AG	Ácidos grasos
AGI	Grasas insaturadas
AGL	Ácidos grasos libres
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
AGT	Ácidos grasos <i>trans</i>
AG	Aciduria glutárica Tipo 1
AIV	Acidemia isovalérica
AMM	Acidemia metilmalónica
AP	Acidemia propiónica
Apo A-I	Apoproteína A-I
Apo B	Apolipoproteína B
ARNm	ARN mensajero
ARNr	ARN ribosómicos
ARNt	ARN transferencia
ATP	Adenosín trifosfato
AVAD	Años de vida ajustados por discapacidad
Ca ²⁺ (SERCA)	Retículo sarcoplásmico
CAT	Catalasa
CEL-LDL	Carboxietil lisina
Cl-Tyr	3-Clorotirosina
CML-LDL	Carboximetil lisina
COX	Ciclooxigenasas
CT	Colesterol total
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
Di-Tyr	o,o'-Ditirosina

DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes tipo 1
DM2	Diabetes tipo 2
EAC	Enfermedad de las arterias coronarias
EC	Enfermedad coronaria
ECV	Enfermedad cardiovascular
ECVA	Enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas
EGIR	European Group for Study of Insulin Resistente
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
ERO	Especies reactivas de oxígeno
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
FA	Fibrilación auricular
GBD	Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors
GLC	Cromatografía de gas líquido
GPx	Glutación peroxidasa
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación disulfuro
GSSG	Glutación oxidado
H ₂ O	Agua
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HAP	Contaminación del aire doméstico
HCU	Homocistinuria
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HDL-c	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
HNE	4-Hidroxi-2-nonenal
HO ₁	Hemo-oxigenasa
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HTA	Hipertensión arterial
IC	Isquemia coronaria
IDF	International Diabetes Federation
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia
IFN	Interferón
IL	Interleucina
ILCs	Células linfoides innatas

IMC	Índice de masa corporal
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
IsoPs	Isoproctanos
LA	ácido linolénico
LCAT	Lecitina-colesterol aciltransferasa
LC-FAOD	Trastornos de oxidación de ácidos grasos de cadena larga
LCT	Triglicéridos de cadena larga
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LDL-c	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad
LDN	Lipogénesis de novo
LOO	Radical lipoperoxilo
LOOH	Lípido hidroperóxido
LOX	Lipoxigenasas
Lp (a)	Lipoproteína Lp (a)
LPL	lipoproteína lipasa
LPS	Lipopolisacárido
MCO	Oxidación catalizada por metales
MDA	Malondialdehído
MnSOD y Cu/ZnSOD	Enzimas antioxidantes como superóxido dismutasas
MPO	Mieloperoxidasa
MSUD	Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce
NCEP	National Cholesterol Education Program
NDA	Neuropatía diabética autonómica
NF- κ B	Factor de transcripción nuclear
NK	Células asesinas naturales
NOS	Óxido nítrico sintasa
NO ₂	Dióxido de nitrógeno
NO ₂ -Tyr	3-Nitrotirosina;
O ₂	Oxígeno singlete
O ₂ -•	Anión superóxido
OH	Hidroxilo
ONOO-	Perooxynitrite
LDL-ox	LDL oxidadas
PA	Presión arterial

PCR	Proteína C reactiva
PKU	Fenilcetonuria
RCV	Riesgo cardiovascular
RI	Resistencia a la insulina
R-SH	Tioles
R-SS-R	Disulfuros
SERCA2a	Retículo sarcoplasmático
SH	Grupos sulfhidrilo
SM	Síndrome metabólico
SOD	Superóxido dismutasa
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicéridos
TNF	Factor de necrosis tumoral
TYR	Tirosinemia
UCD	Trastorno del ciclo de la urea
VET	Valor energético total
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
WHO	World Health Organization
Yap1	Yeast activator protein
3-NO ₂ -Tyr	Nitrotirosina libre
4-HNE	4-hidroxinonenal
8-iso-PGF ₂ α	8-epi-prostaglandina F ₂ α u 8-isoprostano
8-OH-dG	8-hidroxi-2'-desoxiguanosina u 8-oxoguanina

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS, DE TABLAS Y DE ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de muertes semanales del 2020 y la media de defunciones semanales del 2017 43

Figura 2. Metabolismo de las lipoproteínas LDL y la influencia de los lípidos de la dieta sobre las síntesis de triglicéridos, la unión de lipoproteínas a receptores específicos y la formación de LDL modificadas (AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; AGS: ácidos grasos saturados)..... 54

Figura 3. Metabolismo de las lipoproteínas HDL..... 54

Figura 4. Carga mundial de enfermedades cardiovasculares y factores de riesgo, 1990-2019 65

Figura 5. Proporción de Muertes por causa de ECV (2019) 67

Figura 6. Muerte por ECV y por factores de riesgo de ECV del año 2019 67

Figura 7. Reacción en cadena de la peroxidación lipídica..... 86

Figura 8. Relación entre la generación de especies reactivas de oxígeno y la oxidación y degradación de proteínas 89

Figura 9. Distribución de densidad y tamaño de las principales clases de partículas de lipoproteínas. VLDL, lipoproteína de muy baja densidad; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LDL, lipoproteína de baja densidad; HDL, lipoproteína de alta densidad..... 96

Figura 10. Representación esquemática de varias células que expresan diferentes citoquinas. Interleucina (IL), Células asesinas naturales (NK), Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) 110

Figura 11. Diseño del estudio aleatorizado y cruzado. [n: número de voluntarias, D1: desayuno tipo 1, D2: desayuno tipo 2, D3: desayuno tipo 3. D1/D2/D3, D1/D3/D2, D2/D1/D3, D2/D3/D1, D3/D1/D2 Y D3/D2/D1: Ordenes de administración de cada tipo de desayuno 138

Figura 12. Extracción sanguínea (región antecubital) 141

Figura 13. Ingreso de codificación al sistema informatizado 142

Figura 14. Impedanciómetro-Báscula, marca Tanita (BF-350) 146

Figura 15. Cinta de acero (marca Lufkin Executive) 146

Figura 16. Preparación de muestras de suero	152
Figura 17. Autoanalizador HUVA Hitachi.....	153
Figura 18. Medición de homocisteína en las muestras	154
Figura 19. Puesta en marcha del análisis de apolipoproteínas.....	159
Figura 20. Distribución de las subfracciones lipoprotéicas (manual Quantimetrix)	161
Figura 21. Lectura del perfil lipoprotéico	164
Figura 22. Distribución de cinco muestras de subfracciones lipoproteicas	166
Figura 23. Carrier luego de adicionar el diluyente de ensayo revela la concentración de citoquinas en cada muestra, acorde a la concentración de azul167	
Figura 24. Carrier luego de adicionar el conjugado y cromógeno, donde se observa la mayor concentración de citoquinas en los pocillos más amarillos	168
Figura 25. Resultados listos para lectura, tras adicionar la solución en cada pocillo	170
Figura 26. Variación del perfil lipídico sanguíneo pre-post en los 3 tipos de desayuno	197
Figura 27. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de lipoproteínas entre los tres tipos de desayunos	202
Figura 28. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de apolipoproteínas entre los tres tipos de desayunos.....	206
Figura 29. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de subfracciones lipoproteicas entre los tres tipos de desayunos.....	209
Figura 30. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de homocisteína entre los tres tipos de desayunos	215
Figura 31. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de estado antioxidante total (TAS) entre los tres tipos de desayunos.....	217
Figura 32. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de LDL oxidadas entre los tres tipos de desayunos.....	219
Figura 33. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de proteína C reactiva (PCR) entre los tres tipos de desayunos.....	222
Figura 34. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de citoquinas proinflamatorias entre los tres tipos de desayunos	226
Figura 35. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de citoquinas antiinflamatorias entre los tres tipos de desayunos	227

Figura 36. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de citoquinas inmunosupresoras entre los tres tipos de desayunos.....	228
Figura 37. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo nitrogenado entre los tres tipos de desayunos	233
Figura 38. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de glucosa y electrolitos entre los tres tipos de desayunos.....	238

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diagnóstico del síndrome metabólico según la OMS y EGIR.....	61
Tabla 2. Diagnóstico del síndrome metabólico según NCEP /ATPIII e IDF	62
Tabla 3. Perímetro abdominal según distintos grupos étnicos (97)	64
Tabla 4. Enfermedades cardiovasculares y diversas patologías asociadas.....	66
Tabla 5. Características de las especies reactivas de oxígeno	81
Tabla 6. Características principales de las lipoproteínas (219)	97
Tabla 7. Subdivisión de las subfracciones de las HDL (244).....	103
Tabla 8. Características de las principales apolipoproteínas (250).....	106
Tabla 9. Condiciones asociadas con niveles elevados de PCR (301).....	114
Tabla 10. Características de un biomarcador de estrés oxidativo (adaptado de 304).	115
Tabla 11. Enfermedades cardiovasculares y patologías asociadas a ECV relacionadas con biomarcadores de estrés oxidativo (adaptado de (306)).....	116
Tabla 12. Criterios SEEDO para definir la obesidad en grados según el índice de masa corporal IMC.....	150
Tabla 13. Valores RF asignados a cada subfracción de lipoproteínas.....	162
Tabla 14. Composición de alimentos de los desayunos.....	176
Tabla 15. Composición nutricional de los desayunos: D1, D2, D3, lavado.....	177
Tabla 16. Composición lipídica de los alimentos del desayuno que aportan los diferentes tipos de grasa.....	178
Tabla 17. Características descriptivas de la muestra poblacional	179
Tabla 18. Perfil lipídico plasmático de la muestra poblacional en condiciones basales.....	180
Tabla 19. Concentraciones séricas de Lipoproteínas de la muestra poblacional en condiciones basales	181
Tabla 20. Concentraciones séricas de apolipoproteínas de la muestra poblacional en condiciones basales	182
Tabla 21. Concentraciones séricas de subfracciones lipoproteicas de la muestra poblacional en condiciones basales	183
Tabla 22. Descripción basal del porcentaje de participantes que muestran un perfil lipídico óptimo	183

Tabla 23. Parámetros bioquímicos séricos asociados a riesgo cardiovascular en condiciones basales del estudio	184
Tabla 24. Niveles basales de concentraciones séricas de citoquinas en la muestra poblacional	185
Tabla 25. Parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado en condiciones basales del estudio	187
Tabla 26. Glucemia y niveles sanguíneos de electrolitos en condiciones basales del estudio	188
Tabla 27. Datos descriptivos de los parámetros nutricionales: macronutrientes y fibra, en la dieta de la muestra poblacional, en situación pre-intervención nutricional	190
Tabla 28. Composición de ácidos grasos de la dieta diaria en la muestra poblacional durante el periodo pre-intervención nutricional.....	191
Tabla 29. Cantidades diarias ingeridas de minerales en la dieta basal de la muestra poblacional.....	192
Tabla 30. Cantidades diarias ingeridas de vitaminas en la dieta basal de la muestra poblacional.....	193
Tabla 31. Comparación de los valores basales y finales del perfil lipídico dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	195
Tabla 32. Variación del porcentaje de participantes con Perfil lipídico óptimo en cada tipo de desayuno	199
Tabla 33. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de lipoproteínas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia.....	201
Tabla 34. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de apolipoproteínas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	205
Tabla 35. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de las subfracciones lipoproteicas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	208
Tabla 36. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de parámetros bioquímicos relacionados con riesgo cardiovascular dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	213

Tabla 37. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de citoquinas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	225
Tabla 38. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo nitrogenado dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	232
Tabla 39. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de glucosa y electrolitos dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia	236
Tabla 40. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: Glucemia	242
Tabla 41. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: Niveles séricos de Urea.....	244
Tabla 42. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de HDL	246
Tabla 43. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de quilomicrones	247
Tabla 44. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de IDL- C	248
Tabla 45. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de IDL- C	249
Tabla 46. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-2	250
Tabla 47. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-3	251
Tabla 48. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-4	252
Tabla 49. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de LDL oxidada	253
Tabla 50. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de citoquina IFNG.....	254
Tabla 51. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de citoquina IL1A	255
Tabla 52. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de citoquina EGF	257

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado.....	315
Anexo 2. Compromiso de participación en el proyecto de investigación.....	316
Anexo 3. Comité de ética.....	317
Anexo 4. Encuesta de datos personales y hábitos.....	318
Anexo 5. Encuesta 24h.....	319

I - INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN

1.1 DIETA Y SALUD CARDIOVASCULAR

La dieta juega un papel crítico para conseguir y mantener un buen estado de salud, por lo que los alimentos están directamente involucrados en muchos de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) y en esto resulta ya obvio que la calidad de los lípidos de la dieta es un elemento crucial.

Además de situaciones específicas como la actual pandemia de covid-19 (Figura 1), las ECV continúan siendo la principal causa de mortalidad en todo el mundo (1) convirtiéndose por ello en una prioridad en la salud pública, ya que representa casi el 30% de todas las muertes en todo el mundo, a pesar de la disminución constante durante los últimos 10 años (2). Una de cada tres muertes en los Estados Unidos y una de cada cuatro muertes en Europa son causadas por ECV (3). Numerosa evidencia científica epidemiológica / cohorte prospectiva (limitada de intervención) muestra la efectividad de los patrones dietéticos como la dieta mediterránea y estilos de vida saludables para la prevención de las enfermedades crónicas, particularmente las ECV (4).

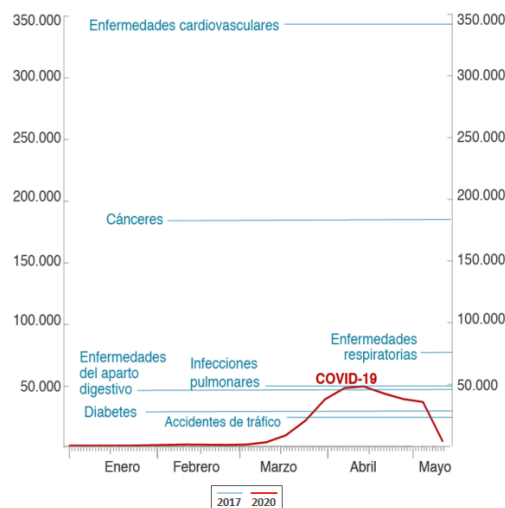


Figura 1. Comparación de muertes semanales 2020 y la media de defunciones semanales del 2017 (5).

La intervención dietética permite una combinación de múltiples alimentos y nutrientes, de tal manera que, se puede afirmar que la nutrición podría ser el factor más preventivo de muerte por ECV, al ejercer un papel en el control de otros factores de riesgo como el sobrepeso, hipertensión, diabetes o dislipemia (6). Por lo tanto, un patrón dietético saludable muestra una mayor magnitud de efectos beneficiosos frente a las ECV y efectos potenciales que un solo suplemento de nutrientes. Por otro lado, la probabilidad de desarrollar ECV está asociada con patrones dietéticos poco saludables (ingesta excesiva de sodio y alimentos procesados; azúcares agregados; grasas no saludables; baja ingesta de frutas y verduras, granos enteros, fibra, legumbres, pescado y nueces), junto con falta de ejercicio, sobrepeso y obesidad, estrés, consumo de alcohol o tabaquismo (7).

Las intervenciones dietéticas realizadas hasta ahora han demostrado que la adopción de una dieta saludable (tipo mediterráneo o DASH) reduce varios factores de riesgo cardiovascular (RCV) en sujetos en riesgo (prevención primaria) y / o eventos cardiovasculares o mortalidad en pacientes después de un primer evento cardíaco (prevención secundaria) (8).

1. 1. 1 Modificaciones metabólicas que implican los componentes de la dieta

Los factores dietéticos juegan un papel en los procesos biológicos normales y están involucrados en la regulación de la progresión patológica a lo largo de la vida. Está bien establecido que la dieta, o más específicamente la composición de ácidos grasos de la dieta, es uno de los principales factores implicados en la regulación del perfil lipídico plasmático/sérico (9). La relación entre la dieta y los marcadores de lípidos en sangre son complejos; por ejemplo, muchos componentes dietéticos diferentes pueden afectar a los niveles de colesterol (proteínas, carbohidratos, esteroides vegetales, etc.). Pero el componente más controvertido es la grasa dietética, tanto en cantidad como en composición de ácidos grasos (10, 11).

Si la dieta, por ende, los alimentos están directamente envueltos en muchos de los factores de riesgo cardiovascular, es importante conocer las modificaciones metabólicas que implican dichos componentes.

Los hidratos de carbono al ser la principal fuente energética de la dieta en la mayoría de los individuos, desempeñan una amplia variedad de funciones en el

organismo. Cuando el organismo cataboliza los carbohidratos, éstos se transforman en glucosa que es transportada por el torrente sanguíneo hasta llegar a los tejidos, como músculo esquelético y cardíaco, tejido adiposo y otros; cuyo transporte al interior de la célula para generar energía (a través de la glicólisis y ciclo de Krebs) es facilitado por la hormona insulina. La insulina es secretada por la glándula pancreática para controlar los niveles de glucosa en sangre. Así, un exceso de glucosa se transforma en glucógeno que es almacenado en el hígado o en forma de grasa en el cuerpo, pero si el defecto genético afecta a uno de estos procesos de conversión de glucosa, se acumulan productos intermediarios (algunos tóxicos para el organismo), además implica la posible pérdida de energía para el cuerpo, siendo un hecho relevante y grave cuando es el hidrato de carbono endógeno (glucógeno) el que puede liberar la glucosa (12). En los últimos años han surgido nuevas teorías que contradicen el hecho de que las dietas adecuadas en carbohidratos con 55-60% del valor energético total (VET), son óptimas para la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas (13), discrepando de las recomendaciones de la OMS y FAO que sugieren la ingesta diaria de 55-65% de carbohidratos (14).

Por otro lado, la vía metabólica de lipogénesis *de novo* (LDN) ha sido investigada y últimamente ha sido muy referida, ya que convierte el exceso de carbohidratos en ácidos grasos que luego se esterifican para almacenar triacilglicérols (TG), pero no contribuye en gran medida al balance total de grasas (15), por lo que la mayoría de los datos experimentales en humanos, sin embargo, contradicen esta visión de la función de la lipogénesis *de novo* (16).

La ingesta alterada de carbohidratos altera la producción de glucosa hepática específicamente y de una manera dependiente de la dosis. La producción de glucosa hepática puede mediar los efectos de los carbohidratos en la selección de combustible de todo el cuerpo, al proporcionar un sustrato y al alterar las concentraciones séricas de insulina. Ello altera la lipólisis y la eficiencia de la oxidación tisular, contribuyendo a los cambios en la oxidación de las grasas. De este modo, el exceso de carbohidratos no se convierte sustancialmente en grasa por parte del hígado, ya que evita la oxidación de las grasas, y en estas circunstancias, la lipogénesis fraccional *de novo* puede ser un marcador cualitativo de la ingesta reciente de carbohidratos (15). Finalmente, la evidencia científica indica que la desregulación del LDN en los principales tejidos lipogénicos del

cuerpo humano se observa a menudo en diversas anomalías metabólicas, incluida la obesidad, la enfermedad del hígado graso y el síndrome metabólico, además, se agrava en tejidos cancerosos, células infectadas por virus, por lo que la orientación terapéutica de esta vía o inhibición, puede abrir una nueva ventana de oportunidad para combatir diversas afecciones patológicas provocadas por la lipogénesis (17).

Las proteínas ingeridas en la dieta son divididas hasta sus aminoácidos constituyentes por medio de las enzimas digestivas y el ácido clorhídrico del tracto gastrointestinal. Posteriormente, estos aminoácidos, son convertidos en α -cetoácidos los cuales pueden ser reciclados en el organismo para la producción de energía, glucosa o grasas o para la resíntesis de aminoácidos. Esta degradación de aminoácidos a α -cetoácidos se lleva a cabo en el hígado, por medio de un proceso conocido como transaminación (18). Por otro lado, existen trastornos diferentes del metabolismo de proteínas o trastornos del metabolismo de los aminoácidos, entre los principales se incluyen la fenilcetonuria (PKU), debido a la ausencia de una enzima, el organismo no puede procesar correctamente uno de los aminoácidos, la fenilalanina (19), la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD), debido a la ausencia de una enzima, el cuerpo no puede procesar correctamente tres aminoácidos —leucina, isoleucina y valina— denominados conjuntamente aminoácidos de cadena ramificada (AACR) (20); la homocistinuria (HCU), el cuerpo no puede procesar correctamente uno de los aminoácidos, la metionina, además se han realizado diversos estudios que han mostrado una asociación entre la HCU y el riesgo cardiovascular, siendo un factor importante de las enfermedades cardiovasculares (21); así también, se incluye la tirosinemia (TYR), Acidemia metilmalónica y acidemia propiónica (AMM/AP), Aciduria glutárica Tipo 1 (AG), acidemia isovalérica (AIV) y trastorno del ciclo de la urea (UCD), siendo el factor común entre todas estas patologías, la baja funcionalidad o una ausencia total de la enzima responsable del metabolismo de uno o más aminoácidos.

De los lípidos exógenos (de la dieta), el 95% son triglicéridos y el 5% restante son fosfolípidos, ácidos grasos libres, colesterol, (esterificado) y vitaminas liposolubles. Los triglicéridos y el colesterol son los lípidos más comprometidos por enfermedades, aunque todos los lípidos son fisiológicamente importantes. Los defectos en la vía de síntesis, procesamiento y eliminación de lipoproteínas

pueden promover la acumulación de lípidos aterógenos en el plasma y el endotelio. Existen muchos trastornos diferentes que afectan al metabolismo de grasas. Entre ellos, se incluyen los trastornos de oxidación de ácidos grasos de cadena larga (LC-FAOD). La grasa alimentaria es fuente de energía. La mayor parte de la grasa alimentaria habitual en las dietas occidentales son triglicéridos de cadena larga (LCT). Las personas con LC-FAOD no pueden liberar la energía procedente de los LCT y en estas circunstancias los LCT conducen a la liberación de toxinas (22).

Existe evidencia epidemiológica, clínica y experimental sustancial de que las fibras dietéticas (paredes celulares de las plantas) y sus componentes individuales, pueden tener un papel en la modificación de ciertos factores de riesgo en la enfermedad coronaria (23). Por otro lado, también se conoce que, en la enfermedad neoplásica, el metabolismo de los hidratos de carbono, el metabolismo lipídico y el metabolismo proteico sufren alteraciones metabólicas, presentando anomalías o anormalidades específicas (24).

A lo largo del tiempo ha surgido evidencia que indica que las modificaciones epigenéticas dependientes del factor dietético pueden afectar significativamente la estabilidad del genoma y la expresión de ARN mensajero (ARNm) y proteínas, que están involucradas en la disfunción metabólica, así como las interacciones entre el metabolismo de las células cancerosas (25). Además, algunos marcadores de riesgo epigenético pueden ser iniciados o revertidos por la dieta y los factores ambientales. Por tanto, la ingesta de componentes dietéticos que regulan las modificaciones epigenéticas puede proporcionar efectos significativos para la salud y puede prevenir diversos procesos patológicos en el desarrollo de enfermedades metabólicas (26).

Por otro lado, hallazgos recientes muestran que no solo es importante la cantidad total de grasa, sino también la hora del día cuando se ingieren (27). En esta línea, varios informes anteriores han mostrado la importancia de ajustar la dieta a los ritmos biológicos del sujeto. De hecho, se han descrito errores comunes que pueden alterar el equilibrio de la dieta a pesar de la ingesta adecuada de nutrientes, por ejemplo, comer demasiado tarde, y más concretamente después de las 15 horas, reduce la eficacia de un tratamiento dietético hipocalórico y aumenta el riesgo de desarrollo de la obesidad (28).

1. 1. 2 Importancia del desayuno

El desayuno a menudo se indica que es la comida más importante del día (29, 30), como su nombre indica, el desayuno rompe el ayuno nocturno y provee el suministro de glucosa para aumentar los niveles de energía. Además, ejerce diversos efectos en el organismo porque ayuda a reorganizar los efectos metabólicos sufridos durante la noche y aporta nutrientes esenciales que el organismo requiere para iniciar la jornada. Sus contribuciones a diversas facetas de la salud y el bienestar son controvertidas, por lo que a menudo es la comida que más se subestima e incluso se omite. Aunque en la actualidad hay suficiente apoyo científico, que demuestra los beneficios para la salud reportados por el consumo regular de desayuno, incluyendo un mejor perfil nutricional (31), índice de masa corporal reducido (32), mejores funciones cognitivas (33), menor incidencia de enfermedades crónicas degenerativas como diabetes tipo 2 (DM2) y enfermedades cardiovasculares (ECV) (34), así como un estilo de vida más saludable, opciones de alimentos más saludables y patrones regulares de alimentación y ejercicio (31).

El desayuno es una comida que a menudo contribuye de manera significativa al consumo diario de fibra dietética. Varios tipos de fibra dietética pueden conferir beneficios para la salud a través de los efectos sobre la fermentación colónica, mediante el desplazamiento de los carbohidratos rápidamente disponibles y al disminuir la absorción intestinal de carbohidratos. Por lo tanto, se considera que un mayor consumo de fibras de cereales y cereales integrales se ha asociado con un riesgo reducido de desarrollar DM2 (35).

La proteína en el desayuno puede inducir efectos metabólicos beneficiosos, se ha demostrado que al sustituir parcialmente los carbohidratos rápidamente disponibles del desayuno por proteína aumenta la saciedad y la termogénesis inducida por la dieta, y también afecta favorablemente los lípidos de las lipoproteínas y la presión arterial. La sustitución parcial de carbohidratos por ácidos grasos insaturados se ha asociado con una mejor sensibilidad a la insulina, lípidos de lipoproteínas y presión arterial (35).

Así también, se sabe que el tipo de alimento ingerido en el desayuno influye en el índice de masa corporal (IMC) (36). Respecto a esto, en un estudio con sujetos sanos, la ingestión de un desayuno rico en grasas aumentó

significativamente los niveles plasmáticos de triglicéridos e IMC, en comparación con un desayuno enriquecido con carbohidratos (37). Por otro lado, en un estudio cruzado, se demostró que el consumo de desayuno que contenía carbohidratos simples resultó en niveles más altos de glucosa e insulina después de 30 minutos de consumo de desayuno, así como los niveles de triglicéridos y ácidos grasos libres respecto a un desayuno que contenía carbohidratos complejos (38).

La mayoría de los ensayos controlados aleatorios disponibles han demostrado un efecto favorable sobre la respuesta de la glucosa posprandial con desayunos que contienen más grasas en comparación con los que contienen menos grasas (39). Además, los estudios de alimentación controlada han demostrado que la sustitución parcial de los carbohidratos rápidamente disponibles por ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en la dieta se asocia con una mayor sensibilidad a la insulina, así como con cambios favorables en los lípidos y la presión arterial (40)

Si bien existen numerosos estudios que sugieren que la composición cuantitativa y cualitativa de los alimentos ingeridos en el desayuno puede influir en los parámetros bioquímicos del plasma, todavía faltan estudios que hayan evaluado específicamente el efecto de los diferentes tipos de grasas ingeridas en el desayuno sobre el perfil lipídico plasmático.

Por otro lado, saltarse el desayuno se asocia con aumento de peso (desarrollo de obesidad) y otros resultados adversos (41), incluido un mayor riesgo de DM2 y síndrome metabólico (SM) (42, 43). La relación observada entre saltarse el desayuno y un aumento de la DM2 y el riesgo de síndrome metabólico puede relacionarse con una elevación prolongada de los niveles de glucosa admitidos durante las horas de la mañana en los que no desayunan, lo que resulta en una reducción de la sensibilidad a la insulina más tarde en el día (44). Una segunda hipótesis es que puede haber diferencias en la capacidad para manejar cargas de carbohidratos por la mañana en comparación con más tarde en el día debido a: diferencias en la actividad del sistema nervioso simpático, o patrones diurnos en la liberación de hormonas incretinas (p. ej., péptido 1 similar al glucagón y polipéptido inhibidor gástrico) en respuesta a una comida (35).

El desayunar, en comparación con saltarse el desayuno, parece reducir la glucemia posprandial sin afectar la insulinemia después de una comida estándar del almuerzo (45). Por otro lado, saltarse el desayuno se asocia con una

prolongación de la concentración elevada de ácidos grasos libres (AGL) observada durante el ayuno. Por lo tanto, los que no desayunan tienen concentraciones elevadas de AGL durante las horas de la mañana en comparación con los consumidores del desayuno, y esto se asocia con una resistencia relativa a la insulina, que se manifiesta como una respuesta glucémica elevada a la comida del almuerzo (35).

Existe un número limitado de estudios que han examinado la relación entre saltarse el desayuno y el metabolismo de los lípidos o la glucosa en suero, pero en todos se observan niveles elevados de triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDLc), glucosa en sangre en ayunas y por otro lado niveles reducidos de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) en algunos consumidores de desayuno irregular. (46,47).

En los países desarrollados, durante el período de tiempo que comprende desde 1960 a nuestros días, el número de adultos que no desayunan se ha duplicado prácticamente, debido a diferentes razones, como la falta de tiempo o el exceso de peso (43), sin embargo, existe una relación inversa entre el IMC y el desayuno (44, 45). En ese sentido, también es bien sabido que el tipo de alimento ingerido en el desayuno influye en el IMC (36). También se ha observado que las personas que no desayunan suelen tener una ingesta dietética de menor calidad a lo largo del día (47).

1. 2. RELACIÓN ENTRE LOS LÍPIDOS DE LA DIETA Y LA SALUD

La composición lipídica de los alimentos es importante, ya que es una fuente importante de energía (9 Kcal/g), ayuda a absorber algunas vitaminas y minerales, es necesaria para construir las membranas celulares, así como las vainas que rodean los nervios, es esencial para la coagulación de la sangre, el movimiento de los músculos y la inflamación, entre otras funciones fisiológicas. Se recomienda que las grasas de la dieta aporten entre un 20 y un 35% de las necesidades energéticas diarias. Pero nuestro organismo no hace el mismo uso de los diferentes tipos de grasa, por lo que este 35% deberá estar compuesto por un 10% de grasas saturadas (como máximo), un 5% (mínimo) de grasas insaturadas y un 5% (mínimo) de grasas poliinsaturadas (48). Además, hay ciertos lípidos que se consideran esenciales para el organismo, como el ácido linoleico o el linolénico,

que, si no están presentes en la dieta en pequeñas cantidades, se producen enfermedades y deficiencias hormonales, estos son los llamados ácidos grasos esenciales.

Pero está claro que, para la salud a largo plazo, algunas grasas son mejores que otras. Por todo esto, los aceites y grasas, y los productos elaborados a partir de ellos, juegan un papel importante en la dieta habitual y presentan, según los diferentes tipos, comportamientos nutricionales muy diferentes en el organismo humano. A nivel global, son fuentes de grasas saturadas alimentos como la mantequilla, nata, quesos, grasa de la carne y embutidos, grasas vegetales como el aceite de palma y coco, y snacks. Son fuentes alimentarias de ácidos monoinsaturados el aceite de oliva y productos elaborados con él, como por ejemplo mayonesas. Y los ácidos grasos poliinsaturados son ingeridos en la dieta a través de aceites como el de girasol, maíz y soja, y productos elaborados con ellos como margarinas y mahonesas, pescado azul y las nueces.

Así, también se sabe que, los lípidos son biomarcadores de enfermedades y están implicados en varias condiciones patológicas. Como también desempeñan un papel en la modificación genética y de riesgo en ciertas enfermedades crónicas.

Por lo tanto, el contenido de grasa de la alimentación y su composición son los principales determinantes del perfil lipídico plasmático de los consumidores; por lo que la ingesta de distintos tipos de grasas tiene efecto en el organismo e influye directamente en la colesterolemia como en la concentración de otros lípidos plasmáticos, ya que los ácidos grasos saturados y el colesterol de la alimentación elevan el colesterol sérico, y que los ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico) y los poliinsaturados (ácido linoleico) presentan un moderado efecto reductor del nivel de colesterol con respecto a los hidratos de carbono. Si bien algunos estudios realizados en los últimos 50 años han obtenido resultados diversos, en conjunto, los datos actuales confirman estas conclusiones generales respecto a los efectos relativos de los ácidos grasos saturados, poliinsaturados y monoinsaturados en los niveles de colesterol del suero (FAO, WHO) (48, 49).

Está, por lo tanto, bien establecido que la dieta, o más específicamente la composición de ácidos grasos de la dieta, es uno de los principales factores implicados en la regulación del perfil lipídico plasmático (9). La relación entre la dieta y los marcadores de colesterol o lípidos en sangre son complejos; muchos componentes dietéticos diferentes pueden afectar niveles de colesterol (proteínas,

carbohidratos, esteroides vegetales, etc.). Pero el componente más controvertido es la grasa dietética, tanto en cantidad como en composición de ácidos grasos.

Hallazgos recientes muestran que no solo es importante la cantidad total de grasa, sino también la hora del día cuando se ingieren (27). En esta línea, varios informes anteriores han mostrado la importancia de ajustar la dieta a los ritmos biológicos del sujeto.

Es ampliamente conocido que, durante las pasadas décadas, la reducción de productos con alto contenido graso ha sido el principal foco de recomendaciones dietéticas, ya que a las grasas se le atribuyen ciertas enfermedades como obesidad y enfermedades cardiovasculares, siendo esta última la principal causa de muerte en el mundo. Así mismo, los más propensos a estas enfermedades son las personas adultas, por el metabolismo propio de su edad.

A lo largo del tiempo las asociaciones entre la dieta, los niveles de colesterol sérico y el riesgo de cardiopatía coronaria han sido bien documentadas en comparaciones entre diversos países. Así también se cuenta con abundante evidencia científica desde la década de los 40, que hoy en día se reafirma y sustenta que, los niveles más altos de colesterol sérico están asociados con un mayor riesgo de cardiopatía coronaria, habiéndose demostrado una asociación continua, graduada y estadísticamente significativa entre el colesterol sérico basal y las tasas de muerte por cardiopatía coronaria; así como también mostraron un aumento gradual del riesgo de cardiopatía coronaria a medida que aumentan los niveles de colesterol sérico. Finalmente, las poblaciones con una ingesta relativamente alta de grasas, especialmente grasa animal y colesterol, tienen niveles de colesterol sérico relativamente altos y tasas de mortalidad por cardiopatía coronaria elevadas en comparación con las poblaciones que consumen dietas bajas en grasas (FAO) (48).

Todo esto ha conllevado a asociar las palabras “bajo en grasas” y “libre de grasas”, observadas en las etiquetas de diversos productos alimenticios, como sinónimo de un producto saludable, específicamente enfocándose a un corazón saludable, por ende, de una vida saludable, sin considerar los otros factores que influyen de manera directa en la salud cardiovascular.

1. 2. 1 Metabolismo lipídico

El metabolismo lipídico es muy complejo y tiene como objetivo inicial el transporte de los lípidos localizados en la luz intestinal (principalmente de la dieta) hacia el hígado, órgano central en el metabolismo lipídico. Una parte importante de los triglicéridos se hidrolizan a ácidos grasos libres y van hacia diferentes tejidos, fundamentalmente muscular y graso, reserva energética de nuestro organismo, fundamental en etapas de ayuno.

La mayor parte de los lípidos alimentarios se suministran en forma de triglicéridos, que se hidrolizan para dar ácidos grasos y monoglicéridos antes de ser absorbidos por los enterocitos de la pared intestinal. En general, los ácidos grasos con longitudes de cadena inferiores a 12 átomos de carbono entran directamente en el sistema portal y son transportados hacia el hígado, mientras que los de 12 o más átomos de carbono se vuelven a esterificar dentro del enterocito y entran en circulación a través de la ruta linfática en forma de quilomicrones (50). Las vitaminas liposolubles (vitaminas A, D, E y K) y el colesterol son liberados directamente en el hígado, así como una parte de los restos quilomicronicos (51). La figura 2 muestra de forma muy esquematizada y resumida el metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la influencia de los lípidos de la dieta sobre las síntesis de triglicéridos. En la Figura 3, se puede observar el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), sintetizadas en por el intestino, el hígado y directamente en plasma desde los quilomicrones. Las partículas de HDL recién formadas tienen una estructura discoidal y contienen apolipoproteína AI y fosfolípidos, y captan en los tejidos periféricos, a través de la membrana celular, colesterol no esterificado y fosfolípidos.

Los ácidos grasos además de ser ingeridos directamente con la dieta, pueden ser formados en el citoplasma de las células a partir de acetil-CoA, gracias a la acetil-CoA carboxilasa, que es limitante y está regulada por diferentes metabolitos y hormonas. Esta enzima transforma el acetil-CoA en malonil-CoA, sustrato del ácido graso sintasa, la cual constituye una de las estructuras polipeptídicas multifuncionales más complejas que se conocen.

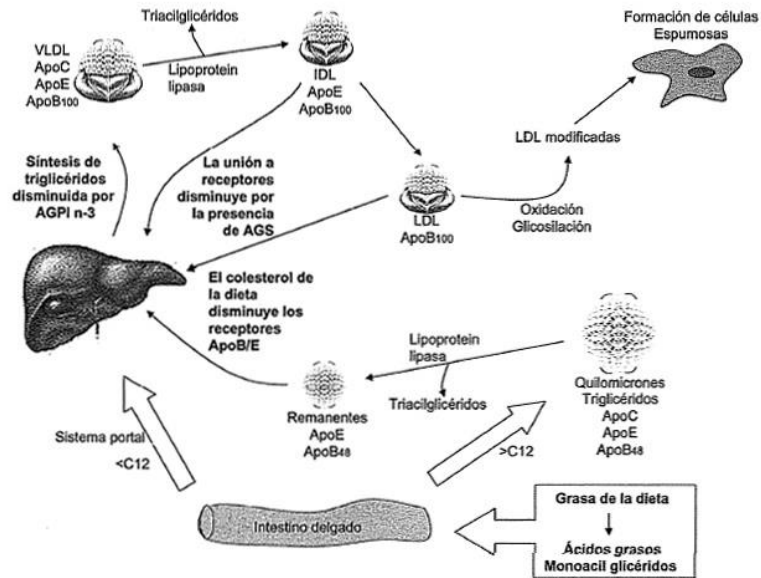


Figura 2. Metabolismo de las lipoproteínas LDL y la influencia de los lípidos de la dieta sobre las síntesis de triglicéridos, la unión de lipoproteínas a receptores específicos y la formación de LDL modificadas (AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; AGS: ácidos grasos saturados) (51).

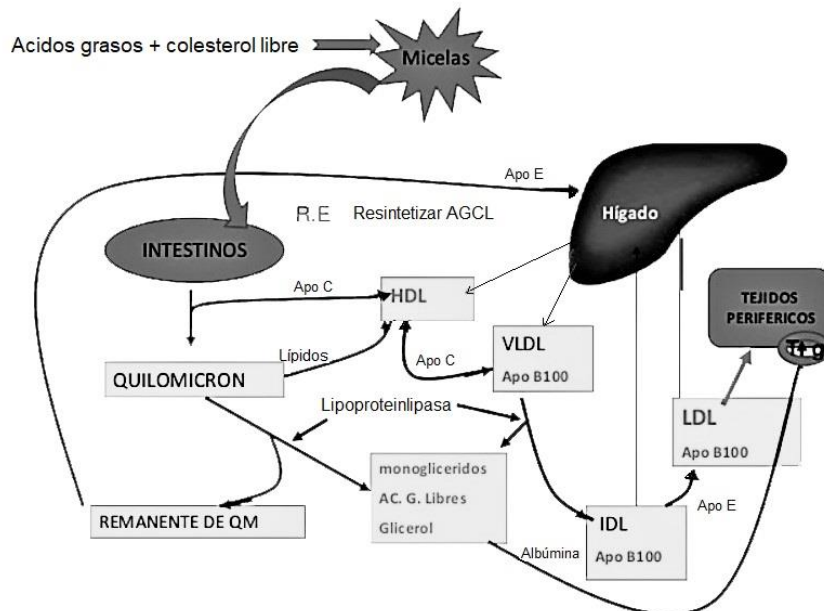


Figura 3. Metabolismo de las lipoproteínas HDL. RE: retículo endoplasmático (51).

1. 2. 2 Tipos de lípidos

A través de nuestra ingesta dietética diaria, ingerimos una variedad de ácidos grasos (AG) con diferentes longitudes de cadena y números de enlaces dobles. Los ácidos grasos son las moléculas lipídicas con mayor interés nutricional, ya que forman parte de los triglicéridos, de los lípidos complejos y pueden esterificar al colesterol. Por lo tanto, la composición de ácidos grasos dietéticos, en gran medida, determina la disponibilidad relativa y el almacenamiento de AG en los tejidos (52).

Así también, existe suficiente evidencia que afirma que diferentes tipos de grasas ingeridas a través de la dieta pueden inducir modificaciones a nivel fisiológico que pueden influir en el desarrollo de ECV, probablemente debido a su efecto sobre las concentraciones de lípidos en plasma (53). Sin embargo, no existen estudios que analicen si el tipo de grasa consumida en el desayuno podría alterar el perfil lipídico plasmático.

Todos los alimentos que contienen lípidos tienen una mezcla de tipos específicos de ellos. Dentro de los distintos tipos lípidos, existen grupos de grasas que son de interés por su efecto en la dieta y estas son:

1. Grasas Saturadas, son de estructuras lineales de átomos de carbono unidos por enlaces simples que abundan en los animales terrestres, especialmente en los mamíferos, así como en algunos aceites vegetales como el de coco y palma. Las grasas saturadas son muy controvertidas y usualmente se las denominan como grasas malas, pero, todos los ácidos grasos desempeñan un papel clave en el metabolismo: como combustible metabólico, como un componente necesario de todas las membranas, y como regulador de genes. Si bien, las pautas americanas recomiendan obtener menos de 10% de calorías de estas grasas (54), la asociación americana del corazón limita más e indica no superar el 7% de las calorías (55), todo ello porque durante décadas sugirieron que las grasas saturadas eran dañinas, pero en los últimos años algunos investigadores examinaron la relación entre la ingesta de grasas saturadas y las enfermedades coronarias, el accidente cerebrovascular y las enfermedades cardiovasculares (ECV) y han emitido una polémica conclusión: "No hay pruebas suficientes de los estudios epidemiológicos

prospectivos para concluir que las grasas saturadas dietéticas están asociadas con un mayor riesgo de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular o ECV (56).

2. Grasas insaturadas, son el grupo de grasas que se consideran “buenas”, ya que son beneficiosas porque mejoran los niveles de colesterol en sangre, estabilizan los ritmos cardíacos, y desempeñan una serie de otras funciones beneficiosas. Este tipo de grasas se encuentran en alimentos vegetales, aceites vegetales, frutos secos y semillas. Éstas de acuerdo al número de dobles enlaces, a su vez se clasifican en dos tipos: las grasas monoinsaturadas (AGMI) y las grasas poliinsaturadas (AGPI). Dentro de las segundas, se incluyen ácidos grasos que, resultan necesarios para mantener el estado de salud y no pueden ser sintetizados por los humanos, por lo que se deben incorporar al organismo mediante la dieta, razón por la que se denominan esenciales y dentro de éstas últimas se incluyen los ácidos grasos poliinsaturados de las familias omega-3 (n-3) y omega -6 (n-6). Estos AGPI son importantes en el organismo, ya que se presentan como excelentes mediadores bioactivos para diversos propósitos terapéuticos, se incorporan fácilmente en el interior de bicapas de lípidos y forman importantes precursores bioquímicos y fuentes de energía, son moléculas de señalización y componentes de la membrana celular (57), ya que mantienen la estructura de las membranas celulares, facilitan la absorción de las vitaminas liposolubles (A, D, E, K), regulan el metabolismo del colesterol y producen eicosanoides (que regulan múltiples procesos celulares a nivel vascular, bronquial, motilidad gastrointestinal y uterina, protección gástrica, diuresis, coagulación sanguínea, temperatura corporal, fenómenos algésicos, inflamatorios e inmunitarios (58).
3. Grasas *trans*, comúnmente llamados los ácidos grasos *trans* (AGT), se producen por procesos de biohidrogenación en el rumen de ganado bovino u ovino, o la hidrogenación industrial de aceites vegetales, la cual consiste en la adición directa de hidrógeno a los enlaces dobles de los ácidos grasos insaturados de aceites vegetales con el objeto de modificar su punto de fusión, haciéndolos sólidos o semisólidos a

temperatura ambiente, es decir, a menudo, los aceites vegetales insaturados se hidrogenan parcialmente para producir grasas más sólidas, más plásticas y más estables. Durante la hidrogenación los AG *cis* con una estructura química flexible, pueden ser transformados en sus isómeros *trans* los cuales tienen una estructura más rígida, similar a la de los ácidos grasos saturados, y su presencia contribuye a la solidificación de las grasas que los contienen (59). En este proceso un doble enlace puede cambiar de configuración *cis* a *trans* (isomerización geométrica) o cambiar de posición dentro de la cadena de átomos de carbono (isomerización posicional), de modo que los ácidos grasos *trans* contienen al menos un doble enlace con esta configuración. Las fuentes más frecuentes de ácidos grasos isoméricos son las grasas de repostería que contienen aceites vegetales o de pescado parcialmente hidrogenados, así como la carne de los rumiantes y la grasa de la leche.

La mayoría de la evidencia relaciona a los AGT con el riesgo de enfermedad coronaria (EC), ya que este tipo de grasas, pueden aumentar el colesterol LDL y disminuir el HDL y tienen un efecto similar a las grasas saturadas sobre los lípidos. Por lo que, a estos ácidos grasos, se consideran perjudiciales ya que se les ha relacionado con el desarrollo de diferentes tipos de cáncer y su consumo excesivo puede aumentar el riesgo de desarrollar diabetes tipo II (60).

1. 2. 3 Inferencia en el estado de salud

Muchas veces se desvirtúa la ingesta de grasas, en el sentido de que-con una demasiada generalización se atribuye que las grasas son dañinas para el organismo, olvidándose que son nutrientes necesarios, como ya se fundamentó anteriormente. Pero sí se debe tener en cuenta, que hay personas que ya poseen algunos factores de riesgo cardiovascular, en las que cierto tipo de grasas contribuyen aún más a la evolución de dichas enfermedades, por lo cual es recomendable modificar el tipo de grasa ingerida, para atenuar dicho riesgo.

Por lo indicado previamente, además de conocer los tipos de ácidos grasos que existen, su función en el organismo, así como las fuentes que los contienen, es importante conocer sus efectos sobre la salud.

Es así que, se observan recomendaciones dietéticas basadas en el contexto de la evidencia científica, las cuales, generalmente indican que, si hay un mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y menor AGS en una dieta baja en grasas, el colesterol total sérico y el LDL-C disminuirán (61).

Así también, diversos estudios clínicos muestran que el incremento de consumo de grasas poliinsaturadas, como resultado de remplazar en la dieta las grasas saturadas, puede verse reflejados en el incremento de los beneficios en la salud cardiovascular, puesto que se observa una reducción de enfermedades coronarias en adultos mayores, más propensos al RCV (62). Un metaanálisis encontró que las intervenciones que utilizan una combinación de AGPI $\omega 3$ y $\omega 6$ dieron como resultado una disminución significativa en los eventos de enfermedades de las arterias coronarias (EAC) en comparación con las dietas de control con menos AGPI. Sin embargo, las intervenciones que utilizaron aceites poliinsaturados $\omega 6$ sin AGPI $\omega 3$ mostraron más eventos cardiovasculares en comparación con las dietas de control, aunque el aumento en el número no fue estadísticamente significativo (63). Parecería que incluso cantidades moderadas de AGPI $\omega 3$ en la dieta dan como resultado la atenuación de las respuestas inflamatorias que se reflejan en la reducción significativa de los eventos coronarios observados con el aumento de AGPI en la dieta. De los aceites vegetales comunes, el aceite de canola y de soja tienen un contenido importante de AGPI $\omega 3$ (10% y 7% respectivamente), mientras que los aceites de maíz, cártamo y girasol generalmente contienen <1% AGPI $\omega 3$ (64). Por otro lado, otra revisión sistemática encontró evidencia insuficiente para apoyar una asociación (positiva o negativa) entre la EAC y varios factores dietéticos, incluidos los AGS o AGPI, el ácido α -linolénico, la grasa total, la carne, los huevos y la leche (65).

Existen diversos estudios que afirman que las ingestas más altas de AGPI y AGMI se asocian con una menor mortalidad. Así también, que la sustitución del 5% de la energía de las grasas saturadas por energía equivalente de AGPI y AGMI se asocia con reducciones en la mortalidad total del 27% y el 13%, respectivamente (66). Así mismo, sugieren que la sustitución de los AGS por AGPI, AGMI o carbohidratos de granos integrales está asociada con un menor riesgo de enfermedad coronaria (EC). Se observa además que la sustitución de carbohidratos de almidones refinados/azúcares añadidos por AGPI o carbohidratos de granos integrales se asocian con un menor riesgo de EC. Otras

observaciones, junto con la evidencia de estudios anteriores, indican recomendaciones basadas en la evidencia, a nivel de población e individual para reducir el consumo de AGS, que deben especificar la sustitución de los AGS por grasas insaturadas (AGI) y/o carbohidratos de alta calidad (67).

Cabe mencionar, que los estudios de acoplamiento molecular también han corroborado el papel de los AGPI a nivel molecular, interactúan directa e indirectamente con factores responsables de mejorar la salud y superar la etiología de las enfermedades (68).

1. 2. 4 Inferencia en enfermedad

Así como es importante conocer los efectos de las grasas en la salud, es también importante conocer la relación de estas en la enfermedad.

Lawrence (69), refiere que algunos estudios han demostrado que las dietas ricas en grasas promueven cánceres inducidos químicamente, en animales. Una revisión y un metaanálisis encontraron que el ácido linoleico, el ácido graso $\omega 6$ predominante en los aceites vegetales, no es un factor de riesgo para los cánceres de mama, colorrectal y de próstata en los seres humanos (70), sin embargo, existe evidencia de que la ingesta alta de $\omega 6$ en relación con $\omega 3$ aumenta el riesgo de cáncer (71, 72). Existen múltiples procesos mediante los cuales los ácidos grasos $\omega 6$ pueden promover la carcinogénesis, uno de estos mecanismos podría ser la producción de eicosanoides bioactivos a partir del ácido araquidónico (73). Si bien la mayoría de los estudios no encuentran diferencias en el riesgo de cáncer con los diferentes tipos de grasas, lo que sí encuentran son asociaciones con niveles altos de grasas en la dieta (74).

Si bien el papel de las grasas alimentarias en las ECV y muchas otras enfermedades es complejo, sin embargo, las ingestas más altas de grasas saturadas y grasas *trans* se asocian con un aumento de la mortalidad.

Los primeros estudios realizados indican que las grasas saturadas con niveles muy bajos de AGPI aumentan el colesterol sérico y además otros estudios mostraron que el colesterol sérico alto, incrementa el riesgo de enfermedad de las arterias coronarias, por lo que con todo ello se evidenciaba que las grasas saturadas en la dieta aumentan las EAC. A lo largo de los años, otros estudios revelaron que los AGS están débilmente asociados a las EAC y otros efectos

adversos (56,66). Por tanto, el enfoque en la manipulación dietética del colesterol sérico puede ser discutible en vista de muchos otros factores que aumentan el riesgo de enfermedad cardíaca (69).

En la década de 1990, comenzaron a revelarse los mecanismos por los cuales las grasas alimentarias y los tipos específicos de ácidos grasos regulan el colesterol sérico y las lipoproteínas. Una vez que las fracciones de lipoproteínas se separan en la sangre, se hizo evidente que LDL y VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) son los portadores de colesterol que están más estrechamente asociados con el riesgo de enfermedad cardíaca (75). Más tarde se descubrió que la proporción de colesterol sérico total y HDL-c era un mejor indicador del riesgo de enfermedad cardíaca (76).

Lo que sí está bien establecido es que la ingesta dietética de ácidos grasos tiene un impacto sustancial sobre la enfermedad coronaria (EC); es decir, los ácidos grasos saturados (AGS) aumentan y los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) disminuyen los niveles de colesterol sérico y por tanto el riesgo de enfermedad coronaria (77). Así como, los efectos adversos de los ácidos grasos *trans* (AGT) en las enfermedades cardiovasculares también están bien establecidos. Sin embargo, la asociación de la ingesta de ácidos grasos con el accidente cerebrovascular isquémico se ha estudiado menos y los resultados han sido inconsistentes (56, 78). Además, pocos estudios prospectivos han explorado sistemáticamente la asociación de biomarcadores de la ingesta de ácidos grasos con el accidente cerebrovascular (79, 80), no obstante, un estudio cohorte, encuentra asociaciones positivas significativas de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en plasma, especialmente de ácido palmitoleico, con accidente cerebrovascular isquémico. También encontraron una asociación no lineal inversa entre el ácido linoleico y el accidente cerebrovascular isquémico (81). Así también, su papel en el desarrollo de la diabetes tipo 2 no ha sido tan ampliamente investigado (82).

1.3 SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SM) es un fenotipo progresivo caracterizado por un grupo de factores interconectados que aumentan directamente el riesgo de enfermedad coronaria (EC), otras formas de enfermedades cardiovasculares

ateroscleróticas (ECVA) y diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Sus principales componentes son la obesidad, dislipemia (elevados triglicéridos y lipoproteínas que contienen apolipoproteína B (apoB), bajos niveles de HDL), elevación de la presión arterial (PA) y homeostasis de glucosa desregulada. Principalmente los cuatro factores indicados comprenden el SM, sin embargo, las definiciones utilizadas varían un poco entre los grupos étnicos y los criterios diagnósticos han sido establecidos por diferentes organizaciones con ligeras variaciones en los mismos (Tabla 1, Tabla 2). Mientras que obesidad abdominal y / o resistencia a la insulina (RI) han ganado una atención creciente como las manifestaciones centrales del síndrome, recientemente, otras anomalías como estados proinflamatorios y protrombóticos crónicos, la enfermedad del hígado graso no alcohólico y la apnea del sueño se han agregado a la entidad del síndrome, lo que hace que su definición sea aún más compleja (83).

Tabla 1. Diagnóstico del síndrome metabólico según la OMS y EGIR

Criterio	OMS /WHO SM: Principales más criterios menores	EGIR SM: Principales más dos criterios
Principales criterios	- Resistencia a la insulina - Diabetes mellitus tipo 2 y/o - Intolerancia oral a la glucosa	- Resistencia a la insulina (necesario) - Insulina basal: >75
Obesidad abdominal	Circunferencia de cintura: Mujeres: >85 cm Hombres: >90 cm	Circunferencia de cintura: Mujeres: ≥80 cm Hombres: ≥94 cm
Triglicéridos	> 150 mg/dL	≥ 180 mg/dL
Colesterol HDL	Mujeres: < 39 mg/dL Hombres: < 35 mg/dL	< 40 mg/dL
Presión arterial	≥ 140/90 mmHg	≥ 140 / 90 mmHg ó estar en tratamiento específico

* WHO: World Health Organization (48). EGIR: European Group for Study of Insulin Resistente (84).

Tabla 2. Diagnóstico del síndrome metabólico según NCEP /ATPIII e IDF

Criterio	NCEP/ATPIII SM: 3 o más criterios	IDF SM: obesidad más dos criterios
Obesidad abdominal	Circunferencia de cintura: Mujeres: >88 cm Hombres: >102 cm	Circunferencia de cintura: Mujeres: >80 cm Hombres: >90 cm
Triglicéridos	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL ó estar recibiendo tratamiento específico para dislipemia
Colesterol HDL	Mujeres: < 50 mg/dL Hombres: < 40 mg/dL	Mujeres: < 50 mg/dL Hombres: < 40 mg/dL ó estar recibiendo tratamiento específico para dislipemia
Presión arterial	≥ 130/85 mmHg ó tener diagnóstico previo de HTA y estás con medicación	Sistólica ≥ 130 mmHg Diastólica ≥ 85 mmHg ó estar en tratamiento de hipertensión diagnosticada previamente
Glucemia	≥ 110 mg/dL en ayunas Ó tener diagnóstico previo de diabetes y estar recibiendo tratamiento	≥100 mg/dL en ayunas ó diagnóstico previo de diabetes tipo 2

* NCEP: National Cholesterol Education Program (85). IDF: International Diabetes Federation (86).

El SM incrementa el riesgo cardiovascular, como resultado de una compleja interacción entre los factores de riesgo individuales que aún no se entiende completamente. Incluye una serie de alteraciones metabólicas relacionadas con la resistencia a la insulina, lo que predispone al desarrollo de prediabetes o DM2 (87), Por ejemplo, aunque la obesidad central es una característica definitoria de SM, un estudio en hombres de mediana edad con este síndrome encontró que el riesgo cardiovascular se incrementó independientemente del índice de masa corporal (88). Otro estudio encontró que los pacientes con este síndrome que

también presentan disfunción endotelial, se encuentran en un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (89). Esta evidencia ha permitido concluir entonces que el SM aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular en una medida mayor que la probabilidad conferida por cualquiera de sus componentes individuales (89, 88, 90).

Estas afecciones ocurren juntas, lo que aumenta el riesgo de enfermedades. Tener solo una de estas afecciones no significa que tenga síndrome metabólico. Pero sí significa que tiene un mayor riesgo de padecer una enfermedad grave. Y si desarrolla más de estas afecciones, su riesgo de complicaciones, como diabetes tipo 2 y enfermedades cardíacas, aumenta aún más. Por lo tanto, el SM puede estar presente en formas diferentes, de acuerdo a la combinación de los diferentes componentes del síndrome y está bien establecido que aumenta el riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, DM2 y cáncer (91, 92). Todavía no se sabe cómo el SM es activado o cómo los diferentes componentes tienen una relación causal, pero la resistencia a la insulina se sospecha fuertemente, posee un vínculo fisiopatológico común, ya que es evidente que existe una correlación positiva entre el peso corporal y la resistencia a esta, además del riesgo de desarrollar las anormalidades metabólicas asociadas (93).

Se ha sugerido que el incremento de ácidos grasos puede tener influencia o estar vinculado con la resistencia a la insulina, ya que los AG pueden estar implicados en la reducción de captación de glucosa al inhibir la unión de glucotransportadores a la membrana celular, lo cual reduce la secreción de insulina de las células del páncreas, llevándose a cabo un incremento de la síntesis de triglicéridos hepáticos y de VLDL (94).

Por otro lado, el aumento de peso (en particular, el depósito abdominal de grasa corporal) tiene un papel clave para el desarrollo del SM. Así también el sedentarismo o falta de actividad física y determinadas dietas patrones, incluidos los ácidos grasos saturados y baja ingesta de verduras, contribuyen a aumento de peso y aumentan el riesgo de alteraciones metabólicas (95, 96), mientras que factores de estilo de vida potencialmente modificables puede reducir el riesgo cardiovascular. Adicionalmente, se relaciona factores ambientales, estrés crónico y depresión con el posterior desarrollo del SM.

El síndrome metabólico es muy prevalente en los EE. UU. con un 24% estimado de la población adulta afectada (96). El National Cholesterol Education

Program (NCEP) (85) ha definido síndrome metabólico basado en varios parámetros, incluidas las mediciones antropométricas. Sin embargo, los puntos de corte antropométricos para identificar alto riesgo en los sujetos, relacionado con la resistencia a la insulina, pueden estar influenciados por la etnia, es así que las poblaciones, acorde a su etnia tiene diferentes límites del perímetro de cintura, como se puede observar en la Tabla 3 (97). Basado en el hecho de que en las poblaciones asiáticas la morbilidad y la mortalidad están ocurriendo en personas con valores de IMC más bajos y circunferencias de cintura, la OMS propuso recientemente diferentes valores de corte para definir un aumento morbilidad en asiáticos (98).

Tabla 3. Perímetro abdominal según distintos grupos étnicos (97)

Grupo étnico	Perímetro abdominal (cm)	
	Hombres	Mujeres
Asiáticos	> 90	≥ 80
Estadounidenses	≥ 102	≥ 88
Europeos	≥ 94	≥ 80
Latinoamericanos	> 90	≥ 80

Los estudios de migración indican que la adopción del estilo de vida occidental está fuertemente asociada con la diabetes tipo 2. Altas tasas de prevalencia de diabetes tipo 2 y enfermedades asociadas en inmigrantes japoneses que viven en las Américas (99) sugieren que la exposición a un estilo de vida diferente exacerbó una tendencia inherente a acumular grasa y desarrollar diabetes. Muchos investigadores informaron que los cambios en la dieta, como un aumento en la ingesta de grasa animal y reducción de carbohidratos complejos, fueron impuestos por la inmigración (100, 101).

Los estudios en animales sugirieron que el tipo de grasa en la dieta puede afectar la sensibilidad a la insulina al cambiar la composición de ácidos grasos de lípidos de membrana (102). En los seres humanos, un efecto perjudicial de las grasas saturadas o un beneficio de la grasa poliinsaturada es aún hoy materia controvertida. Hay datos disponibles sobre la asociación de factores dietéticos con grupos de enfermedades que tienen una base nutricional común, como el

síndrome metabólico (103). Considerando la complejidad de establecer relaciones entre dieta y enfermedad, se han realizado estudios que se centran en una población y que agrupan varias enfermedades, es decir alto riesgo de anomalías metabólicas (104).

Por lo que las interacciones entre genes y dieta son procesos importantes involucrados en el inicio de síntomas particulares del síndrome metabólico y su progresión. El síndrome metabólico es cada vez más común, pero cualquiera de sus componentes, por tanto, los cambios agresivos en el estilo de vida pueden retrasar o incluso prevenir el desarrollo de problemas de salud graves. Así también se considera importante la atención primaria en base a los datos antropométricos y bioquímicos que permitan detectar estadios iniciales del SM.

1.4 RIESGO CARDIOVASCULAR

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), principalmente la isquémica coronaria (IC) y los accidentes cerebrovasculares, son la principal causa de mortalidad mundial (Figura 4) y uno de los principales factores que contribuyen a la discapacidad (105).

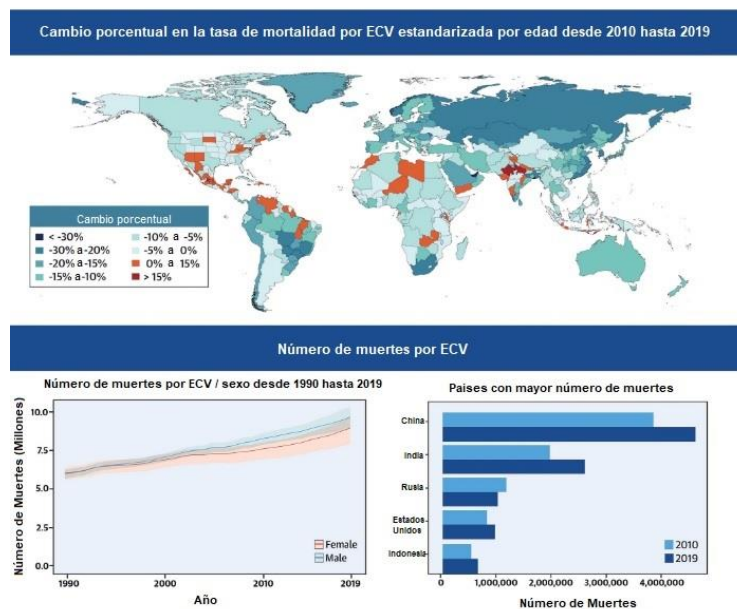


Figura 4. Carga mundial de enfermedades cardiovasculares y factores de riesgo, 1990-2019 (105).

La enfermedad cardiovascular incluye todos los tipos de enfermedad cardíaca, accidente cerebrovascular y enfermedad de los vasos sanguíneos (Tabla 4). El tipo más común es la aterosclerosis, enfermedad de las arterias coronarias, que afecta el flujo sanguíneo al corazón, causada por la acumulación de placa en las paredes de las arterias coronarias.

Tabla 4. Enfermedades cardiovasculares y diversas patologías asociadas

Sistema	Patología
Cardiovasculares	Arritmias
	Enfermedad coronaria
	Enfermedad tromboembólica venosa
	Hipertensión arterial
	Hipertensión pulmonar
	Ictus isquémico
	Insuficiencia cardíaca congestiva

Los casos prevalentes de enfermedades cardiovasculares totales casi se duplicaron de 271 millones en 1990 a 523 millones en 2019, y el número de muertes por enfermedades cardiovasculares aumentó constantemente de 12,1 millones en 1990, llegando a 18,6 millones en 2019. Las tendencias mundiales de años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) y años de vida perdidos también aumentó significativamente, y los años vividos con discapacidad se duplicaron de 17,7 millones a 34,4 millones durante ese período de tiempo. Así también, se evidenció un incremento en cuanto a prevalencia y mortalidad, en la mayoría de las enfermedades cardiovasculares (proporción indicados en la Figura 5) y los factores de riesgo modificables (indicados en la Figura 6). Concluyendo por tanto que, los factores de riesgo cardiometabólicos, conductuales, ambientales y sociales son los principales impulsores de las enfermedades cardiovasculares.

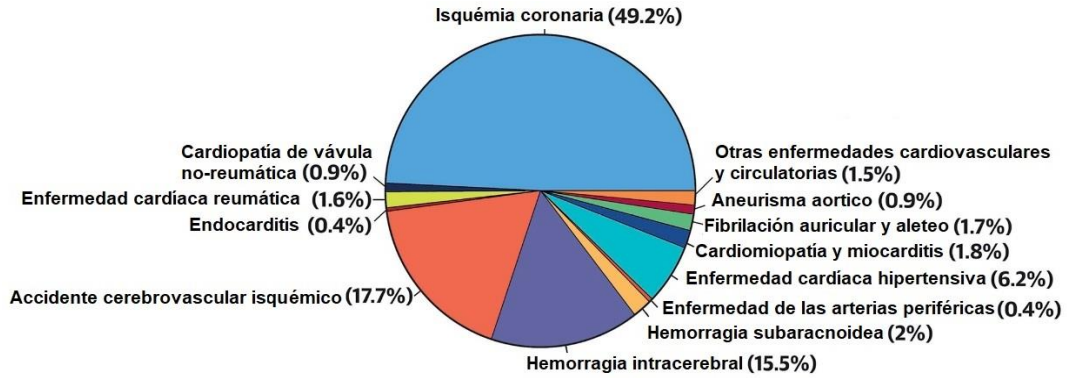


Figura 5. Proporción de Muertes por causa de ECV (2019) (105)

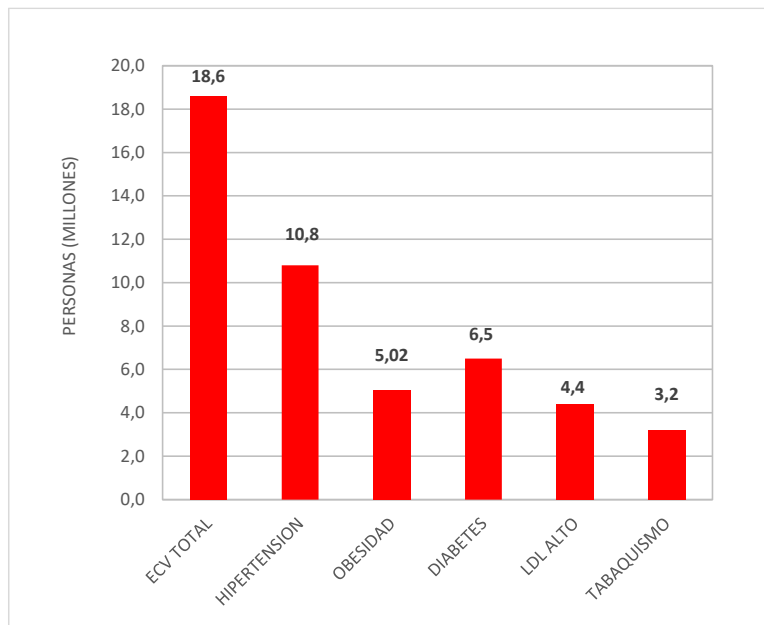


Figura 6. Muerte por ECV y por factores de riesgo de ECV del año 2019 (105)

La creciente incidencia de ECV en los últimos 25 años se ha convertido en una prioridad de salud pública, especialmente la prevención de ECV o eventos cardiovasculares, a través de intervenciones en el estilo de vida. Se han realizado muchos avances al respecto, y ahora es posible determinar el riesgo de

enfermedad cardiovascular. Las puntuaciones de predicción de riesgo de ECV contienen información sobre el colesterol total y el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL), entre otros factores de riesgo convencionales (106). Existe un interés considerable sobre si la predicción de ECV puede mejorarse mediante la evaluación de marcadores adicionales relacionados con los lípidos, como varias subfracciones de lipoproteínas pro-aterogénicas (colesterol LDL denso y pequeño o de apolipoproteínas específicas (Apo B) (107-109).

Varios estudios recientes han demostrado relaciones independientes entre los niveles de subclases de LDL y HDL y el riesgo de arteriopatía coronaria y enfermedad cerebrovascular (110). Los estudios sugieren que los análisis más refinados de las subespecies de lipoproteínas pueden conducir a mejoras adicionales en la evaluación de riesgo cardiovascular, ya que la caracterización de las subclases de LDL, en especial con respecto a Lipoproteína Lp (a) (Lp (a)) y LDL densa pequeña, puede ayudar a desarrollar intervenciones más personalizadas centradas en las características individuales (111,112).

Las grasas alimentarias o los ácidos grasos de la dieta juegan un papel importante en la causa y prevención de ECV, como ya se ha documentado anteriormente en este trabajo. El riesgo de ECV se puede reducir modestamente disminuyendo los ácidos grasos saturados y reemplazándolos por una combinación de AGPI y AGMI (53). Aunque no está claro el tipo ideal de grasa insaturada para este reemplazo, los beneficios de los AGPI parecen ser los más fuertes.

Una amplia evidencia respalda las recomendaciones dietéticas actuales y las pautas basadas en alimentos sobre grasas dietéticas, que recomiendan limitar el consumo de grasas con alto contenido de AGS y en su lugar utilizar aceites con alto contenidos de AGMI y AGPI, puesto que el reemplazo parcial de AGS por AGI mejora el perfil de lípidos y lipoproteínas en la sangre y reduce el riesgo de enfermedad coronaria. Sin embargo, varias publicaciones recientes han cuestionado la evidencia y el fundamento de las recomendaciones de grasas en la dieta, especialmente para las ingestas de AGPI omega-6 (principalmente ácido linolénico, LA) (113). Estas publicaciones y la atención de los medios de comunicación que atrajeron han creado confusión entre los consumidores y los profesionales de la salud sobre los efectos en la salud de las diferentes grasas dietéticas.

EL Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors (GBD) 2019 (105), precisa que los riesgos dietéticos comprenden la suma de los efectos adversos de las dietas, en las que se subconsumen 15 tipos de alimentos/nutrientes (frutas, verduras, legumbres, cereales integrales, frutos secos y semillas, leche, fibra, calcio, ácidos grasos omega-3 de pescado y ácidos grasos poliinsaturados en general) o se consumen en exceso otros (carnes rojas, carnes procesadas, bebidas endulzadas con azúcar, ácidos grasos *trans* y sodio) y, las ECV son la consecuencia principal de estos riesgos dietéticos.

Así también, se indica que la contaminación del aire es el principal factor de riesgo ambiental para la salud mundial y el cuarto factor de riesgo más importante de mortalidad mundial. Dos formas principales de contaminación del aire cuantificadas en GBD 2019 (105) contribuyen sustancialmente a la carga de ECV: partículas ambientales con un diámetro aerodinámico menor de 2.5 μm (PM 2.5) y contaminación del aire doméstico (HAP) por el uso de combustibles sólidos para cocinar. En 2019, las ECV representaron el 51,5% y el 30,5% del total de AVAD atribuibles a PM 2.5 y HAP, respectivamente.

El género (femenino), la edad fisiológica (posmenopáusica) y la obesidad son otros factores de riesgo asociados para el desarrollo de ECV (114, 115), cuya prevalencia en los países desarrollados tiene duplicado desde 1960 hasta ahora.

1.4.1 Obesidad y riesgo cardiovascular

La obesidad, definida por un IMC elevado ($\geq 30 \text{ Kg/m}^2$) ha alcanzado niveles epidémicos en todo el mundo. Un IMC elevado empeora la mayoría de los factores de riesgo de ECV, incluidos efectos adversos sobre la presión arterial, el azúcar en sangre, los lípidos y la inflamación, los cuales tienen efectos adversos sobre la estructura y función cardíaca, por lo que no resulta sorprendente que la hipertensión, la enfermedad coronaria, la insuficiencia cardíaca y la fibrilación auricular se incrementen con la obesidad (105).

Por lo tanto, la obesidad es un factor importante que contribuye a la prevalencia de enfermedades cardiovasculares en el mundo desarrollado y, sin embargo, solo recientemente se le ha prestado el mismo nivel de atención que a otros factores de riesgo de la enfermedad arteriocoronaria. La obesidad es un trastorno metabólico crónico asociado con enfermedades cardiovasculares y

aumento de la morbilidad y la mortalidad. Es evidente que se producen diversas adaptaciones / alteraciones en la estructura y función cardíacas a medida que se acumula un exceso de tejido adiposo, incluso en ausencia de comorbilidades. Hoy en día se observan cambios hacia un estilo de vida menos exigente físicamente en diferentes poblaciones, y este flagelo asociado con la obesidad implica un aumento correspondiente en el número de individuos afectados por el síndrome metabólico, que define al paciente obeso como “en riesgo”.

El exceso de peso corporal es el sexto factor de riesgo más importante que contribuye a la carga global de morbilidad en todo el mundo. Más de mil millones de adultos y el 10% de los niños están ahora clasificados como obesos o con sobrepeso (116).

La obesidad, en particular la obesidad central, se ha asociado constantemente con la hipertensión y un mayor riesgo cardiovascular. Con base en estudios de población, las estimaciones de riesgo indican que al menos dos tercios de la prevalencia de hipertensión pueden atribuirse directamente a la obesidad (117). Aparte de la hipertensión, la adiposidad abdominal también se ha relacionado con la patogenia de la enfermedad de las arterias coronarias, la apnea del sueño, los accidentes cerebrovasculares y la insuficiencia cardíaca congestiva (116). Así también, cada vez hay más pruebas de que la obesidad contribuye tanto al desarrollo como a la progresión de la enfermedad renal crónica (118).

El tejido adiposo no es simplemente un depósito pasivo de grasa, sino un órgano endocrino que es capaz de sintetizar y liberar al torrente sanguíneo una variedad de moléculas que pueden impactar desfavorablemente el perfil de factores de riesgo de un paciente. De hecho, la obesidad puede afectar la aterosclerosis a través de variables no reconocidas y factores de riesgo de enfermedad de las arterias coronarias como dislipemia, hipertensión, intolerancia a la glucosa, marcadores inflamatorios y estado protrombótico (119). El tejido adiposo libera una gran cantidad de mediadores bioactivos que influyen no solo en la homeostasis del peso corporal sino también en la resistencia a la insulina, la característica principal de la diabetes tipo 2, así como en las alteraciones de los lípidos, la presión arterial, la coagulación, la fibrinólisis y la inflamación, lo que conduce a una disfunción endotelial y aterosclerosis (120).

La obesidad también puede exacerbar la enfermedad cardiovascular a través de una variedad de mecanismos que incluyen inflamación sistémica,

hipercoagulabilidad y activación de los sistemas simpático y renina-angiotensina. Por tanto, la reducción de peso es una estrategia clave para la mejora simultánea del riesgo cardiovascular global, con mejoras anticipadas en la supervivencia y la calidad de vida (121).

Al modificar favorablemente los lípidos, disminuir la presión arterial y disminuir los niveles de glucemia, citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión, la pérdida de peso puede prevenir la progresión de la aterosclerosis o la aparición de eventos de síndrome coronario agudo en la población obesa de alto riesgo (122).

1.4.2 Diabetes y riesgo cardiovascular

La diabetes es una enfermedad crónica importante cuya incidencia está aumentando a nivel mundial y se considera como una epidemia. La OMS estimó que había 217 millones en 2005 y para el año 2030, la OMS predice que esta cifra aumentará a al menos 366 millones. Este crecimiento de la prevalencia de la diabetes, impulsado principalmente por una mayor prevalencia de diabetes tipo 2 (DM2), se está produciendo tanto en los países en desarrollo como en los países desarrollados (123). La incidencia de diabetes tipo 1 (DM1) también está aumentando en paralelo a la de DM2 en todo el mundo. Sin embargo, la DM2 tiene una contribución desproporcionadamente mayor al aumento de la prevalencia de diabetes mellitus (DM) a nivel mundial en comparación con la DM1 (124).

Asimismo, la incidencia de DM se ha convertido rápidamente en una de las enfermedades crónicas más prevalentes y costosas (para el paciente y para el sistema sanitario) en todo el mundo. La carga económica asociada con la DM es sustancial tanto en términos de los costes directos de la atención médica como de los gastos indirectos de la disminución de la productividad relacionada con la morbilidad y la mortalidad relacionadas con la diabetes. Los costes directos de la DM se atribuyen principalmente a complicaciones tanto macrovasculares como microvasculares.

La diabetes es un factor de riesgo primordial para las enfermedades cardiovasculares (ECV). Los trastornos vasculares incluyen retinopatía y nefropatía, enfermedad vascular periférica, accidente cerebrovascular y

enfermedad de las arterias coronarias. La diabetes también afecta el músculo cardíaco, causando insuficiencia cardíaca tanto sistólica como diastólica. La etiología de este exceso de morbilidad y mortalidad cardiovascular no está del todo clara. La evidencia sugiere que, aunque la hiperglucemia, el sello distintivo de la diabetes, contribuye al daño miocárdico después de eventos isquémicos, claramente no es el único factor, porque tanto la prediabetes como la presencia del síndrome metabólico, incluso en pacientes normoglucémicos, aumentan el riesgo de tipos de ECV (125, 126).

Existe por tanto una estrecha relación entre la DM y la enfermedad cardiovascular. Además, las ECV son la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad en los pacientes diabéticos, es decir personas con DM2 y DM1 (127). Las personas adultas con diabetes presentan tasas de mortalidad debido a enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares de dos a cuatro veces más altas que las que no tienen diabetes (128). Este mayor riesgo de mortalidad por ECV en pacientes diabéticos se encuentra tanto en hombres como en mujeres. Se ha afirmado que los pacientes con DM2 sin antecedentes de infarto de miocardio tienen el mismo riesgo de enfermedad de las arterias coronarias (EAC) que los sujetos no diabéticos con antecedentes de infarto de miocardio (129). Sin embargo, todavía existe cierta incertidumbre sobre si el riesgo cardiovascular conferido por la diabetes es verdaderamente equivalente al de un infarto de miocardio anterior (130).

Por otro lado, los factores de RCV como la obesidad, la hipertensión y la dislipemia son comunes en los pacientes con DM, en particular aquellos con DM2. Además, los estudios han informado de que varios factores, incluido el aumento del estrés oxidativo, el aumento de la coagulabilidad, la disfunción endotelial y la neuropatía autónoma, a menudo están presentes en pacientes con DM y pueden contribuir directamente al desarrollo de ECV (131). En conjunto, las altas tasas de factores de riesgo CV y los efectos biológicos directos de la diabetes en el sistema CV colocan a los pacientes diabéticos en mayor riesgo de desarrollar ECV y contribuyen al aumento de la prevalencia de infarto de miocardio, revascularización, accidente cerebrovascular e isquemia coronaria (IC) (128, 131, 132). Por lo tanto, enfocarse en los factores de riesgo CV en pacientes con DM es fundamental para minimizar las complicaciones CV a largo plazo de la enfermedad.

Los pacientes con diabetes como se afirmó previamente tienen un mayor riesgo de complicaciones micro y macrovasculares. El beneficio del control glucémico en la disminución del riesgo de enfermedad microvascular está bien establecido. Sin embargo, el papel del control glucémico en la disminución de las complicaciones macrovasculares ha sido controvertido. Varios ensayos clínicos grandes que examinan este problema no han demostrado ningún beneficio o incluso daño potencial (133).

La aterosclerosis es la principal amenaza para la macrovasculatura de los pacientes con y sin diabetes. Clínicamente, la dislipemia está altamente correlacionada con la aterosclerosis y hasta el 97% de los pacientes con diabetes son dislipidémicos (134). Además del patrón característico de aumento de triglicéridos y disminución del colesterol HDL que se encuentra en el plasma de pacientes con diabetes, se observan anomalías en la estructura de las partículas de lipoproteína. En la diabetes, la forma predominante de colesterol LDL es la forma pequeña y densa, ésta más aterogénica que las partículas grandes de LDL porque pueden penetrar más fácilmente y formar uniones más fuertes a la pared arterial y son más susceptibles a la oxidación. Debido a que se transporta menos colesterol en el núcleo de las partículas pequeñas de LDL que en el núcleo de las partículas grandes, los sujetos con partículas de LDL predominantemente pequeñas tienen un mayor número de partículas a niveles de colesterol LDL comparables (135).

Generalmente, cuando escuchamos el término "enfermedad microvascular" asociado con la diabetes, se suele pensar en retinopatía, nefropatía y neuropatía. Los pequeños vasos de todo el cuerpo se ven afectados por la diabetes, incluidos los del cerebro, el corazón y la vasculatura periférica. Este daño de los vasos pequeños generalmente no está relacionado con la aterosclerosis y no se predice por los niveles de lípidos. Mientras que la aterosclerosis es la principal amenaza para la macrovasculatura, una variedad de mecanismos celulares y moleculares contribuyen a la enfermedad microvascular en la diabetes.

La diabetes contribuye a defectos en el sistema nervioso autónomo, el endotelio y el metabolismo local, todo lo cual puede resultar en una enfermedad microvascular. La neuropatía diabética autonómica (NDA) es un factor asociado con la alteración de la autorregulación del flujo sanguíneo en una variedad de lechos vasculares, incluida la piel y el corazón. Los pacientes con NDA tienen

mayores tasas de muerte cardíaca súbita, así como una mayor tasa de mortalidad cardiovascular general (136).

Por lo tanto, los niveles altos de azúcar en sangre pueden dañar los vasos sanguíneos y los nervios que controlan su corazón. Las personas con diabetes también tienen más probabilidades de tener otras afecciones que aumentan el riesgo de enfermedad cardíaca, como un alto contenido en triglicéridos en la sangre, en parte por acción de la insulina regula el flujo de lípidos y promueve la actividad de la enzima lipoproteína lipasa, que media la absorción de ácidos grasos libres en el tejido adiposo (almacenamiento) y también suprime la actividad de la enzima lipasa sensible a hormonas, lo que reduce la liberación de ácidos grasos libres a la circulación (137). Aunque la diabetes tipo 2 está determinada principalmente por el estilo de vida y los genes, la composición de la dieta puede afectar tanto su desarrollo como sus complicaciones. La grasa de la dieta es de particular interés porque los ácidos grasos influyen en el metabolismo de la glucosa al alterar la función de la membrana celular, la actividad enzimática, la señalización de la insulina y la expresión génica.

1.4.3 Hipertensión y riesgo cardiovascular

La hipertensión arterial (HTA) es un trastorno complejo y multifactorial con muchos factores genéticos, ambientales y demográficos que contribuyen a la variación de la presión arterial (PA). La naturaleza compleja de los mecanismos reglamentarios involucrados hace que sea difícil identificar un sistema patológico único de primera importancia en la regulación de la presión arterial, afecta al 15-20% de la población adulta en las sociedades occidentales. La HTA es un importante desafío para la salud pública tanto en los países económicamente en desarrollo como en los países desarrollados. Un número significativo de personas con hipertensión no son conscientes de su condición y, entre las personas con hipertensión diagnosticada, el tratamiento es con frecuencia inadecuado (138). Asimismo, la HTA se clasifica como hipertensión primaria (esencial) o secundaria. El primer tipo se utiliza para describir la hipertensión sin una patología conocida. Esta forma de la enfermedad constituye aproximadamente el 90-95% de todos los casos de hipertensión; mientras que en el 5% de los casos, se sabe que la causa de la hipertensión es secundaria a otras afecciones

(feocromocitoma, síndrome de Conn, el síndrome de Cushing, enfermedades renales o fármaco inducido) (139).

Cabe resaltar que la HTA se ha definido por los niveles de PA por encima de los cuales la disminución de la PA reducirá el riesgo cardiovascular asociado con la PA elevada. Este nivel ha sido clásicamente 140/90 mmHg según los criterios de la OMS. Sin embargo, ahora sabemos que el riesgo cardiovascular aumenta progresivamente desde niveles tan bajos como 115/75 mmHg hacia arriba, duplicando la incidencia tanto de enfermedad coronaria como de accidente cerebrovascular por cada incremento de 20/10 mmHg de la PA (140).

La hipertensión es uno de los factores de riesgo más importantes para las ECV, sus complicaciones de morbilidad y mortalidad tienen un gran impacto en la calidad de vida y la supervivencia del paciente. La OMS clasifica a la HTA como una de las causas más importantes de muerte prematura en todo el mundo (141). En Europa, más del 50% de las muertes por ECV son atribuibles a una PAS elevada. Los niveles medios de presión arterial (PA) varían entre las minorías étnicas y la población de acogida europea y la carga de ECV mediada por hipertensión no se distribuye por igual entre poblaciones de diferentes orígenes étnicos (142).

La terapia para reducir la PA (es decir, medicación, modificación del estilo de vida) da como resultado una reducción considerable de la morbilidad y mortalidad por ECV y la detección temprana, el tratamiento adecuado y el control de la hipertensión pueden conducir a importantes beneficios económicos y de salud (142). Sin embargo, a nivel mundial, más de la mitad de los adultos con hipertensión no es consciente de su condición y menos de la mitad lo es, de los cuales el 37% recibe tratamiento y el 37% de los que reciben medicación antihipertensiva tienen su PA adecuadamente controlada (143).

Se ha demostrado que la optimización del control de la presión arterial mejora los resultados generales de salud. Además de las terapias farmacológicas, el enfoque no farmacológico, como la modificación dietética, desempeña un papel importante en el control de la presión arterial. Los estudios epidemiológicos encontraron que la presión arterial o la hipertensión tenían asociaciones con los minerales como el potasio, el magnesio y el calcio, y la fibra (inversa) y las grasas dietéticas (directa). Sin embargo, los ensayos clínicos encontraron que los efectos sobre la presión arterial de estos y otros nutrientes estudiados individualmente

fueron pequeños e inconsistentes, algunos de estos nutrientes tienen evidencia clara de su recomendación (potasio efecto reductor moderado), algunos siguen siendo controvertidos y todavía están en estudio en curso (144).

Las poblaciones que consumen principalmente dietas vegetarianas tienen niveles de presión arterial más bajos que aquellos que comen dietas omnívoras. Los hallazgos epidemiológicos sugieren que comer frutas y verduras reduce la presión arterial. La dieta DASH (The Dietary Approaches to Stop Hypertension) rica en frutas, verduras, productos lácteos bajos en grasas, cereales integrales, frutos secos y pescado con una cantidad reducida de carne roja, grasa, alimentos y bebidas endulzados con azúcar, y/o una dieta vegetariana, que también es alta en verduras y frutas y baja en proteína animal, puede ofrecer una alternativa a la terapia farmacológica en hipertensos y, como enfoque poblacional, puede prevenir la hipertensión.

1.4.4 Menopausia y riesgo cardiovascular

La menopausia es la pérdida de la función ovárica y de la función reproductiva en la mujer por agotamiento de los folículos del ovario; en el orden práctico se considera cuando transcurren 12 meses del cese de la menstruación (145). En este estado se producen cambios que incrementan el riesgo de ECV, entre los que se destacan el incremento de la grasa visceral, la resistencia a la insulina (RI), el aumento del colesterol y de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) o cambios en su patrón, la elevación de los triglicéridos (TG) y una reducción de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Otros factores genéticos y asociados a estilos de vida como el tabaquismo acrecientan este riesgo (146).

La menopausia es una etapa muy importante ya que en ella convergen una serie de factores de riesgo que pueden agudizarse. Cerca del 60% de las mujeres menopáusicas tienen una enfermedad crónica y son las enfermedades cardiovasculares (ECV) las principales causas de morbilidad y mortalidad a partir de esta época, lo cual podría estar relacionado con los cambios metabólicos que ocurren durante la transición de un estado pre a uno post menopáusico (147). Por lo tanto, las mujeres menopáusicas representan un grupo con mayores probabilidades de muerte por ECV, que requieren una atención más integral para atenuar estos problemas (148). Asimismo, se indica que la enfermedad

cardiovascular es la principal causa de muerte en mujeres mayores de 50 años. Previo a la menopausia, el riesgo cardiovascular es muy inferior al de los hombres; después de ella, el riesgo aumenta aparentemente relacionado a la deficiencia estrogénica que se asocia a mayor prevalencia múltiples factores de RCV. De hecho, el National Cholesterol Education Program (NCEP) ha reconocido a la postmenopausia como un factor de RCV en la misma medida que los hombres. Generalmente la ECV comienza 10 años más tarde en las mujeres que en los hombres y no es usual observar un infarto agudo de miocardio en el sexo femenino antes de los 50 años (149), lo que hace pensar que las mujeres premenopáusicas están protegidas para ECV, en comparación con hombres de la misma edad. Sin embargo, a los 70 años la incidencia de estas enfermedades es igual en ambos sexos, lo que sugiere que la deficiencia de estrógenos causa una rápida aceleración en el riesgo de presentar enfermedades cardíacas y vasculares (149).

El RCV en este contexto, resulta difícil separar de los efectos fisiológicos de la edad y de los procesos mediados por el déficit estrogénico de la menopausia. Diversos estudios que han evaluado la relación entre menopausia y aterosclerosis han encontrado diversos resultados. Un estudio mostró que el 45% de las mujeres posmenopáusicas tienen engrosamiento de la íntima en la carótida con significado clínico, comparado con el 16% de las mujeres premenopáusicas (150); este engrosamiento de la íntima ha mostrado ser un buen predictor de riesgo de ECV (151). Otras medidas como la determinación de aterosclerosis en la aorta, la extensión de su calcificación y los depósitos de calcio en las arterias coronarias, han mostrado mayores índices en mujeres posmenopáusicas (152).

Así también, la transición que experimenta la mujer durante la menopausia se asocia con el desarrollo de características propias del síndrome metabólico, entre las que se encuentran: aumento de la grasa central abdominal, alteración del perfil lipídico y resistencia a la insulina. Por esta razón, la prevalencia de síndrome metabólico se incrementa con la menopausia hasta en un 60%, al mezclarse variables como la edad, IMC, inactividad física entre otras (153,154). El déficit estrogénico propio de esta etapa se acompaña también de un incremento en la incidencia de algunas condiciones médicas como la osteoporosis y las ECV, lo que aumenta la mortalidad en este grupo etario (155). Este fenómeno puede explicar parcialmente el incremento en la incidencia de ECV observado después

de la menopausia. Lo anterior se podría explicar como resultado directo de la falla ovárica o indirectamente por consecuencias metabólicas de la distribución central de la grasa asociada a la deficiencia estrogénica (153,154,156). Por lo que, durante este periodo, el cuerpo de la mujer experimenta cambios físicos y emocionales como resultado a una serie de procesos endocrinológicos, biológicos y clínicos. Algunos síntomas de la menopausia, evaluados mediante una escala climatérica validada (más allá de los sofocos), se asocian con un empeoramiento de los factores de riesgo bioquímicos de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (157).

La menopausia es, por tanto, un factor de riesgo de ECV, ya que la abstinencia de estrógenos tiene un efecto perjudicial sobre la función cardiovascular y el metabolismo. La menopausia agrava muchos factores de riesgo tradicionales de ECV, incluyendo cambios en la distribución de grasa corporal de un ginoide a un patrón androide, reducción de la tolerancia a la glucosa, lípidos plasmáticos anormales, aumento de la presión arterial, aumento del tono simpático, disfunción endotelial e inflamación vascular (158). Muchos factores de riesgo de ECV tienen diferentes impactos en hombres y mujeres. En las mujeres posmenopáusicas, el tratamiento de la hipertensión arterial y la intolerancia a la glucosa deben ser prioridades, puesto que se ha observado una asociación significativa entre una edad más joven en la menopausia y un mayor riesgo de cardiopatía coronaria entre las mujeres que experimentaron la menopausia natural y nunca usaron terapia hormonal. (158). Sin embargo, el reemplazo hormonal en mujeres posmenopáusicas mayores después de un evento coronario agudo puede no conferir protección cardiovascular y puede aumentar el riesgo de enfermedad tromboembólica (159).

Así también, se ha determinado las diferencias del perfil lipídico entre mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas, donde observan que las lipoproteínas son significativamente más altas en las mujeres posmenopáusicas en comparación con las mujeres premenopáusicas, y respecto a los valores de lípidos, también son más elevados en los triglicéridos, colesterol total, y colesterol LDL; pero no se observa diferencia en los niveles de HDL entre las mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas; y las diferencias en los niveles de lípidos se atribuyeron en parte a la diferencia de edad media entre las mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas. Estos hallazgos son importantes ya que

proporcionan estimaciones precisas de las diferencias de lípidos en las mujeres en torno a la menopausia. Además, los resultados sugieren que el perfil lipídico desfavorable que se desarrolla en las mujeres posmenopáusicas las pone en mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares como enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares si no se implementan las intervenciones farmacológicas / estilo de vida adecuadas (160).

1.5 ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo es un fenómeno causado por un desequilibrio entre la producción y acumulación de especies oxidantes (especies reactivas de oxígeno, ERO y especies reactivas de nitrógeno, ERN) en células y tejidos y la baja capacidad de un sistema biológico para eliminar estos productos reactivos. Las ERO/ERN pueden desempeñar, y de hecho lo hacen, varias funciones fisiológicas (entre ellas, señalización celular) y normalmente se generan como subproductos del metabolismo del oxígeno. Factores de estrés ambiental (rayos ultravioleta, radiaciones ionizantes, contaminantes y metales pesados, etc.) y xenobióticos (por ejemplo, tabaco, fármacos, dietas hipercalóricas, etc.) contribuyen a aumentar en gran medida la producción de ERO/ERN, lo que provoca el desequilibrio que conduce al daño celular y tisular (estrés oxidativo). Este mecanismo tiene una estrecha relación con el desarrollo y evolución de una gran variedad de procesos degenerativos, enfermedades y síndromes, como cáncer, Alzheimer, Parkinson, diabetes y ECV.

Diversos estudios se han centrado principalmente en el conocimiento de los mecanismos de su origen y las formas de atenuar, disminuir o contrarrestar las especies oxidantes, por medio de los sistemas de defensa antioxidante que posee la célula y la forma de controlar los radicales libres y otras especies oxidantes que se generan de forma normal y de manera continua en el organismo como resultado de algunos procesos celulares, relacionados con el metabolismo oxidativo de la mitocondria, necesario para la obtención de adenosín trifosfato (ATP) (161). Así también, los radicales libres y otras especies oxidantes pueden ser generados por fuentes exógenas.

La activación de las células inmunitarias, la inflamación, la isquemia, la infección, el cáncer, el ejercicio de elevada intensidad, el estrés mental y el

envejecimiento son, entre otras muchas causas, responsables de la producción endógena de radicales libres. La producción exógena de radicales libres puede ocurrir como resultado de la exposición a contaminantes ambientales, metales pesados (Cd, Hg, Pb, Fe y As), ciertos medicamentos (ciclosporina, tacrolimus, gentamicina y bleomicina), solventes químicos, tratamientos culinarios (carne ahumada, aceite reutilizado), humo de cigarrillo, alcohol y radiaciones (162,163). Cuando estos compuestos exógenos penetran en el cuerpo, se degradan o metabolizan y se generan radicales libres como subproductos.

Resulta paradójico pensar que el oxígeno, un elemento indispensable para la vida, bajo ciertas situaciones tenga efectos perjudiciales en el cuerpo humano (161). La mayoría de los efectos potencialmente dañinos del oxígeno se deben a la formación y actividad de los compuestos químicos ERO/ERN, que tienen una tendencia a donar oxígeno a otras sustancias. Los radicales superóxido ($O_2\cdot$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), hidroxilo ($OH\cdot$) y oxígeno singlete (1O_2) son especies reactivas de oxígeno comúnmente definidas y son generados como subproductos metabólicos por sistemas biológicos. Los procesos, como la fosforilación de proteínas, la activación de varios factores de transcripción, la apoptosis, la inmunidad y la diferenciación, dependen de una producción y presencia adecuadas de ERO/ERN dentro de las células que, deben mantenerse en un nivel bajo. Cuando aumenta la producción de ERO/ERN, comienzan a mostrar efectos nocivos sobre las estructuras celulares importantes como son las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (ADN) (164). Una amplia evidencia muestra que el estrés oxidativo puede ser responsable, con diferentes grados de importancia, de la aparición y/o progresión de varias enfermedades, como cáncer, diabetes, trastornos metabólicos, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (165).

Las ERO son producidas principalmente por mitocondrias, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, es decir, $O_2\cdot$ puede formarse por respiración celular, por lipoxigenasas (LOX) y ciclooxigenasas (COX) durante el metabolismo del ácido araquidónico, y por células endoteliales e inflamatorias (166). A pesar del hecho de que estos órganos tienen una capacidad intrínseca de captación de ERO, vale la pena señalar que esto no es suficiente para abordar la necesidad celular de eliminar la cantidad de ERO producidos en determinadas circunstancias. Las células despliegan un sistema defensivo antioxidante basado principalmente en componentes enzimáticos, como superóxido dismutasa (SOD),

catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), para protegerse del daño celular inducido por ERO (167).

Los procesos de transferencia de electrones o de absorción de energía pueden generar las especies reactivas de oxígeno que involucran, tanto a los radicales libres de oxígeno como a las moléculas no radicales derivadas de este mismo elemento y de nitrógeno. Cuando el oxígeno oxida un compuesto este se reducirá gracias a la ganancia de electrones, es decir, al adicionar un electrón al oxígeno cuando este se encuentra en estado fundamental se forma el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), si se añade otro electrón como producto se obtendrá el anión peróxido, el cual no es un radical libre ya que no posee electrones desapareados. De la misma forma, cuando se da la reducción parcial del oxígeno por aceptación de dos electrones se da paso a la formación de peróxido de hidrogeno. Sin embargo, la unión que se da entre O-O en el peróxido de hidrogeno es muy débil y se puede llegar a descomponer dando así origen al radical hidroxilo (OH^{\bullet}), el cual posee una alta reactividad. Sin embargo, cuando el oxígeno acepta cuatro electrones se forma una molécula de agua (H_2O), El oxígeno en el proceso de reducción parcial también puede absorber energía de nuevo y pasar a un estado excitado de mayor reactividad y energía, denominado oxígeno singlete (Tabla 5) (162).

Tabla 5. Características de las especies reactivas de oxígeno

ERO	Símbolo	Característica
Superóxido	$O_2^{\bullet-}$	Oxidante débil
Hidroperóxido	HO_2	Oxidante más fuerte que O_2
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	Oxidante, se difunde a través de las membranas
Hidroxilo	OH^{\bullet}	Extremadamente reactivo, se difunde solo a muy baja distancia
Alcoxilo	$LO^{\bullet+}$	Menos reactiva que OH^+ , pero más que peroxilo
Peroxilo	LOO^{\bullet}	Baja habilidad oxidante, pero gran difusibilidad
Oxígeno singlete	1O_2	Potente agente antioxidante

Por lo tanto, se puede afirmar que el estrés oxidativo y las ERO por su alta reactividad pueden llegar a causar diferentes daños a nivel celular, como: oxidación de lípidos (lipoperoxidación), de grupos sulfidrilo de las proteínas, de bases púricas y pirimidínicas (165), generando alteraciones celulares que pueden ser el primer paso para el desarrollo de patologías, que afectan a diferentes tejidos y sistemas, siendo así uno de los daños más importantes y generalizados para la salud humana.

Pero, cuando se mantienen en concentraciones bajas o moderadas, los radicales libres desempeñan varias funciones beneficiosas para el organismo. Por ejemplo, son necesarios para sintetizar algunas estructuras celulares y para que el sistema de defensa del huésped los utilice para combatir los patógenos. De hecho, los fagocitos sintetizan y almacenan radicales libres para poder liberarlos cuando haya que destruir microbios patógenos invasores (162).

1.5.1 Estrés oxidativo y patologías asociadas a ECV

En condiciones fisiológicas, las ERO se producen en concentraciones bajas y actúan como una molécula de señalización que regula la contracción y relajación de las células del músculo liso vascular y participa en el crecimiento del músculo liso. Y en condiciones fisiopatológicas, estos radicales libres desempeñan papeles importantes en diversas afecciones, que incluyen aterosclerosis, lesión por isquemia-reperfusión, cardiopatía isquémica, arritmias, miocardiopatía e insuficiencia cardíaca congestiva.

En la actualidad, existen considerables datos bioquímicos, fisiológicos y farmacológicos que respaldan un vínculo entre los radicales libres y la lesión del tejido cardiovascular. Los principales factores de riesgo vascular, como la hipertensión, la dislipemia, la diabetes y el tabaquismo, están asociados con un aumento de marcadores en la producción de ERO vasculares. Existe evidencia acumulada que sugiere que las condiciones de la enfermedad están directa o indirectamente relacionadas con el daño oxidativo y que comparten un mecanismo común de daño molecular y celular. A medida que se aclaren estos mecanismos, será posible mejorar las técnicas de intervención clínica y farmacológica.

Durante los últimos años, los datos de investigación señalan que el estrés oxidativo debe considerarse una causa primaria o secundaria de muchas ECV. El estrés oxidativo actúa principalmente como desencadenante de la aterosclerosis (168). Es bien sabido que la formación de placas de ateroma resulta de una inflamación endotelial temprana, que a su vez conduce a la generación de ERO por macrófagos reclutados *in situ*. Las LDL circulantes se oxidan por acción de las especies reactivas de oxígeno, lo que conduce a la formación de células espumosas y acumulación de lípidos. El resultado de estos eventos es la formación de una placa aterosclerótica. Tanto los estudios *in vivo* como *ex vivo* proporcionan evidencias que apoyan el papel del estrés oxidativo en la aterosclerosis, isquemia, hipertensión, miocardiopatía, hipertrofia cardíaca e insuficiencia cardíaca congestiva (162, 169).

Los estudios sobre la aterosclerosis revelan la probabilidad de que la enfermedad pueda deberse a reacciones de radicales libres que involucran lípidos derivados de la dieta en la pared arterial y suero, para producir peróxidos y otras sustancias (170). Estos compuestos inducen lesiones celulares endoteliales y producen cambios en las paredes arteriales.

Diversos estudios experimentales y clínicos han indicado que el aumento de la generación de ERO está implicado en la patogenia de la insuficiencia cardíaca. Las ERO estimulan el crecimiento del miocardio, la remodelación de la matriz y la disfunción celular mediante la activación de varias quinasas de señalización de hipertrofia y factores de transcripción (171).

La fibrilación auricular (FA) representa la arritmia más común en la práctica clínica. El riesgo de fibrilación auricular aumenta con el envejecimiento, y ocurre en menos del 1% de las personas de 60 a 65 años, pero en el 8 al 10% de las mayores de 80 años. Tanto los datos en humanos como en animales han establecido el papel del estrés oxidativo en la patogénesis de la fibrilación (172), lo que se sustenta en el hecho de que los fármacos antioxidantes son capaces de influir positivamente en el desarrollo de FA.

En base de la prevalencia de las ECV y el papel de las ERO en muchas patologías del sistema cardiovascular, durante mucho tiempo ha habido interés en la aplicación de antioxidantes naturales y el desarrollo de agentes antioxidantes químicos para aliviar o prevenir las ECV. Existe evidencia con respecto a la dieta y nutraceúticos, es decir de los efectos beneficiosos que los

compuestos activos contenidos en los alimentos tienen sobre la salud humana, sobre la prevención y el tratamiento del estrés oxidativo en distintas ECV (173).

El estrés oxidativo y la inflamación deben considerarse como factores contribuyentes y no como los mecanismos fisiopatológicos primarios. Por lo tanto, no es sorprendente que muchos ensayos clínicos que investigan los antioxidantes hayan sido negativos. El beneficio de los agentes antioxidantes varía según el estado oxidativo de cada individuo, y las personas que tienen niveles elevados de estrés oxidativo se benefician más que las personas con cantidades ya bajas de ERO, ya que las ERO también desempeñan un papel fisiológico crucial en la homeostasis celular. Otro factor importante a tener en cuenta es el estado nutricional de cada individuo. Una dieta equilibrada en los países de ingresos altos proporciona cantidades más que suficientes de vitaminas, por lo que es poco probable que una suplementación adicional de vitaminas confiera algún beneficio y, de hecho, pueda inducir un daño. Sin embargo, es de notar que los ensayos recientes han mostrado una mortalidad reducida con terapias antioxidantes (ej. Té verde, flavonoides, dieta mediterránea). Dichos ensayos, teniendo en cuenta los puntos fuertes y las limitaciones, muestran que el estrés oxidativo juega un papel fundamental en las ECV y que la reducción del estrés oxidativo reduce la mortalidad cardiovascular y por todas las causas (174).

1.5.2 Daño oxidativo a biomoléculas

Una de las consecuencias del estrés oxidativo descontrolado (desequilibrio entre los niveles de prooxidante y antioxidante a favor de los prooxidantes) es la lesión de células, tejidos y órganos causada por el daño oxidativo. Los radicales libres atacan macromoléculas importantes que conducen al daño celular y a la interrupción homeostática. Los objetivos de los radicales libres incluyen todo tipo de moléculas en el cuerpo, entre ellos, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos son los principales objetivos, el daño causado a estas macromoléculas, eventualmente conduce a necrosis y muerte celular apoptótica. Ya que las biomoléculas dañadas por oxidación deterioran las funciones celulares y contribuyen a la patología de una variedad de enfermedades.

1.5.2.1 Daño a los lípidos

Se ha reconocido desde hace mucho tiempo que los altos niveles de radicales libres o ERO, pueden causar daño directo a los lípidos. Las fuentes primarias de producción de ERO endógenas son las mitocondrias, la membrana plasmática, el retículo endoplásmico y los peroxisomas (175), a través de una variedad de mecanismos que incluyen reacciones enzimáticas y / o autooxidación de varios compuestos, como catecolaminas e hidroquinona. Diferentes estímulos exógenos, como la radiación ionizante, los rayos ultravioleta, el humo del tabaco, las infecciones por patógenos, las toxinas ambientales y la exposición a herbicidas / insecticidas, son fuentes de producción de ERO in vivo, como ya se indicó previamente.

Durante las últimas cuatro décadas, una extensa literatura sobre la peroxidación de lípidos ha demostrado su importante papel en la biología celular y la salud humana. La peroxidación lipídica es un daño oxidativo que afecta las membranas celulares, las lipoproteínas y otras moléculas que contienen lípidos en condiciones de estrés oxidativo. Asimismo, puede describirse generalmente como un proceso en el que oxidantes tales como radicales libres atacan lípidos que contienen dobles enlaces carbono-carbono, especialmente AGPI (176). Los lípidos de la membrana celular suelen representar sustratos de ataque oxidativo. Además, la peroxidación de lípidos es una reacción en cadena y es creada por radicales libres que influyen en los AGPI de las membranas celulares, lo que provoca su daño. Los radicales libres son iniciadores y terminadores de los procesos de peroxidación lipídica. Una vez activada, la reacción continúa autocatalíticamente; tiene un curso progresivo, y su resultado final son cambios estructurales y funcionales de sustrato (177). Los intermediarios reactivos, producidos por el estrés oxidativo, puede alterar las capas secundarias de la membrana y causar la peroxidación lipídica de los AGPI, dando lugar a la formación del radical lipoperoxilo ($\text{LOO}\bullet$), que, en a su vez, reacciona con un lípido para producir un radical lípido y un lípido hidroperóxido (LOOH). Los LOOH son inestables: generan nuevos radicales peroxilo y alcoxi y se descomponen en productos secundarios (178).

De este proceso de autooxidación iniciado por el ataque de especies oxidantes, radicales libres o sustancias neutras (por ejemplo, $\text{OH}\bullet$, $\text{O}_2\text{-}\bullet$ y H_2O_2)

sobre fosfolípidos o AGPI de las membranas de componentes celulares o subcelulares, resulta la formación de varios tipos de aldehídos, cetonas, alcanos, ácidos carboxílicos y productos de polimerización. Estos productos son altamente reactivos con otros componentes celulares y la matriz extracelular; sirven como biomarcadores de la peroxidación lipídica (Figura 7) (176).

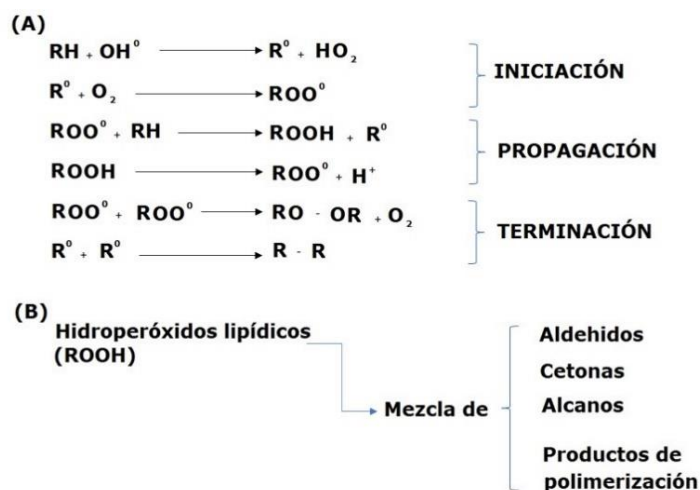


Figura 7. Reacción en cadena de la peroxidación lipídica (179).

Por lo tanto, la formación de radicales libres estimula la peroxidación lipídica en biomembranas y la constante fragmentación de las cadenas laterales de ácidos grasos produce aldehídos e hidrocarbonatos, lo que al final conduce a la pérdida de la integridad de la membrana. Se observó que la ingesta crónica de algunos metales pesados (plomo y cadmio) estimula significativamente la reacción peroxidativa (180).

Así también, la peroxidación de lípidos puede causar entrecruzamiento mutuo y polimerización de los componentes de la membrana. De esta forma, la membrana celular puede modificarse en su contenido lipídico y así modificar su función celular. La inducción de ERO y la oxidación de lípidos puede conducir a cambios importantes en la función de la membrana, como la modificación del potencial transmembrana (despolarización), la liberación y división de calcio mitocondrial y la activación de caspasas-3, fragmentación del ADN y apoptosis (181).

Para prevenir el daño de ERO, las células poseen varias enzimas antioxidantes como superóxido dismutasas (MnSOD y Cu/ZnSOD), que se encuentran en las mitocondrias y el citosol, respectivamente, donde convierten superóxido en peróxido de hidrógeno (182). La descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno es catalizada adicionalmente por la catalasa. Otro mecanismo de defensa antioxidante incluye antioxidantes no enzimáticos como el glutatión (GSH), que funciona en el sistema celular tiol / disulfuro (183).

Amplia evidencia sugiere que el estrés oxidativo y la peroxidación de lípidos resultante están involucrados en varios y numerosos estados patológicos que incluyen inflamación, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas y cáncer.

1.5.2.2 Daño a las proteínas

La modificación oxidativa de proteínas por especies reactivas, especialmente especies reactivas de oxígeno, está implicada en la etiología o progresión de un conjunto de trastornos y enfermedades. Estas especies reactivas se forman a través de una gran cantidad de reacciones fisiológicas y no fisiológicas. Un aumento en la tasa de su producción o una disminución en su tasa de eliminación aumentará la modificación oxidativa de las moléculas celulares, incluidas las proteínas. En su mayor parte, las proteínas modificadas oxidativamente no se reparan y deben eliminarse mediante degradación proteolítica, y una disminución en la eficacia de la proteólisis provocará un aumento en el contenido celular de proteínas modificadas oxidativamente. El nivel de estas moléculas modificadas se puede cuantificar midiendo el contenido de carbonilos de la proteína, que se ha demostrado que aumenta en una variedad de enfermedades y procesos, sobre todo durante el envejecimiento. La acumulación de proteínas modificadas altera la función celular, ya sea por la pérdida de la integridad catalítica y estructural o por la interrupción de las vías reguladoras.

La oxidación de proteínas puede implicar la escisión de la cadena polipeptídica, la modificación de las cadenas laterales de aminoácidos y la conversión de la proteína en derivados que son muy sensibles a la degradación proteolítica. A diferencia de otros tipos de modificación (excepto la oxidación de cisteína), la oxidación de residuos de metionina a sulfóxido de metionina es

reversible; por tanto, la oxidación cíclica y la reducción de residuos de metionina conduce al consumo de ERO y, por tanto, aumenta la resistencia de las proteínas a la oxidación (184). La importancia de la oxidación de proteínas en el envejecimiento está respaldada por la observación de que los niveles de proteínas oxidadas aumentan con la edad.

Por lo tanto, la importancia de la oxidación de las proteínas hacia la homeostasis celular se deriva del hecho de que las proteínas cumplen funciones vitales en la regulación de la estructura celular, la señalización celular y los diversos procesos enzimáticos de la célula. Además, la oxidación de proteínas al contribuir rápidamente al estrés oxidativo puede afectar directamente la señalización celular, la estructura celular y los procesos enzimáticos como el metabolismo. Existen muchas y diferentes formas de inducir la oxidación de proteínas, incluida la oxidación catalizada por metales, la escisión inducida por oxidación, la oxidación de aminoácidos y la conjugación de productos de peroxidación de lípidos.

Las ERO pueden inducir la escisión de enlaces peptídicos en proteínas a través de dos vías separadas: la vía de la diamida y la vía de la amidación α (185). El radical hidroxilo, generado a partir de la radiólisis de agua o generado a partir de H_2O_2 , reacciona con las proteínas para formar agua y un radical centrado en carbono (radical alquilo). Este radical puede entonces reticularse con otros radicales alquilo y formar agregados de proteínas o reaccionar con O_2 para generar un radical alquil-peróxido. A continuación, este se puede convertir, mediante la acción de Fe (II) o $HO_2\bullet$, en peróxido de alquilo. El peróxido de alquilo puede reaccionar entonces con Fe (II), $HO_2\bullet$ o mediante una reacción de dismutación, para producir un radical alcoxilo (185). La escisión del enlace peptídico también se puede obtener mediante la reacción del radical libre $OH\bullet$ con los residuos glutamilo, prolilo y aspartilo de la cadena proteica (186). Por otro lado, a pH fisiológico, el ozono reacciona con el agua produciendo radicales libres como $OH\bullet$ que puede promover la oxidación de aminoácidos.

Así también, varios aminoácidos pueden modificarse directamente mediante reacciones de cadena lateral con ERO. Los aminoácidos más sensibles son los que tienen grupos aromáticos de cadena lateral y los que contienen grupos sulfhidrilo. En términos de aminoácidos aromáticos de cadena lateral, la oxidación inducida por ERO puede ocurrir a través de una variedad de intermedios, es decir, por

cualquiera de un gran número de procesos fisiológicos y no fisiológicos, como se ilustra en la Figura 8.

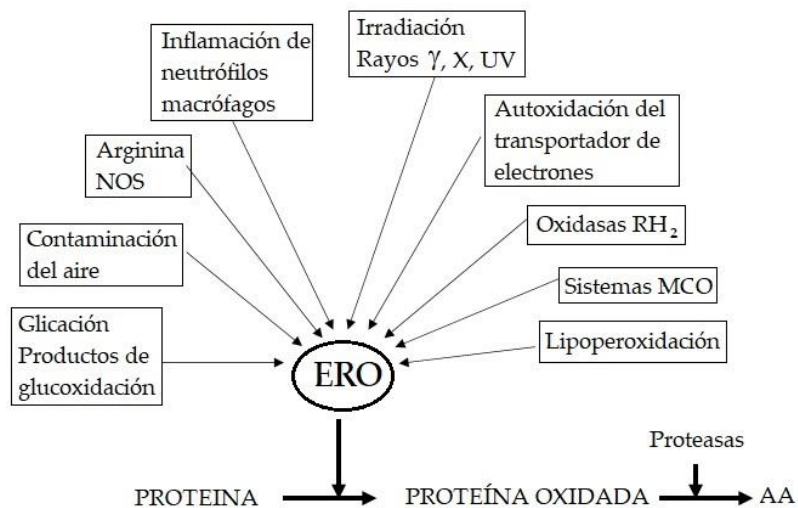


Figura 8. Relación entre la generación de especies reactivas de oxígeno y la oxidación y degradación de proteínas. NOS: óxido nítrico sintasa, MCO: oxidación catalizada por metales, AA: aminoácidos (184).

La oxidación de un número limitado de proteínas metabólicas puede tener un impacto dramático y perjudicial en el estado energético general de la célula y, por lo tanto, inducir rápidamente una disfunción celular a través de un número limitado de eventos de oxidación de proteínas. Es probable que la capacidad de las células para prevenir la oxidación de proteínas metabólicas, o para reparar o reemplazar proteínas metabólicas después de la oxidación, sea un predictor importante de cómo las células pueden responder con éxito a los factores de estrés oxidativo (187).

Por lo tanto, se sugiere que el daño oxidativo a las proteínas juega un papel crucial en el envejecimiento, porque las proteínas oxidadas pierden la función catalítica y se hidrolizan preferentemente (188). Se plantea la hipótesis de que el daño oxidativo a proteínas específicas constituye uno de los mecanismos que vinculan el estrés/daño oxidativo y las pérdidas en las funciones fisiológicas asociadas a la edad.

Uno de los procesos más importantes para mantener la homeostasis es la capacidad de los sistemas proteolíticos para eliminar las proteínas oxidadas y dañadas. Las células degradan las proteínas oxidadas a través de la vía proteasómica y la vía lisosomal. La proteasómica se considera la principal vía responsable de la degradación y eliminación de proteínas "levemente" oxidadas (185-188) y está involucrado en la regulación de proteínas involucradas en varias actividades celulares como el ciclo celular.

1.5.2.3 *Daño al ADN*

Las células están continuamente expuestas a numerosos agentes exógenos y endógenos que dañan el ADN, estos agentes o factores incluyen sustancias químicas, radiación, radicales libres y cambios topológicos, cada uno de los cuales causa distintas formas de daño. El daño al ADN se refiere a cambios físicos o químicos en el ADN de las células, que pueden afectar la interpretación y transmisión de la información genética, lo que puede resultar en una pérdida de información genética, constituyendo un daño más persistente que cualquier daño de proteínas u otra molécula, ya que altera la replicación y la transcripción, causa la muerte celular y puede provocar mutaciones y transformación neoplásica en muchos organismos. Se cree que los efectos nocivos mediados por ERO contribuyen a las condiciones degenerativas humanas, incluidos los trastornos neurológicos (182), la disfunción cardíaca (189) y el cáncer (190), así como el proceso de envejecimiento (191). Aunque se ha demostrado que las ERO son perjudiciales para las células, también pueden funcionar como moléculas de señalización inducidas por el estrés (192). Informes recientes indican que el daño del ADN por sí solo da como resultado un aumento de los niveles de ERO intracelulares (193). En respuesta al estrés oxidativo, las células activan tanto los procesos de reparación del ADN como los factores de transcripción. Estos factores, a su vez, modulan los niveles de expresión de las enzimas de procesamiento y eliminación de ERO (194). Por ejemplo, el aumento de los niveles de ERO intracelulares causa modificaciones postraduccionales de uno de estos factores de transcripción, Yap1 (yeast activator protein), lo que resulta en la inducción de numerosos genes (195).

Las células han desarrollado procesos complejos para hacer frente al daño del genoma. Dependiendo de la naturaleza de la lesión en el ADN, se activan vías

específicas para facilitar la identificación de las regiones dañadas y su reparación. Una lesión particularmente peligrosa es la rotura de la doble hebra del ADN, que puede ser mutagénica debido a reordenamientos cromosómicos o pérdida de información genética debido a una reparación errónea del ADN. En respuesta al daño del ADN, se activa una red de eventos denominados colectivamente como respuesta al daño del ADN. Esta respuesta incluye el reconocimiento de daños en el ADN, la activación de puntos de control, la detención del ciclo celular y, finalmente, los resultados finales de la reparación, la apoptosis y la eliminación inmunitaria (196). El efecto de las ERO sobre otras vías de respuesta al daño del ADN (especialmente el daño oxidativo) se ha revisado ampliamente (197). La respuesta a la rotura de doble hebra es particularmente relevante en la carcinogénesis y la terapia del cáncer, ya que muchos de los componentes de la vía están mutados en el cáncer, y la mayoría de los tratamientos oncológicos actuales (quimioterapia y radioterapia) explotan estos defectos (198).

También se ha informado que las ERO inducen directamente otras formas de daño del ADN a través de la oxidación de las bases de nucleósidos (ejem. Formación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG)) (199). La acumulación de ERO también induce lesiones en el ADN mitocondrial, roturas de cadenas y degradación del ADN mitocondrial (200).

1.5.2.4 *Daño al ARN*

El ARN también es atacado por especies reactivas de oxígeno y el ARN oxidado se reconoce cada vez más como un contribuyente importante a las complicaciones neurodegenerativas en los seres humanos. Recientemente, se ha acumulado evidencia que apoya la noción de que el ARN de transferencia (ARNt) está involucrado en las respuestas celulares a diversas condiciones de estrés (201).

El daño oxidativo de los ácidos nucleicos se identificó como un contribuyente clave a la enfermedad de Alzheimer; la cantidad de 8-OH-dG, uno de los principales productos de la oxidación del ácido nucleico, aumenta en el cerebro y el líquido cefalorraquídeo de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. No solo el ADN, sino también hasta el 50% de los ARNm están dañados por oxidación en las áreas cerebrales afectadas de los pacientes con Alzheimer (202). Además, se cree que el daño oxidativo del ARNm contribuye no solo a la muerte de las células neuronales en la enfermedad de Alzheimer, sino

también a la patología de la enfermedad de Parkinson, la epilepsia, la aterosclerosis y la esclerosis lateral amiotrófica (caracterizada por la degeneración progresiva de las neuronas motoras) (203). Además del ARNm, los ARN ribosómicos (ARNr) y los ARNt también son el objetivo de ERO. La capacidad de unión a los iones reactivos de Fenton es mayor para el ARNr que para el ARNt, por lo que se encontró que el ARNr está más fuertemente oxidado que el ARNt (204). Aunque se han descrito mecanismos de reparación para el ARN modificado por alquilación (205), no se informó actividad de rescate para el ARN dañado por oxidación y se desconoce en gran medida cómo se distingue y marca el ARN dañado para su degradación.

1.6 BIOMARCADORES

El uso de biomarcadores en la investigación básica y clínica, así como en la práctica clínica se ha vuelto tan común que su presencia como puntos primarios y finales en los ensayos clínicos es de gran importancia. Los biomarcadores específicos han sido bien caracterizados y repetidamente demostrados para predecir correctamente los resultados clínicos relevantes en una variedad de tratamientos y poblaciones. Siendo una característica que se mide y evalúa objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patógenos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. La OMS define a los biomarcadores como cualquier sustancia, estructura o proceso que pueda medirse en el organismo, o sus productos, e influir o predecir la incidencia de resultados o enfermedades (206). Asimismo, tiene en cuenta no sólo la incidencia y el resultado de la enfermedad, sino también los efectos de los tratamientos, las intervenciones e incluso la exposición ambiental no deseada, los productos químicos o los nutrientes.

Los biomarcadores son los signos médicos más objetivos y cuantificables que la ciencia moderna del laboratorio nos permite medir reproduciblemente. El uso de biomarcadores, y en particular biomarcadores medidos en laboratorio, en la investigación clínica es algo más nuevo, y los mejores enfoques para esta práctica todavía se están desarrollando y perfeccionando. El tema clave en cuestión es determinar la relación entre cualquier biomarcador medible dado y las variables clínicas relevantes.

1.6.1 Biomarcadores de riesgo cardiovascular

Las tendencias actuales en la prevención primaria de ECV hacen hincapié en la necesidad de tratar a las personas en función de su riesgo cardiovascular global, es por ello que se considera importante conocer los biomarcadores y su mecanismo respectivo que le confieren niveles de riesgo o beneficio para las ECV.

La búsqueda de medidas eficaces para identificar pacientes con mayor riesgo de desarrollar complicaciones metabólicas y cardiovasculares constituye una estrategia prometedora en la prevención de las comorbilidades. Aunque, algunos autores indican que la necesidad de facilitar el manejo complejo de las enfermedades cardiometabólicas ha llevado a la detección de muchos biomarcadores, sin embargo, no existen explicaciones claras de su papel en la prevención, diagnóstico o pronóstico de estas enfermedades (207). Las moléculas asociadas con las vías de la enfermedad representan sustitutos válidos de la enfermedad y biomarcadores de ECV bien ajustados, ya que, las moléculas individuales sólo proporcionan datos sobre una pequeña parte de la molécula involucrada en los mecanismos complejos de las ECV, mientras que su integración conduce a datos multidimensionales.

Por lo que, para muchas enfermedades, existe una necesidad insatisfecha de biomarcadores nuevos o mejores para mejorar la evaluación y el seguimiento del riesgo de enfermedades, ya que los marcadores disponibles o convencionales muchas veces se indica que carecen de suficiente especificidad. Es así que, los lípidos están atrayendo un gran interés como posibles candidatos para llenar estos vacíos, que permitan una mejor evaluación del riesgo de enfermedad cardiovascular en comparación con los marcadores clínicos convencionales.

Una alternativa para medir la ingesta dietética podría ser utilizar análisis bioquímicos de ácidos grasos en fracciones de lípidos plasmáticos, plaquetas o membranas de glóbulos rojos o tejido adiposo subcutáneo como biomarcadores de la ingesta de ácidos grasos. Estos análisis pueden proporcionar información sobre la dieta que puede ser difícil de obtener de los cuestionarios, como el tipo de grasa utilizada en los alimentos preparados y el grado en que ha sido modificada por el procesamiento. Aunque son atractivas en principio, las concentraciones de ácidos grasos en sangre o tejidos deben interpretarse con cautela porque como se sabe las grasas saturadas y monoinsaturadas se pueden

sintetizar de forma endógena; por lo tanto, estas medidas pueden no reflejar la ingesta. Además, los niveles de ácidos grasos esenciales en las membranas o lipoproteínas a menudo están fuertemente regulados, por lo que su relación con la dieta puede ser débil y no lineal, en estudios de casos y controles,

Existe un interés creciente en la utilización de nuevos marcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular y, en consecuencia, existe la necesidad de evaluar el valor de su uso. Esto se ha demostrado recientemente mediante la identificación de ceramidas selectivas para la predicción de la mortalidad cardiovascular, lo que permite una mejor evaluación del riesgo de enfermedad cardiovascular en comparación con los marcadores clínicos convencionales (208).

1.6.1.1 Biomarcadores basados en lípidos

El colesterol total y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) son marcadores de riesgo potencialmente importantes para la hiperlipidemia (209). La asociación entre los niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL-c) y el riesgo de enfermedad coronaria (EC) está bien establecida y la reducción de LDL-c es actualmente el objetivo principal para el tratamiento de la dislipemia. Sin embargo, los bajos niveles de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL-c), y los altos niveles de triglicéridos (TG) también son factores de riesgo para la EC y la modificación de los niveles de estas subfracciones lipídicas, además de la reducción de LDL-c, pueden tener beneficios clínicos en muchos pacientes (210).

Así mismo, la presencia de niveles elevados de colesterol total en sangre se considera un factor de riesgo de ECV. La asociación americana del corazón define un nivel normal de colesterol total como menos de 200 mg / dL (53, 211, 212), mientras que un nivel de "límite alto" de colesterol sérico total es de 200 mg / dL a 239 mg / dL es y el nivel de colesterol superior a 240 mg / dL indica un mayor riesgo de enfermedad cardíaca. Los niveles de colesterol total en el límite alto pueden preceder a la dislipemia y las ECV graves en varios años o décadas (213). Por lo tanto, los niveles elevados de colesterol total y colesterol LDL son afecciones que representan el inicio de la dislipemia y además se informa que son factores críticos que contribuyen a la aterosclerosis, el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular (214).

Aunque la función principal de las HDL-c es la antiateroesclerosis (210), muchos estudios recientes han encontrado otras características múltiples de las HDL-c, que incluyen funciones antiinfecciosas, antiinflamatorias, antiapoptóticas o antioxidantes (215, 216). Además, se cree que las HDL-c desempeñan un papel protector en muchas enfermedades infecciosas. Se observó que los pacientes con niveles bajos de HDL mostraron un mayor riesgo de infección y un peor resultado (217). Incluso, un estudio evidenció que el HDL-c puede estar asociado con el pronóstico de los pacientes con COVID-19, ya que HDL-c en pacientes con COVID-19 se correlacionó con un mayor riesgo de desarrollar eventos graves (218). El colesterol de lipoproteínas de alta densidad extremadamente alto se asocia paradójicamente con una alta mortalidad en hombres y mujeres: dos estudios de cohortes prospectivos (216).

1.6.1.1.1 Lipoproteínas

Estos grandes complejos macromoleculares transportan lípidos hidrófobos (principalmente triglicéridos, colesterol y vitaminas liposolubles) a través de los fluidos corporales (plasma, líquido intersticial y linfa) hacia y desde los tejidos. Desempeñan un papel esencial en la absorción del colesterol de la dieta, los ácidos grasos de cadena larga y las vitaminas liposolubles. El transporte de triglicéridos, colesterol y vitaminas liposolubles del hígado a los tejidos periféricos; y el transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado.

Las lipoproteínas contienen un núcleo de lípidos hidrófobos (triglicéridos y ésteres de colesterol) rodeados de lípidos hidrófilos (fosfolípidos, colesterol no esterificado) y proteínas que interactúan con los fluidos corporales. Las lipoproteínas plasmáticas se dividen en cinco clases principales según su densidad relativa (Figura 9 y Tabla 6): quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Cada clase de lipoproteínas comprende una familia de partículas que varían ligeramente en densidad, tamaño y composición de proteínas. La densidad y tamaño de las lipoproteínas están inversamente relacionados. La densidad de una lipoproteína está determinada por la cantidad de lípido por partícula. La HDL es la lipoproteína más pequeña y densa, mientras que los quilomicrones y las VLDL son las partículas de lipoproteína más grandes y menos densas. La mayor parte

de los triglicéridos plasmáticos se transporta en quilomicrones o VLDL, y la mayor parte del colesterol plasmático se transporta como ésteres de colesterol en las LDL y HDL (219).

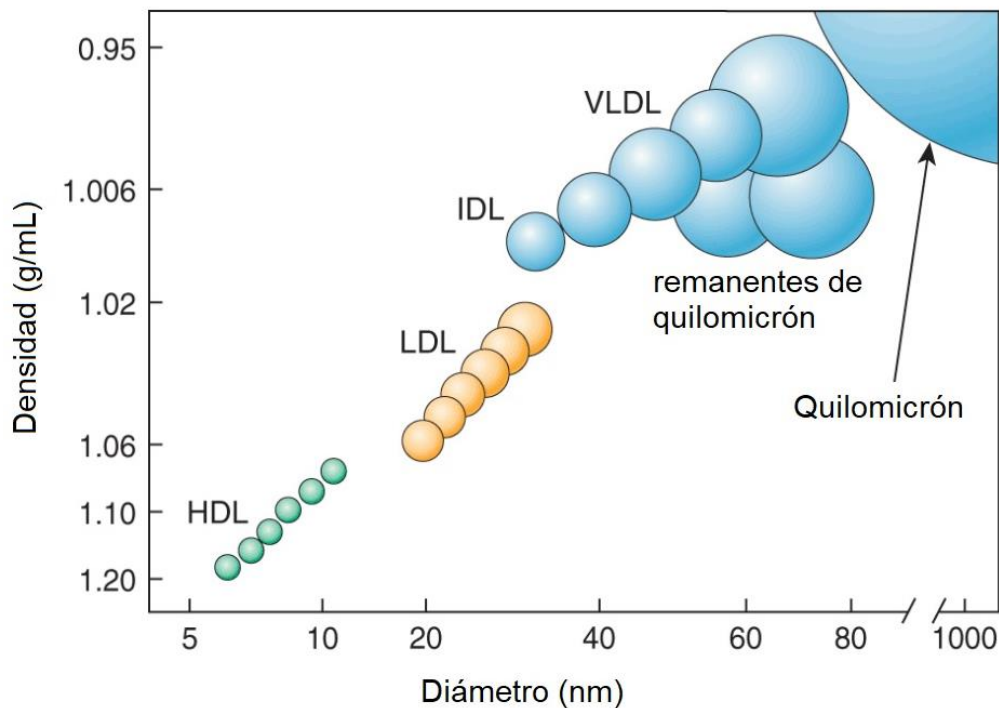


Figura 9. Distribución de densidad y tamaño de las principales clases de partículas de lipoproteínas. VLDL, lipoproteína de muy baja densidad; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LDL, lipoproteína de baja densidad; HDL, lipoproteína de alta densidad (219).

Los quilomicrones son partículas grandes ricas en triglicéridos producidas por el intestino, que participan en el transporte de los triglicéridos y el colesterol de la dieta a los tejidos periféricos y al hígado. Contienen apolipoproteínas AI, A-II, A-IV, AV, B-48, C-II, C-III y E. La Apo B-48 es la proteína estructural central y cada partícula de quilomicrones contiene una Apo B-48 molécula. El tamaño de los quilomicrones varía según la cantidad de grasa ingerida. Una comida rica en grasas conduce a la formación de grandes partículas de quilomicrones debido a la mayor cantidad de triglicéridos que se transportan, mientras que en el estado de

ayuno las partículas de quilomicrones son pequeñas y portan cantidades reducidas de triglicéridos (220). Los remanentes o restos de quilomicrones son el resultado de la eliminación de triglicéridos de los quilomicrones por los tejidos. Los quilomicrones como sus remanentes están relacionados a enfermedades coronarias y contribuyen tanto directa como indirectamente al inicio y desarrollo de la aterosclerosis (221).

Tabla 6. Características principales de las lipoproteínas (219)

Lipoproteína	Densidad (g/ml)	Movilidad electroforética	Tamaño (nm)	Lípido principales	Apolipoproteínas principales *
Quilomacrón	<0,93	Origen	75-1200	TG	B ₄₈ , A-I, A-II, A-IV, A-V, C-I, C-II, C-III, E*
Restos de quilomicrones	0,93-1,006				
VLDL	0,93-1,006	pre-β (α ₂)	30-100	TG	B ₁₀₀ , A-V, C-I, C-II, C-III, E
IDL	1,006-1,019	B	25-30	TG/COL	B ₁₀₀ , E
LDL	1,019-1,063	B	20	COL	B ₁₀₀
HDL	1,063-1,210	α (α ₁)	8-12	FL	A-I, A-II, A-IV, A-V, C-I, C-II, C-III, E
Lp (a)	1,055-1,085	pre-β ₁	25	COL	(a), B ₁₀₀

TG, Triglicéridos; COL, Colesterol; FL, Fosfolípidos.

* La composición apolipoproteica varía según el grado de maduración de la lipoproteína y de la subespecie específica.

La VLDL son producidas por el hígado y son ricas en triglicéridos. Contienen apolipoproteína B-100, CI, C-II, C-III y E. La Apo B-100 es la proteína estructural central y cada partícula de VLDL contiene una molécula de Apo B-100. De manera similar a los quilomicrones, el tamaño de las partículas de VLDL

puede variar dependiendo de la cantidad de triglicéridos transportados en la partícula. Cuando aumenta la producción de triglicéridos en el hígado, las partículas de VLDL secretadas son grandes. Sin embargo, las partículas de VLDL son más pequeñas que los quilomicrones (219).

IDL son partículas enriquecidas en colesterol, son el resultado de la eliminación de triglicéridos de VLDL por el tejido muscular y adiposo. Estas partículas contienen apolipoproteína B-100 y E. Estas partículas IDL son proaterogénicas (219).

La LDL deriva de partículas VLDL e IDL y están aún más enriquecidas en colesterol. La LDL transporta la mayor parte del colesterol circulante. La apolipoproteína predominante es B-100 y cada partícula de LDL contiene una molécula de Apo B-100. La LDL desempeña un papel central en aterogénesis y los niveles elevados de LDL se asocian a un riesgo creciente de enfermedad cardíaca coronaria (222). Los estudios ahora han revelado que LDL es estructural heterogéneo, basado en su tamaño y densidad. Un nivel elevado de LDL es un factor de riesgo muy bien establecido de enfermedad de las arterias coronarias. Las partículas de LDL son susceptibles a la oxidación, el LDL no oxidado es un vehículo de transporte inerte de colesterol y otros lípidos en el cuerpo y se cree que es aterogénico. Recientemente se ha apreciado que los productos oxidados de LDL son responsables de las propiedades de formación de placa que antes se atribuían a la partícula intacta (223).

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son una familia de partículas caracterizadas por su capacidad para transportar (transporte inverso) el colesterol desde los tejidos extrahepáticos al hígado para su metabolismo, donde se convierte en metabolitos útiles y finalmente se elimina del cuerpo a través de las secreciones biliares. Una familia de lipoproteínas lipasas, incluidas la lipasa hepática y la lipasa endotelial, están íntimamente implicadas en el metabolismo de las HDL. La lipasa endotelial se regula al alza durante la inflamación, una condición que aumenta la oxidación de LDL y la aterogénesis (224).

Las lipoproteínas HDL son macromoléculas con una densidad de 1.063-1.21 g/mL, pseudomicelares, constituidas por lípidos anfipáticos (fosfolípidos y colesterol libre), lípidos no polares (triglicéridos y ésteres de colesterol) y por apolipoproteínas. La HDL está compuesta en un 50% de proteínas (mayormente por apolipoproteína [apo] A-I), 25% de fosfolípidos, 4% de colesterol libre, 3% de

triglicéridos y 12% esteres de colesterol (225). Contiene también apolipoproteína A-II y en menor concentración se encuentran otras apolipoproteínas como A-IV, C-I, C-III, E, D y J (226).

Los procesos antiinflamatorios de la HDL, se da mediante la interacción con el endotelio vascular y células inflamatorias circulantes. La HDL-c limita el grado en que las células endoteliales se activan por citoquinas proinflamatorias, reduciendo la expresión de moléculas de adhesión. También puede modular el tono vascular afectando la producción de óxido nítrico, mediador clave de la contracción vascular de las células musculares (227).

Por lo indicado, la HDL está emergiendo como una fascinante lipoproteína con una compleja gama de funciones que involucran componentes tanto de proteínas como de lípidos. Se ha descubierto que el HDL influye en la función inmunitaria, la inflamación vascular, el metabolismo de la glucosa y la función plaquetaria (227), así como en otros fenómenos fisiológicos no relacionados con la ECV.

En contraste, otros marcadores, especialmente HDL y apoproteína ApoA-I, se relacionan con efectos antiinflamatorios en varios estudios clínicos en los que los biomarcadores, además pueden predecir mejor el fallo orgánico (228).

Las variaciones en los perfiles de lipoproteínas y el metabolismo están asociadas con enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus y las enfermedades cardiovasculares. Además, las alteraciones de los perfiles de lipoproteínas se han asociado con diferentes tipos de cáncer (229,230) y enfermedades autoinmunes (231,232). Motivo por el cual, se utilizan para controlar y evaluar el riesgo en las mencionadas enfermedades.

1.6.1.1.2 Subfracciones lipoproteicas

Asimismo, existe evidencia no concluyente que sugiere que la medición de las subfracciones de LDL y HDL mejora la evaluación clínica del RCV (233). Las subfracciones de LDL y HDL definidas por diferencias en el tamaño y la densidad de las partículas, se han asociado en diversos grados con el RCV. La evaluación de estas relaciones se ha visto empañada por la falta de estandarización entre las diversas metodologías analíticas, así como por las fuertes correlaciones de las subfracciones entre sí y con los marcadores estándar de riesgo de lípidos y lipoproteínas. Estudios recientes han demostrado relaciones independientes entre

los niveles de LDL y subclases de tamaño de HDL con el riesgo de enfermedad tanto de las arterias coronarias como cerebrovascular.

Las subfracciones de LDL están basadas en el tamaño, densidad, composición y/o carga eléctrica (234). De acuerdo con la metodología utilizada, pueden estar separadas en diferentes clases. Por electroforesis en gel de gradiente en 7 subfracciones de LDL basadas en tamaño y forma. Por resonancia magnética nuclear las LDL están separadas en 3 patrones: Patrón A (grande 26,35-28,5nm), AB (intermedio 25,75-26,34nm) y B (pequeño 22,0-25,74). Por ultracentrifugación de gradiente de densidad está separado en 6 subfracciones. Por electroforesis en gel de tubo en 7 subfracciones.

Las partículas de LDL pequeñas y densas se consideran más proaterogénicas que las partículas de LDL grandes. Las partículas de LDL pequeñas y densas tienen una afinidad disminuida por el receptor de LDL, lo que resulta en un tiempo de retención prolongado en la circulación. Adicionalmente, entran más fácilmente en la pared arterial y se unen con más avidez a los proteoglicanos intraarteriales, que los atrapan en la pared arterial, contribuyendo a la aterosclerosis, el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular (214).

Las partículas pequeñas y densas de LDL rara vez se presentan como una afección aislada, pero a menudo se asocian con un fenotipo específico que se caracteriza por hipertrigliceridemia, HDL-c bajo, obesidad abdominal, resistencia a la insulina (diabetes tipo 2) y otras irregularidades metabólicas que conducen a disfunción endotelial y susceptibilidad a trombosis (234,235) y estados infecciosos e inflamatorios (217). Las LDL pequeñas y densas también son más susceptibles a la peroxidación de lípidos debido a cambios en la composición de lípidos, lo que las hace más aterogénicas (236). Las LDL pequeñas y densas carecen de vitamina E y se oxidan más rápidamente *in vitro*, características que podrían hacer que las LDL pequeñas sean más aterogénicas (237).

Se han descrito dos fenotipos distintos: el patrón B con predominio de partículas LDL pequeñas y densas, y el patrón A con una mayor proporción de partículas LDL grandes y más flotantes. Aunque el tamaño de las partículas de LDL está determinado genéticamente, su expresión fenotípica también puede verse afectada por factores ambientales, las drogas, la dieta, la obesidad o el ejercicio (238). Las partículas de LDL del fenotipo aterogénico contienen menos colesterol y fosfolípidos, pero más triglicéridos. Este fenotipo se conoce

generalmente como fenotipo B y se caracteriza por niveles elevados de apo B, que se encuentra en LDL y VLDL (239).

La prevalencia del fenotipo del patrón B es de aproximadamente el 30% en hombres adultos, del 5-10% en hombres y mujeres jóvenes <20 años, y de aproximadamente el 15-25% en mujeres posmenopáusicas (240). El tamaño de LDL y el predominio del patrón B, está genéticamente influenciado, con una heredabilidad que oscila entre el 35 y el 45%, se encuentra en conjunción con alteraciones familiares del metabolismo lipídico, que están asociadas a un riesgo aumentado de enfermedad cardíaca coronaria prematura, como hiperlipemia combinada, hiper-beta-lipoproteinemia e hipo-alfa-lipoproteinemia (241). Por otro lado, los factores no genéticos y ambientales influyen en la expresión de este fenotipo, la adiposidad abdominal y el uso de anticonceptivos orales se asocian con un aumento en LDL pequeño y denso (242). Los factores dietéticos también son importantes. Una dieta muy baja en grasas y alta en carbohidratos puede inducir el patrón B en personas que están genéticamente predispuestas a este fenotipo (242).

Las dos subfracciones de HDL son formadas durante el transporte reverso del colesterol. La HDL2 tiene una densidad entre 1.063-1.125 g/mL, es una partícula grande y rica en colesterol. La HDL3 tiene una densidad entre 1.125-1.210 g/mL, es una partícula pequeña y pobre en lípidos (243). Su síntesis se inicia con la HDL naciente (pre- β 1 o HDL discoidal) que adquiere colesterol y fosfolípidos de las membranas celulares. El colesterol como los fosfolípidos son esterificados con la ayuda de la enzima lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT). Al adquirir colesterol, las HDL se convierten en una esfera pequeña denominada HDL3. Esta partícula tiene capacidad de continuar aceptando colesterol y lípidos, convirtiéndose en una partícula más grande, denominada HDL2. La HDL2 bajo la acción de la proteína transportadora de ésteres de colesterol, se vuelve una partícula rica en triglicéridos que son hidrolizados por la lipasa hepática. Esta hidrólisis, en asociación con la actividad de la proteína de transporte de fosfolípidos, disminuye el tamaño de las HDL2 transformándolas de nuevo en HDL3, las cuales pueden reiniciar la captación de colesterol (243, 244).

Se pueden obtener varias subpoblaciones de HDL utilizando diversas técnicas de separación, resultando difícil la comparación entre partículas obtenidas con diferentes procedimientos. Las HDL se pueden clasificar sobre la

base de la densidad, lo que da como resultado la gran flotabilidad HDL2 y la pequeña densa HDL3, que se pueden subdividir en subpoblaciones distintas (HDL2b, HDL2a, HDL3a, HDL3b y HDL3c (tabla 7). Así también, las HDL se pueden separar sobre la base de su movilidad electroforética en pre- β -partículas, α -partículas y pre- α -partículas y también se pueden clasificar según su contenido principal de apolipoproteína en partículas que contienen solo apolipoproteína AI (apoA-I, LpA-I) o tanto apoA-I como apoA-II (LpA-I / A-II) (tabla 7) (244).

Las HDL poseen varias funciones antiaterogénicas. La actividad más destacada de las HDL es el transporte inverso de colesterol, el proceso mediante el cual el exceso de colesterol se transporta desde los tejidos periféricos al hígado para su excreción. Diferentes subpoblaciones de HDL interactúan con diferentes receptores celulares para eliminar el exceso de colesterol de las células. Además, las HDL, y en particular las HDL3 pequeñas y densas, ejercen actividades antiinflamatorias y antioxidantes (245). Las HDL tienen un efecto protector sobre el endotelio vascular, son antitrombóticas y antiinfecciosas (245) y desempeñan un papel en la modulación de las respuestas inmunitarias (246) y el control de la homeostasis de la glucosa (247).

Se han realizado estudios para observar si una de las dos subfracciones en específico confiere mayor capacidad para predecir RCV que la HDL sola. Se ha observado que pacientes con enfermedades coronarias, generalmente tienen mayor cantidad de partículas densas y pequeñas (HDL3), mientras que los niveles circulantes de partículas grandes de HDL (HDL2) disminuyen en condiciones dislipídicas (244). Lo cual hace presumir que las HDL2 pueden asociarse con una mayor protección de enfermedad cardiovascular (243). Por el contrario, la fracción HDL3 pudiera estar asociada a una protección cardiaca menor e incluso con mayor riesgo de ECV (248).

La relación entre los niveles circulantes de subpoblaciones de HDL y la protección contra las enfermedades cardiovasculares aún no está clara y sigue siendo controversial, ya que los hallazgos obtenidos no logran clarificar plenamente el papel directo de una o ambas subfracciones como predictoras de la enfermedad cardiovascular.

Tabla 7. Subdivisión de las subfracciones de las HDL (244)

Características		Subclases de HDL
Forma		Discoidal
		Esférica
Densidad (ultracentrifugación)		HDL2
		HDL3
Tamaño (electroforesis en gel no desnaturalizante)		HDL2b
		HDL2a
		HDL3a
		HDL3b HDL3c
Carga (2- electroforesis dimensional)	Pre- β_1 partículas	Pre- β_1 (HDL3, LpA-I)
		Pre- β_2 (LpA-I)
		Pre- β_3 (LpA-I)
		Pre- β_4 (LpA-I)
	α - partículas	Muy pequeña discoidal α -4 (HDL3, LpA-I)
		Pequeña esférica α 3 (HDL3, LpA-I: A-II)
		Media esférica α 2 (HDL3, LpA-I: A-II)
		Larga esférica α 1 (HDL3, LpA-I)
	Pre- α partículas	Pre- α_1 (LpA-I)
		Pre- α_2 (LpA-I)
Pre- α_3 (LpA-I)		
Pre- α_4 (LpA-I)		
Composición (inmunoafinidad)	LpA-I (componentes prominentes de HDL2 y HDL3)	Grande LpA-I
		Mediano LpA-I
	LpA-I	Pequeño LpA-I
		A-II (más encontrada en HDL3)

Lipoproteína (a) (Lp(a)) es una partícula de LDL que tiene una apolipoproteína (a) unida a Apo B-100 mediante un enlace disulfuro. Esta partícula es proaterogénica. Lp(a) elevada es un factor de riesgo causal de enfermedad cardiovascular, es decir, de infarto de miocardio, estenosis

aterosclerótica y estenosis de la válvula aórtica (249). la Sociedad Europea de Aterosclerosis ha publicado una declaración del panel de consenso de 2010 recomendando la detección de Lp(a) elevada en individuos con riesgo cardiovascular intermedio, alto o muy alto, y sugirió una concentración plasmática deseable de menos de 50 mg / dl (112). El riesgo cardiovascular se asocia con una concentración de Lp (a) por encima de 30 mg / dl (112).

1.6.1.1.3 Apolipoproteínas

Las apolipoproteínas (apos) tienen cuatro funciones principales: desempeñan un papel estructural, actúan como ligandos para los receptores de lipoproteínas, guían la formación de lipoproteínas y actúan como activadores o inhibidores de enzimas involucradas en el metabolismo de las lipoproteínas (Tabla 8). Por tanto, las apolipoproteínas juegan un papel crucial en el metabolismo de las lipoproteínas. Las apos están asociadas con diversos trastornos, que incluyen dislipidemia y enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. Por lo tanto, las apolipoproteínas han surgido como marcadores de riesgo clave y objetivos de investigación importantes, pero sus funciones no se han dilucidado por completo (250).

Apolipoproteína AI (Apo AI), se sintetiza en el hígado y el intestino y es la principal proteína estructural de HDL que representa aproximadamente el 70% de la proteína HDL. También desempeña un papel en la interacción de las HDL con la proteína del casete de unión a ATP A1 (ABCA1), ABCG1 y el receptor eliminador de clase B, tipo I (SR-B1). Apo AI es un activador de lecitina: colesterol aciltransferasa (LCAT), una enzima que convierte el colesterol libre en éster de colesterol. Los niveles altos de Apo AI se asocian con un menor riesgo de aterosclerosis, por tener un efecto vasoprotector (251), así también las apo AI son un mejor predictor de mortalidad por cardiopatía isquémica (252). Los valores de referencia para la Apo A1 son de 115 a 220 mg/dL (253).

Apolipoproteína A-II (Apo A-II), se sintetiza en el hígado y es la segunda proteína más abundante en HDL y representa aproximadamente el 20% de la proteína HDL. Apo A-II es un factor regulador clave del metabolismo de las HDL, regula la salida de colesterol, remodelación de HDL y captación de éster de colesterol a través de sus interacciones con proteínas de transferencia de lípidos, lipasas y receptores celulares de HDL (254). La Apo A-II es un fuerte predictor de

riesgo de ECV (255) y los altos niveles séricos está relacionados con el desarrollo de aterosclerosis (256). La ApoA-II se asocia con un menor riesgo de EAC en el futuro en personas aparentemente sanas. Estos hallazgos implican que la propia apoA-II ejerce efectos sobre vías antiaterogénicas específicas (257).

Apolipoproteína A-IV (Apo A-IV), se sintetiza en el intestino durante la absorción de grasas. Se asocia con quilomicrones y lipoproteínas de alta densidad, pero también se encuentra en la fracción libre de lipoproteínas. Su papel preciso en el metabolismo de las lipoproteínas aún no se ha determinado, pero los estudios han sugerido un papel de la Apo A-IV en la regulación de la ingesta de alimentos (258).

Apolipoproteína AV (Apo AV), se sintetiza en el hígado y se asocia con lipoproteínas ricas en triglicéridos (quilomicrones y VLDL). Es un activador de la lipólisis mediada por lipoproteína lipasa (LPL), por lo tanto, juega un papel importante en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Algunas de sus variantes se asocian con valores de triglicéridos más altos y un mayor riesgo de infarto de miocardio (259).

Apolipoproteína B-48 (Apo B-48), se sintetiza en el intestino y es la principal proteína estructural de los quilomicrones y los restos de quilomicrones. Hay una sola molécula de apo B-48 por partícula de quilomicron. Hay un solo gen de la apolipoproteína B que se expresa tanto en el hígado como en el intestino. El intestino expresa una proteína que tiene aproximadamente la mitad del tamaño del hígado debido a la edición del ARNm. El receptor de LDL no reconoce la Apo B-48. (260).

Apolipoproteína B-100 (Apo B-100 o Apo B), se sintetiza en el hígado y es el principal componente estructural de VLDL, IDL y LDL. Hay una sola molécula de Apo B-100 por partícula de VLDL, IDL y LDL. Apo B-100 es un ligando para el receptor de LDL y, juega un papel importante en el aclaramiento de partículas de lipoproteínas. Los niveles altos de Apo B-100 se asocian con un mayor riesgo de aterosclerosis (261). Los valores referencia para Apo B son de 60 a 138 mg/dL (253).

Apolipoproteína C, se sintetiza principalmente en el hígado y se intercambian libremente entre partículas de lipoproteínas y, por lo tanto, se encuentran asociadas con quilomicrones, VLDL y HDL (262).

Tabla 8. Características de las principales apolipoproteínas (250)

Apoproteína	Lipoproteína principal	Origen	Concentración (g/L)	Función
A-I	HDL	Hígado Intestino	0,80-1,50	-Interviene en la estructura. Activa la LCAT. Se une al receptor de HDL. Estimula el transporte inverso del CT.
A-II	HDL	Hígado	0,30-0,60	-Interviene en la estructura. Modula la actividad de la LCAT.
A-IV	Quilomicrón HDL	Intestino	0,10-0,30	-Activa la LCAT. Estimula el transporte inverso del colesterol
A-V	Quilomicrón, VLDL, HDL	Hígado	1,5.10 ⁻⁸	-Facilita la interacción del quilomicrón y de la VLDL con la LPL. Favorece la captación hepática de remanentes.
B100	VLDL, IDL, LDL, Lp(a)	Hígado	0,60-1,20	-Interviene en la estructura. Se une al receptor B:E.
B48	Quilomicrón	Intestino	<0,05	-Interviene en la estructura.
C-I	Quilomicrón HDL	Hígado	0,05-0,08	-Activa la LCAT. Inhibe la captación hepática de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y sus remanentes.
C-II	Quilomicrón VLDL, HDL	Hígado	0,03-0,07	-Activa la LPL. Inhibe la captación hepática de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y sus remanentes.
C-III	Quilomicrón, VLDL, HDL	Hígado	0,02-0,06	-Inhibe la LPL. Inhibe la captación hepática de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y sus remanentes. Regula la unión de las lipoproteínas al receptor B:E.
E	Quilomicrón VLDL, IDL HDL	Ubicuo	0,01-0,06	-Se une a receptores B:E y E. Estimula el transporte inverso del colesterol
(a)	Lp (a)	Hígado	0-1,20	-Interacciona con el sistema fibrinolítico.

VLDL, Lipoproteína de muy baja densidad; IDL, Lipoproteína de densidad intermedia; LDL, Lipoproteína de baja densidad; HDL, Lipoproteína de alta densidad; VHDL, Lipoproteína de muy alta densidad; Lp, partícula lipoproteica; LCAT, Lecitina: colesterol aciltransferasa; LPL, lipoproteína lipasa.

Apo C-II es un cofactor de la lipoproteína lipasa (LPL) y, por lo tanto, estimula la hidrólisis de triglicéridos. Las mutaciones de pérdida de función en Apo C-II dan como resultado una hipertrigliceridemia marcada debido a la incapacidad de metabolizar las lipoproteínas ricas en triglicéridos (263). La producción defectuosa de apo CII causa hiperlipoproteinemia tipo IB, caracterizada por hipertrigliceridemia, xantomas y aumento del riesgo de pancreatitis y aterosclerosis precoz (264).

Apo C-III es un inhibidor de LPL y de la interacción de las lipoproteínas ricas en triglicéridos con sus receptores. Estudios recientes han demostrado que las mutaciones de pérdida de función en Apo C-III conducen a una disminución de los niveles de triglicéridos en suero y una reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular (265). La inhibición de la expresión de Apo C-III da como resultado una disminución de los niveles de triglicéridos en suero incluso en pacientes con deficiencia de lipoproteína lipasa, lo que indica que la capacidad de Apo C-III para modular los niveles de triglicéridos en suero no depende únicamente de la regulación de la actividad de la lipoproteína lipasa (265). Bajos niveles de apo C-III están asociados con protección cardiovascular (266).

Apolipoproteína E, se sintetiza en muchos tejidos, pero el hígado y el intestino son la fuente principal de intercambios circulantes de Apo E. Apo E entre las partículas de lipoproteína y se asocia con quilomicrones, restos de quilomicrones, VLDL, IDL y un subgrupo de partículas de HDL. Hay tres variantes genéticas comunes de Apo E (Apo E2, E3 y E4). Los pacientes homocigotos para Apo E2 pueden desarrollar disbetalipoproteinemia familiar. Apo E4 se asocia con un mayor riesgo de enfermedad de Alzheimer y un mayor riesgo de aterosclerosis (267).

Apolipoproteína (a) [Apo (a)], se sintetiza en el hígado. Esta proteína es un homólogo del plasminógeno y su peso molecular varía de 300.000 a 800.000. Está unido a Apo B-100 mediante un enlace disulfuro. Los niveles altos de Apo (a) están asociados con un mayor riesgo de aterosclerosis. Apo (a) es un inhibidor de la fibrinólisis y también puede mejorar la captación de lipoproteínas por los macrófagos, los cuales podrían aumentar el riesgo de aterosclerosis (249). Las personas con isoformas de Apo(a) más pequeñas tienen un riesgo aproximadamente 2 veces mayor de enfermedad coronaria o accidente cerebrovascular isquémico que aquellas con proteínas más grandes (268).

La razón ApoB/ApoA1 es un marcador predictivo de eventos mortales por enfermedad cardiovascular. El cociente ApoB/ApoA1 es un factor importante de riesgo para el infarto al miocardio (269). Así también, La relación ApoB / ApoA1 y la relación colesterol no HDL / colesterol HDL se asocian al síndrome metabólico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y a la miocardiopatía isquémica en mujeres diabéticas (270). Algunos factores emergentes de riesgo cardiovascular como ApoB, ApoA1, proteína C reactiva (PCR) de alta sensibilidad, relación ApoB / ApoA1 y relación colesterol no HDL / colesterol HDL están relacionados con la inflamación (271). La relación ApoB / ApoA1 representa el equilibrio de factores aterogénicos y antiaterogénicos en plasma (272).

1.6.1.2 Biomarcadores basados en inflamación

La inflamación es una reacción protectora del tejido conjuntivo vascular a estímulos dañinos, incluyendo la infección. La respuesta inflamatoria se asocia con vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, reclutamiento de células inflamatorias (especialmente neutrófilos en la inflamación aguda), liberación de mediadores de la inflamación de estas células (incluyendo aminas vasoactivas, prostanoïdes e intermediarios reactivos del oxígeno), y liberación de citoquinas.

La respuesta inflamatoria es fundamentalmente una respuesta de carácter protector, que cuando se perpetua constituye el mecanismo de un gran número de enfermedades como la aterosclerosis (273), algunas infecciones persistentes (274), enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide (275), el lupus eritematoso (276) y la fibrosis pulmonar, así como la cirrosis hepática y las enfermedades inflamatorias intestinales (277). Las células del sistema inmune activadas (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos), son susceptibles de modificar el perfil de ácidos grasos de sus membranas según el aporte de lípidos de la dieta. Durante la inflamación, los procesos de marginación, rodamiento, adhesión, y la posterior transmigración de los leucocitos a través del endotelio (diapédesis) están conducidos por distintos mecanismos de estimulación quimiotáctica, y determinados por la fijación de moléculas de adhesión complementarias entre la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales. Asimismo, existen varios mediadores químicos (factores quimiotácticos y citoquinas) que influyen sobre estos procesos, y modulan tanto

la expresión génica de moléculas de superficie, como la intensidad de la fijación. El perfil lipídico de las membranas de las células inmunitarias va a condicionar la producción de mediadores químicos, determinando así la intensidad de la respuesta (278).

Dentro de los mediadores inflamatorios, destacan principalmente las citoquinas proinflamatorias, quimioquinas, proteínas inflamatorias de macrófago, leucotrienos, tromboxanos, factores de coagulación, especies reactivas de oxígeno, óxido nítrico, proteasas, inhibidores de la proteasa, pentraxinas y proteína C reactiva.

Las citoquinas son proteínas bioactivas producidas por muchas células diferentes del sistema inmunitario (Figura 10), que son secretadas por una variedad de células inmunes (ejem. linfocitos T, macrófagos) y células no inmunes (ejem. fibroblastos). Los efectos biológicos inducidos por las citoquinas incluyen la estimulación o inhibición de la proliferación celular, citotoxicidad/apoptosis, actividad antiviral, crecimiento y diferenciación celular, respuestas inflamatorias, antiinflamatorias y regulación de la expresión de proteínas de membrana superficial (279). Su papel como mediadores inflamatorios en diferentes estados de la enfermedad inflamatoria y en mantener la homeostasis, despiertan un enorme interés clínico en la cuantificación de las citoquinas.

Las citoquinas se clasifican en, proinflamatorias aquellas que promueven la inflamación (IL-1, IL-6, TNF y las quimioquinas), mientras que otras suprimen la actividad de las citoquinas proinflamatorias y se denominan citoquinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10 e IL-13). IFN- γ posee actividad antiviral, de la misma manera que IFN- α e IFN- β . IFN- γ es también un activador de la vía que afecta a las células T citotóxicas; sin embargo, la γ IFN se considera una citoquina proinflamatoria porque aumenta la actividad de TNF. Las citoquinas inmunosupresoras, inhiben el crecimiento celular, suprimen o bloquean la secreción de otras citoquinas.

Los métodos estándar típicos para la cuantificación de citoquinas son técnicas basadas en inmunoensayos, incluidos ensayos inmunesorbente vinculados a enzimas (ELISA) e inmunoensayos basados en cuentas leídas por citómetros de flujo estándar o modificados. Nuevas técnicas aplicadas a ensayos basados en inmunoensayos junto con los usos de aptamers, electroquímica, espectrometría de masas, métodos ópticos basados en resonadores.

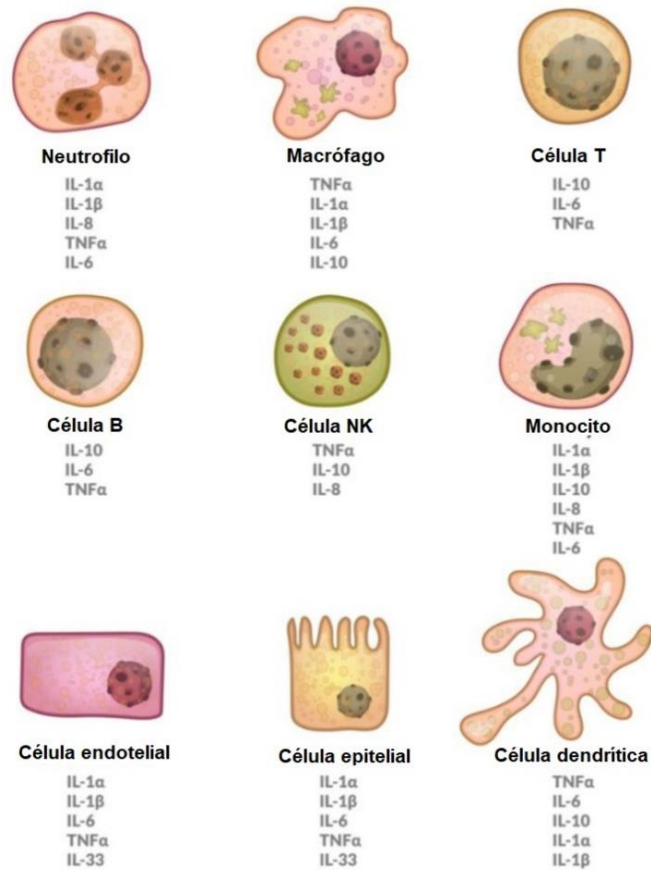


Figura 10. Representación esquemática de varias células que expresan diferentes citoquinas. Interleucina (IL), Células asesinas naturales (NK), Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (279).

Las citoquinas derivadas de macrófagos como IL-1 e IL-6, son las principales responsables de la respuesta de fase aguda, una variación protectora en la producción de proteínas plasmáticas por los hepatocitos. La familia de citoquinas que incluye interleucina-2 (IL-2), IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21, exhibe amplias acciones pleiotrópicas en el sistema inmune, incluyendo tanto el sistema inmune innato como adaptativo, con estas citoquinas contribuyendo colectivamente al desarrollo de células T, B, asesino natural (AN) y células linfoides innatas (ILCs) (280).

IL-2, es un factor de crecimiento de células T. Tiene amplias acciones pleiotrópicas (281), incluyendo la capacidad de aumentar las actividades

citotóxicas de las células asesinas naturales y las células T citotóxicas, para mediar la muerte celular inducida por antígeno, pero también para ser capaz de promover la supervivencia celular dependiendo del contexto celular y de activación, para aumentar la producción de inmunoglobulina por células B, y para modular la diferenciación de las células T helper, aumentar la producción de inmunoglobulina por células B, importante destacar que IL-2 es un motor de desarrollo y expansión regulatorio de células T (280).

IL-4, es un factor que podría promover la diferenciación de células B y conducir el interruptor de clase inmunoglobulina, IL-4 comparte varias de sus acciones con IL-13, una citoquina que también utiliza el receptor IL-4 tipo 2. Recientemente, se sugirió a IL-4 contribuir al desarrollo de regulación de células T y tener un papel en la homeostasis y mecanismos de reparación (282).

IL-7 es un factor estromal, esencial para el desarrollo de células T y que junto con IL-15 media la homeostasis de células T de memoria También puede contribuir al desarrollo celular T regulador (283).

IL-9 es un factor de crecimiento tardío de células T, así como un factor de crecimiento de mastocitos. Th9 la diferenciación es promovida no sólo por IL-2, sino también por IL-1, IL-4, IL-25, IL-33 y tipo 1 IFNs e inhibida por IL-23 e IL-27, mientras que, dependiendo del contexto, IL-6, IL-10 e IL-21 pueden promover o inhibir este proceso (284). Esta citoquina ha demostrado exhibir actividad antitumoral (285), para impulsar la inflamación alérgica e intestinal, así como la producción de mucosidad por células de copa (286).

La IL 1, IL 6 y el factor de necrosis tumoral (TNF) son ejemplos típicos de citoquinas multifuncionales implicadas en la regulación de la respuesta inmune, la hematopoyesis y la inflamación (287).

El factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), es una de las citoquinas proinflamatorias inmunomoduladoras más importante, es producida por macrófagos y liberada en el lugar de la inflamación, así también juega un papel principal en el reclutamiento y activación de las células inflamatorias (287). Induce a la expresión genética de varias citoquinas proinflamatorias y quimiocinas, tanto de forma dependiente como independiente de la activación del factor transcripcional NF- κ B. Estas señales mediadas por TNF- α inician y aceleran la aterogénesis, la trombosis, la remodelación vascular, la inflamación vascular, la

apoptosis endotelial, el estrés oxidativo vascular y la alteración en la biodisponibilidad de NO, contribuyendo a la disfunción vascular (288).

El tejido adiposo tiene la capacidad de liberar, numerosas citoquinas, moléculas proinflamatorias como la IL-6 y TNF- α , éstas pueden ser la base de varios de los componentes de la resistencia a la insulina, de una disfunción endotelial y de un potencial riesgo cardiovascular. Los pacientes obesos presentan infiltración por macrófagos en el tejido adiposo, lo cual puede contribuir al perfil proinflamatorio que presentan (288). Así también, el adipocito tiene un rol importante en la resistencia a la insulina, ya que una amplia variedad de compuestos bioactivos es producida por el adipocito, como son leptina, adiponeptina, resistina, factor de necrosis tumoral alfa, proteína C reactiva, renina y angiotensinógeno; mediante los cuales el adipocito tiene un rol fundamental en el desarrollo de la resistencia a la insulina y en la ECV. Es decir, el incremento de las citoquinas en individuos obesos, están relacionados con la progresión de varios trastornos incluyendo enfermedad cardiovascular, hipertensión, y resistencia a la insulina (289).

Las citoquinas son actores clave en el mecanismo inflamatorio y contribuyen a la progresión del daño isquémico (290). Los efectos de la inflamación en el accidente cerebrovascular isquémico, y el papel proinflamatorio y antiinflamatorio citoquinas juegan en el resultado de accidente cerebrovascular perjudicial o beneficioso (291). Las citoquinas inflamatorias y los mediadores relacionados también podrían ser marcadores adecuados para la estratificación y pronóstico del riesgo en pacientes con insuficiencia cardíaca (292).

La síntesis de la proteína C reactiva (PCR) es inducida como respuesta al daño tisular por infecciones, inflamación o neoplasias. Es sintetizada por hepatocitos y células del endotelio vascular, y su expresión está regulada por citoquinas, particularmente por la IL-6, en menor grado por la IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF) (293).

La PCR es un marcador sensible de inflamación, considerada un excelente marcador de predicción de SM y RCV, con independencia de la edad, obesidad, presión arterial, perfil lipídico, tabaco, o etnia. Todos los componentes del síndrome metabólico contemplados por la ATP III están asociados a elevados niveles de PCR en plasma, por lo que se considera un marcador importante para predecir y cuantificar el RCV, siendo por tanto de utilidad en la consulta de

atención primaria, teniendo en cuenta el indicativo de riesgo bajo ($< 1\text{mg/L}$), riesgo moderado ($1\text{-}3\text{ mg/L}$), riesgo alto ($> 3\text{ mg/L}$) (294). Los niveles de esta proteína son realmente bajos en condiciones en las que no existe un proceso inflamatorio de relevancia clínica. Sin embargo, estudios previos han llegado a conclusiones diferentes con respecto a la utilidad de los biomarcadores para la predicción del riesgo cardiovascular. Algunos informes indican que los biomarcadores como la PCR, ayuda en la predicción del riesgo, mientras que otros estudios concluyen que estos biomarcadores aportan relativamente poca información incremental (295).

La síntesis *de novo* de la PCR comienza a las seis horas después de iniciado el estímulo inflamatorio y alcanza su máximo a las 24 a 72 horas. Su vida media es relativamente corta (19 horas). Su concentración plasmática es constante bajo cualquier condición y no se modifica con la ingestión de alimentos ni presenta variación circadiana, en contraste con las proteínas de la coagulación y otras de fase aguda. Una vez finalizado el estímulo de la IL-6, la PCR regresa a valores normales al cabo de siete días. Con esto, el índice de producción de la PCR es el único determinante de los niveles circulantes de la proteína, reflejando en forma directa la intensidad de los procesos patológicos que estimularon su síntesis (296).

La funcionalidad de la PCR se caracteriza por su capacidad de unir ligandos específicos dependientes de calcio, se une con alta afinidad a moléculas que contienen fosfolina. De manera similar, se une con gran afinidad a una amplia variedad de ligandos tanto autólogos (lipoproteínas plasmáticas nativas y modificadas, membranas celulares dañadas, residuos de fosfatidilcolina, histonas, cromatina, ribonucleoproteínas pequeñas y células apoptóticas), como heterólogos (glucanos, fosfolípidos y otros componentes somáticos y capsulares de bacterias, hongos y parásitos) (297).

El papel fundamental de las células inflamatorias, las proteínas inflamatorias y la respuesta inflamatoria a través de las diferentes etapas de la aterosclerosis, incluyendo la iniciación, la progresión y la ruptura de la placa, es bien conocido (298). Estudios epidemiológicos muestran que los niveles séricos de PCR tienen valor predictivo para el desarrollo de síndromes coronarios agudos, eventos vasculares cerebrales, enfermedad arterial periférica y muerte súbita cardíaca (294) como se muestran en la Tabla 9.

La obesidad de distribución central parece incrementar aún más los niveles de PCR, debido a que la grasa intra-abdominal es capaz de generar tres veces más IL-6 que la grasa subcutánea, y a que el drenaje venoso de esta grasa fluye directamente hacia el hígado. Se ha demostrado que el adipocito es capaz de expresar ARNm de la PCR (299).

Tabla 9. Condiciones asociadas con niveles elevados de PCR (301)

Condiciones asociadas con elevaciones en la PCR	
Artritis (crónica juvenil, reumatoidea, psoriática)	Lepra
Embolización	Linfoma
Enfermedad de Crohn	Malignidad
Enfermedad de Reiter	Necrosis
Enfermedad inflamatoria	Pancreatitis aguda
Eritema nodoso	Polimialgia reumática
Espondilitis anquilosante	Quemaduras
Fiebre reumática	Rechazo de aloinjerto
Fiebre familiar mediterránea	Sarcoma
Fracturas	Tumor
Hipersensibilidad	Trasplante renal
Infarto al miocardio	Trauma
Infecciones y complicación de infecciones	Vasculitis sistémica

Las condiciones más típicas asociadas con elevaciones importantes de los niveles de PCR. Se ha observado que la infección por SAR cov2, en algunas condiciones críticas se asocia con niveles muy elevados de PCR, siendo incluso un factor pronóstico de mortalidad (300). La única condición que interfiere con la respuesta «normal» de la PCR, el deterioro hepatocelular grave. En condiciones normales, casi no se encuentra presente en el torrente sanguíneo (301).

Una serie de factores influyen en lo bien que los biomarcadores predicen los resultados, incluida la población estudiada, los métodos estadísticos para evaluar los biomarcadores y los biomarcadores específicos seleccionados. Los estudios centrados en poblaciones de alto riesgo a menudo producen estimaciones favorables del rendimiento del biomarcador, pero existe la mayor necesidad de

nuevos marcadores de riesgo en poblaciones de bajo a medio riesgo, para quienes los datos son más conflictivos (302).

1.6.1.3 Biomarcadores de estrés oxidativo

Los biomarcadores de estrés oxidativo o nitrosativo son aquellas enzimas específicas, factores o productos de daño oxidativo que pueden medir o evaluar objetivamente como indicadores de procesos fisiológicos, patológicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. Los biomarcadores de estrés oxidativo deben cumplir con unas características con la finalidad de que tengan aplicabilidad clínica, en la tabla 10 se pueden apreciar estas características. Los objetivos de los biomarcadores de estrés oxidativo son desarrollar nuevas estrategias preventivas, diagnósticas y terapéuticas en múltiples patologías, entre las que se encuentran las enfermedades cardiovasculares (303).

Tabla 10. Características de un biomarcador de estrés oxidativo (adaptado de 304).

Características generales
Producto de un daño oxidativo, relacionado con inicio o progresión de la patología
Accesible al tejido diana o plasma
Marcador específico para estudio de especies reactivas e independiente de factores externos
Reflejo cuantitativo de cambios oxidativos / nitrosativos
Especificidad, sensibilidad y reproducibilidad
Molécula estable para el manejo de muestras (preparación, almacenamiento)

Algunos biomarcadores de estrés oxidativo determinan la intensidad del daño oxidativo en relación a la progresión de diferentes enfermedades asociadas con un incremento de estrés oxidativo, como en el caso de enfermedades cardiovasculares (Tabla 11). Los biomarcadores de peroxidación lipídica más estudiados son los isoprostanos (IsoPs) y el malondialdehído (MDA).

Los Isoprostanos son unos marcadores estables de estrés oxidativo, una familia de compuestos similares a la prostaglandina. Se forman in situ a partir de los fosfolípidos de la membrana celular y son liberados a la circulación en su forma libre, presumiblemente por la fosfolipasa A2 (305). Generados a partir de la

peroxidación del ácido araquidónico, AGPI presente en fosfolípidos de las membranas celulares.

Tabla 11. Enfermedades cardiovasculares y patologías asociadas a ECV relacionadas con biomarcadores de estrés oxidativo (adaptado de (306)).

ECV y patologías asociadas	Biomarcador de estrés oxidativo
Angina	F ₂ -IsoPs, MDA
Aterosclerosis	MDA, HNE, F ₂ -IsoPs, NO ₂ -Tyr, Cl-Tyr, Di-Tyr, HO-1, NF-κB, COX-2, 8-OHdG, NADPH oxidasa
Hipercolesterolemia	F ₂ -IsoPs, NO ₂ -Tyr
Hiperlipidemia	Proteínas S-glutationadas
Daño por isquemia-reperusión	F ₂ -IsoPs, HO-1
EAC	F ₂ -IsoPs, NO ₂ -Tyr, Cl-Tyr, 8-OHdG
ECV	HNE, F ₂ -IsoPs, Decrece la concentración GSH y(o) relación GSH/GSSG, NO ₂ -Tyr, Cl-Tyr, NF-κB, 8-OHdG, HO-1
Infarto del miocardio	F ₂ -IsoPs, HO-1, COX-2, 8-OHdG
Inflamación miocárdia	NO ₂ -Tyr
Insuficiencia cardiaca	F ₂ -IsoPs, 8-OHdG
Hipertensión	HO-1, radical superóxido, H ₂ O ₂ , SOD, CAT, GSH, NADPH oxidasa, MDA, F ₂ -IsoPs
Agregación plaquetaria	HO-1
Daño vascular	HO-1
Obesidad	F ₂ -IsoPs, 8-OHdG, 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina
Diabetes	MDA, F ₂ -IsoPs, Decrece la concentración GSH y(o) relación GSH/GSSG, proteínas S-glutationadas, NO ₂ -Tyr, Proteínas carboniladas, NF-κB, COX-2, NADPH oxidasa; HO-1

8-OHdG: 8-hidroxy-2'-deoxiguanosina; CAT: catalasa; Cl-Tyr: 3-Clorotirosina; COX-2: Ciclooxigenasa 2; Di-Tyr: o,o'-Ditirosina; F₂-IsoPs: F₂ isoprostanos; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; HNE: 4-hidroxi-2-nonenal; HO-1: Hemo-oxigenasa 1; iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible; MDA: Malonil-dialdehído; NF-κB: Factor de transcripción nuclear, NO₂-Tyr: 3-Nitrotirosina.

La 8-epi-prostaglandina F₂alfa u 8-isoprostano (8-iso-PGF₂α), el isoprostano más importante generado de la peroxidación enzimática del ácido araquidónico, ha demostrado ser un indicador confiable del estrés oxidativo. Es un vasoconstrictor potente, mediador del crecimiento celular del músculo liso, activador de las plaquetas e inductor de alteraciones en la función de la barrera celular endotelial (305).

Los isoprostanos, se encuentran en múltiples fluidos biológicos, siendo el plasma y la orina los más analizados para el estudio del daño oxidativo, pero las mediciones resultan complejas. Sin embargo, se trata de moléculas más estables que otros lípidos oxidados (p. ej. LDL-oxidadas) y que, al ser medidas en plasma en su forma esterificada, no sufren aclaramiento renal o depuración por diálisis, como sucede con el malondialdehído. Se han demostrado niveles elevados de F₂ isoprostanos en individuos que realizan actividad física intensa (307), en pacientes con enfermedad renal, fumadores, en pacientes diabéticos (308), en enfermos de Alzheimer (309), así también se ha demostrado que su elevación en las concentraciones urinarias se asocia con hipercolesterolemia y diabetes (310).

Malondialdehído (MDA) es un cetoaldehído producto de la descomposición de lípidos insaturados derivado del metabolismo del ácido araquidónico presente, fundamentalmente, en la membrana celular. El MDA interactúa con las proteínas y es en sí mismo potencialmente aterogénico. La reacción de MDA con los residuos de lisina genera enlaces cruzados lisina-lisina (311). Se han identificado en fracciones de apo B de lipoproteína de baja densidad oxidada (LDLox), y se han postulado para deteriorar la interacción entre LDLox y los macrófagos y, por lo tanto, para promover la aterosclerosis (312). El daño tisular puede aumentar los niveles de MDA, produciendo alteraciones proteicas que desencadenan mecanismos inmunológicos relacionados con enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis o el infarto agudo de miocardio (311).

Acroleína y 4-Hidroxi-2-nonenal (HNE). El 2-propenal o acroleína es un aldehído insaturado altamente reactivo presente ambientalmente por combustión de aceites, árboles, tabaco, gasolina y petróleo. De este compuesto deriva el HNE, otro aldehído de mayor toxicidad producido por el daño de ERO y ERN sobre los ácidos araquidónico, linoleico y linoléico (313). Las concentraciones de acroleína y HNE se incrementan en situaciones patológicas de peroxidación lipídica y reaccionan con residuos de lisina, histidina y cisteína. El HNE puede reaccionar

con fosfolípidos, proteínas y ácidos nucleicos, actuando como segundo mensajero en procesos de citotoxicidad, mutagénesis, toxicidad genética y apoptosis (314).

La medición de la peroxidación de lípidos se puede determinar cuantitativa o cualitativamente mediante una variedad de métodos. Puede medirse por las pérdidas de ácidos grasos; cantidades de productos de peroxidación primaria; cantidades de productos secundarios como carbonilos y gases de hidrocarburos; y reducción de la actividad antioxidante. El análisis de ácidos grasos mediante cromatografía de gas líquido (GLC) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se utiliza para medir la pérdida de ácidos grasos insaturados, consecuencia de la peroxidación de lípidos. Los hidroperóxidos lipídicos, el producto principal de la peroxidación, se pueden medir directamente mediante HPLC con detectores de quimioluminiscencia. Aunque, los ensayos más populares para medir la peroxidación de lípidos son la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) y la determinación de la conjugación de dieno. Otros métodos recientemente desarrollados y usados de forma rutinaria son los kits de Elisa, se utilizan principalmente para detectar varios aductos de peroxidación de lípidos, como las LDL oxidadas (LDL-ox), puesto que son más reactivas con los tejidos circundantes y pueden acumularse dentro del revestimiento interno de las arterias. Los macrófagos, el colesterol y otros lípidos pueden acumularse en el sitio (aterosclerosis), formando finalmente una placa que puede provocar un ataque cardíaco, un derrame cerebral o la muerte. La oxidación de LDL afecta tanto a los componentes lipídicos como proteicos de LDL. Los productos de aldehído reactivos formados durante la oxidación de AGPI, como malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE), son capaces de unirse covalentemente a los grupos ϵ -amino de los residuos de lisina de ApoB-100 para formar aductos de MDA-Lys y HNE-Lys (MDA-LDL y HNE-LDL). La Glicosilación avanzada como la formación de carboximetil lisina (CML-LDL) y carboxietil lisina (CEL-LDL) también está involucrada en la oxidación de LDL (315).

Los biomarcadores de oxidación de proteínas van a valorar las alteraciones o modificaciones oxidativas proteicas que pueden ser primarias o secundarias. Las primarias ocurren en la oxidación por metales, radiación, ozono y óxidos de nitrógeno. Las secundarias se producen cuando las proteínas son alteradas por moléculas generadas por oxidación de otras moléculas.

Nitrotirosina libre (3-NO₂-Tyr), representa el volumen de las proteínas nitradas, refleja la nitración de la tirosina de la proteína y se utiliza como indicador de la tensión oxidativa. La nitración de la tirosina de la proteína es mediada por especies reactivas del nitrógeno tales como peroxynitrite (ONOO⁻) y dióxido de nitrógeno (NO₂), y da lugar a una aducción del grupo nitro en residuos susceptibles de tirosina (316). La mieloperoxidasa (MPO), con su centro de metales de transición, puede reaccionar con ONOO⁻ para producir complejos oxo-metálicos y NO₂ facilitando así la reacción de nitración (317).

La formación de nitrotirosina se ha observado en tejido vascular y miocárdico tanto en individuos sanos como en aquellos con ECV. La formación de nitrotirosina en SERCA2a es significativamente mayor en el tejido cardíaco de los seres humanos con miocardiopatía dilatada en comparación con los controles sanos (318). Existen varios desafíos en la aplicación de la nitrotirosina como un biomarcador de ECV. En el caso de la aterosclerosis, las proteínas y lipoproteínas nitradas circulantes pueden no reflejar con precisión el grado de nitración de proteínas clave en la pared del vaso o tejido de interés (319). Los métodos actuales de detección de nitrotirosina son relativamente costosos y poco prácticos para escalar para la detección y el análisis de alto rendimiento.

Carbonilos, son compuestos que se generan por oxidación de cadenas laterales de aminoácidos a través de la formación de enlaces entre aldehídos insaturados y residuos de lisina, histidina, cisteína, aldehídos α,β -insaturados y glicación/glicoxidación de grupos amino de lisina (186). La formación de compuestos carbonilos viene a ser el biomarcador de oxidación proteica más genérico y utilizado tanto *in vitro* como *in vivo* dada la estabilidad química de los carbonilos, ya que estabilidad química de las proteínas carbonílicas favorecen las mediciones del daño oxidativo en el laboratorio (320). Los métodos de determinación de los grupos carbonilo es a través de espectrofotometría y HPLC. (321).

S-glutationilación, la formación de un puente del disulfuro entre un residuo reactivo de la cisteína y el glutatión celular abundante del tripéptido, resulta ser una reacción estable. Esta modificación oxidativa puede ejercer efectos sobre la estructura terciaria de la proteína y la función de una manera similar a la fosforilación (322) y se ha demostrado que media la regulación redox de una serie de proteínas celulares clave, incluyendo la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS)

(323), el receptor de rianodina (324), retículo sarcoplásmico Ca^{2+} (SERCA) (322) y la bomba de Na-K (325). El impacto de la glutatiónilación de cada una de estas proteínas de membrana se ha reportado en el miocardio y/o tejido vascular, con una función alterada que resulta en alteraciones intracelular, y otras vías de señalización, relevantes para la función cardiovascular (325). La utilidad directa de medir la glutatiónilación de estas proteínas como biomarcadores se ve obstaculizada por la dificultad para acceder al tejido en el que se producen estas modificaciones funcionalmente relevantes.

Tioles (R-SH), formados por un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno, confiriéndoles una elevada capacidad de oxidación. Su alta reactividad con especies reactivas que promueve la transformación de tioles en disulfuros (R-SS-R) considerándose que está relacionada con una mayor carga de prooxidantes en células y tejidos, así como la relación molar tiol/disulfuro (R-SH/R-SS-R) en células y tejidos, resultado ser un buen biomarcador del estrés oxidativo (326). La mayoría de los grupos sulfhidrilo (-SH) están en residuos de cisteína y el tiol de bajo peso molecular más abundante en células animales es el glutatión reducido (GSH). El GSH proporciona equivalentes reductores para enzimas involucradas en el metabolismo de ERO y ERN, eliminando productos de oxidación altamente tóxicos, reduciendo proteínas oxidadas o nitrosadas y contribuyendo al metabolismo de moléculas exógenas (327). La relación GSH/GSSG está estrechamente relacionada a la supervivencia celular, afectando a la proliferación, diferenciación y apoptosis celular, así como en la supervivencia de células tumorales (328). En la última década, se ha propuesto el índice de proteínas tioladas o IPT como parámetro asociado a situaciones de oxidación, siendo validado y aplicado al plasma de seres humanos sanos y de sujetos afectados por patologías en las que se presume que existe estrés oxidativo.

Glutatión y proteínas S-glutatióniladas, son sintetizadas en el interior de las células y pueden ser exportadas rápidamente a través de la membrana plasmática hacia el espacio extracelular. La vida media del GSH en plasma es de segundos-minutos (329). Las concentraciones sanguíneas de glutatión reflejan el estado del glutatión en otros tejidos menos accesibles, las mediciones del glutatión reducido (GSH) y el glutatión disulfuro (GSSG) en sangre se consideran esenciales como índice del estado del GSH en todo el organismo, así como la

razón GSH/GSSG, siendo indicadores útiles del estado de estrés oxidativo en humano (330).

Biomarcadores de oxidación de ADN, productos de oxidación, tales como la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG), la glicol-timina o el hidroximetiluracilo cuando reaccionan los ERO con los nucleótidos de guanina, timina o uracilo, respectivamente, de la cadena de ADN, siendo el más utilizado el 8-OHdG.

8-Hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) u 8-oxoguanina, es el biomarcador del daño o alteración oxidativa del ADN, más utilizado tanto para el ADN cromosómico como para el ADN mitocondrial (ADNmt) (331). Compuesto derivado de la oxidación de la guanina que, al parearse con las bases nitrogenadas de adenina o citosina, induce mutaciones en el ADN por sustitución de purinas por pirimidinas o viceversa (332). Este 8-OHdG puede determinarse mediante HPLC-EC en orina, cuyo valor medio fisiológico humano es de 23.0 ng/ml (333).

5,6-dihidroxi-5,6-dihidrotimidina o glicol timidina, es el producto de la oxidación de timidina, cuando reaccionan los ERO (radical hidroxilo) con los nucleótidos de timidina de la cadena de ADN. El glicol timidina, respecto a la mayoría de los derivados de la timidina, posee una elevada capacidad de mutagénesis sobre las moléculas de ADN, produciendo un daño oxidativo letal (304).

El análisis por HPLC o GC-MS de 8-oxo-2-deoxiguanosina (8-OHdG), después de la hidrólisis enzimática del ADN y la valoración del daño oxidativo por una electroforesis de célula simple o un ensayo cometa, son dos de las muchas técnicas utilizadas para detectar modificaciones de bases y aductos al ADN (310). Una técnica específica, para identificar las especies reactivas que se forman a partir del ataque de radicales libres contra la molécula del ADN, es la del Atrapamiento de Inmuno Spin (Immune Spin Trapping: ISP) (334).

Otros biomarcadores de estrés oxidativo se basan en evaluar los mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Superóxido dismutasa (SOD): Es la primera enzima de la desintoxicación y el antioxidante más potente de la célula. Es una enzima antioxidante endógena de primera línea de defensas celulares, cataliza la dismutación del radical del superóxido ($O_2^{\bullet-}$) al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular (O_2), lo

que hace que el anión superóxido potencialmente dañino sea menos peligroso (335). El SOD requiere un ión metálico como cofactor para su actividad, por lo que existen varias formas de la enzima. Se clasifican en tres isoenzimas, cada una con una localización y cofactor específico: Fe-SOD que se encuentra comúnmente en procariotas y cloroplastos de algunas plantas (ii) Mn-SOD que está presente en procariotas y mitocondrias de eucariotas y (iii) Cu/Zn-SOD es predominante en eucariotas y más distribuido, localizado básicamente en citosol pero también encontrado en cloroplastos y peroxisomas (336,337).

Catalasa (CAT), es una enzima antioxidante también de primera línea de defensa, presente casi en todos los tejidos vivos que utilizan el oxígeno. La enzima utiliza hierro o manganeso como cofactor y cataliza la degradación o reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al agua y al oxígeno molecular, completando en consecuencia el proceso de desintoxicación imitado por SOD. La enzima se localiza principalmente en los peroxisomas, es altamente eficiente. Las concentraciones de catalasa y su actividad varían en función del órgano, siendo elevadas en tejido hepático y eritrocitos, moderadamente elevadas en tejido renal y adipocitos, y baja en tejido cardíaco y tejido cerebral (338). La deficiencia o mutación de la enzima se ha relacionado con diversas condiciones de la enfermedad y anomalías (339).

Hemooxigenasa I ($HO-1$), es una proteína de choque térmico, es la isoforma inducible de la principal enzima implicada en el catabolismo del grupo hemo. Esta proteína participa en la regulación de procesos inflamatorios, en mecanismos de defensa antioxidante endógenos frente la presencia de algún daño y en la protección frente a la apoptosis, implicándose en diversas rutas de señalización celular (340).

Óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), ha sido detectada en células del sistema inmune como macrófagos, neutrófilos, células musculares lisas, queratinocitos, células mesenquiales, hepatocitos, fibroblastos y miocitos cardíacos, entre otros (310). La iNOS genera óxido nítrico que produce vasodilatación, potencial daño celular y disfunción cardíaca. Su actividad citostática y citotóxica intervienen en la defensa ante células tumorales e infecciones causadas por virus, bacterias y hongos, debido a la acción citostática y citotóxica que ha sido comprobada para dicho radical (341).

Nitritos totales, se utilizan como biomarcador de los niveles de producción de NO a fin de cuantificar los niveles de estrés nitrosativo. Una superproducción de NO desencadena su reacción con el anión superóxido y produce radicales peroxinitrilo. El radical peroxinitrilo es una ERN altamente reactiva que oxida y nitra, entre otros componentes celulares, lípidos, residuos de tirosina, ADN y enzimas. Este radical produce daño mitocondrial irreversible y reduce antioxidantes endógenos como el GSH, la SOD o el ácido ascórbico (342).

Ciclooxigenasa-2 (COX-2), esta enzima cataliza la formación de prostaglandinas, de tromboxano, y de levuloglandinas. Las prostaglandinas son mediadores autocoides que afectan virtualmente a todos los procesos fisiológicos y patológicos sabidos, vía su interacción reversible con los receptores acoplados G-proteína de la membrana (343). La COX-2 es inducida en el lugar de inflamación después de la estimulación con agentes pro-inflamatorios como IL-1, TNF α y lipopolisacárido (LPS) (344). Algunas investigaciones sugieren que la liberación desde células inflamatorias de NO; el cual es sintetizado a partir de L-arginina por la acción de la iNOS, incrementa la actividad de COX-2. La sobreexpresión de COX-2 está involucrada en la proliferación celular y la carcinogénesis en diferentes órganos, aunque inhibidores específicos de COX-2 previenen la carcinogénesis de pulmón (343).

Factor de transcripción nuclear κ B (NF- κ B), es un factor implicado en la inflamación y la activación del sistema inmune, es activado por agentes oxidantes y citoquinas. Este factor está preparado, de forma particular, para la defensa en aquellas condiciones que atenten contra la vida (infecciones virales y bacterianas o estrés físico) y realiza semejante función porque se encuentra en el citoplasma de casi todas las células (310).

II - JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

La prevalencia de las enfermedades cardiovasculares sigue siendo una de las principales causas de muerte a nivel mundial, ha ido en aumento desde la década del 90 hasta nuestros días. Uno de los factores más importante que influyen en el desarrollo y evolución de las mismas, son los estilos de vida inadecuados como hábitos nocivos, sedentarismo, estrés y los malos hábitos alimentarios, los cuales son factores modificables y su cambio repercute en las mejoras que suponen a la salud.

Está ampliamente descrito que los estilos de vida típicos de culturas más desarrolladas constituyen un importante factor de riesgo para el desencadenamiento y progresión de muchas enfermedades, como es el caso de las que afectan al sistema cardiovascular. El estrés y la mala alimentación son los principales retos para reducir la incidencia de este tipo de enfermedades. Esta mala alimentación se caracteriza principalmente por un consumo de alimentos con un elevado contenido en grasa, especialmente en grasas saturadas, por lo que las principales recomendaciones nutricionales son el descenso de grasa y colesterol en la dieta, con el objeto de controlar los niveles de lípidos circulantes.

Diversos estudios científicos y epidemiológicos muestran la influencia de la dieta en el organismo. Dicha influencia se manifiesta de un modo más directo en determinados parámetros bioquímicos, por ejemplo, el perfil de las grasas consumidas en la dieta se ve reflejado en la composición de las lipoproteínas plasmáticas. Por lo que se establece que, los lípidos de la dieta pueden alterar el metabolismo de las lipoproteínas y, por ende, ejercer un efecto sobre la lesión aterosclerótica.

Por tanto, es importante la sustitución de alimentos ricos en grasas saturadas por aquellos donde predominan las insaturadas, ya que se ha descrito en la literatura científica, los efectos beneficiosos que proveen este tipo de grasas. Si bien, los lípidos son nutrientes fundamentales para el correcto funcionamiento del organismo, como fuente de energía y como parte de las membranas celulares y de otros componentes esenciales. La longitud y el grado de insaturación determinan el tipo de ácidos grasos, sus efectos metabólicos y su papel modulador de los niveles de colesterol sanguíneo y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

Es ampliamente conocido el efecto de las grasas de la dieta en el organismo, aunque no se encuentra información precisa de la acción de las grasas

ingeridas en el desayuno, teniendo en cuenta que es el principal alimento del día, sobre el perfil lipídico plasmático y otros factores de riesgo cardiovascular.

Este estudio está diseñado para evaluar la hipótesis de que la grasa (saturada, poliinsaturada y monoinsaturada) ingerida en el desayuno a través de diferentes alimentos (mantequilla, margarina y aceite de oliva) pudiera modificar el perfil de lípidos plasmáticos, moléculas de inflamación y biomarcadores de estrés oxidativo, así como el riesgo cardiovascular en el colectivo de individuos analizados.

III - OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general que se plantea es analizar si el tipo de grasa ingerida en el desayuno es capaz de modificar el riesgo cardiovascular en individuos adultos que ya presentan riesgo cardiovascular.

3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Para alcanzar el objetivo general del proyecto de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Analizar la valoración nutricional de la dieta en mujeres con riesgo cardiovascular.
- Evaluar el efecto de tres tipos de grasa (AGS, AGPI y AGMI) ingeridas en el desayuno (como mantequilla, margarina y aceite de oliva, respectivamente) sobre el perfil lipídico sérico, en mujeres con riesgo de enfermedad cardiovascular.
- Evaluar si el cambio de grasa exclusivamente ingerido en el desayuno es suficiente para modificar las lipoproteínas, las apolipoproteínas y las subfracciones de lipoproteínas, como biomarcadores de riesgo cardiovascular, en mujeres con riesgo cardiovascular.
- Analizar el efecto de cada tipo de desayuno sobre el estado de inflamación, en mujeres con riesgo cardiovascular.
- Analizar el efecto de cada tipo de desayuno sobre marcadores de estrés oxidativo en mujeres con riesgo cardiovascular.
-

IV - MATERIAL Y MÉTODO

IV - MATERIAL Y MÉTODO

4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

La muestra poblacional está constituida por mujeres posmenopáusicas, que viven en la misma institución, tienen los mismos hábitos de vida y los alimentos diarios son idénticos, todas residen en Murcia (España). Todas las voluntarias que cumplían con los criterios de inclusión, se inscribieron en el estudio después de la firma de su consentimiento informado.

4.1.1 Criterios de inclusión

El criterio de inclusión se basó en incluir mujeres institucionalizadas que ya no tuviesen la menstruación durante al menos un año, de una institución con la dieta perfectamente controlada y que presentaban al menos, dos de los siguientes factores de riesgo cardiovascular:

- Sobrepeso/obesidad
- Hipertensión arterial
- Hipercolesterolemia
- Tabaquismo
- Diabetes
- Enfermedad cardiovascular (previa al tiempo del estudio)
- Antecedentes familiares con enfermedad cardiovascular

De este modo cada una de las seleccionadas presentó al ser incluida en el estudio, al menos dos factores de riesgo cardiovascular, adicionales a la propia situación posmenopáusica.

4.1.2 Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión para la selección de los individuos son:

- varones
- mujeres que aun tengan la menstruación

- menores de edad
- hábitos dietéticos anormales (vegetarianas, veganas, sin consumo de frutas o verduras, etc).
- deterioro cognitivo significativo, trastornos psiquiátricos
- tratamiento farmacológico crónico que pudieran afectar la efectividad de intervención dietética (corticosteroides, hormonas tiroideas, antidiabéticos orales o fármacos hipolipemiantes)
- enfermedades crónicas que pueden interferir con la terapia dietética (cáncer, renal o insuficiencia hepática, condición gastrointestinal crónica)
- episodios agudos de enfermedad durante el estudio
- sujetos que habían seguido una dieta hipocalórica en el momento de la asignación o en los tres meses anteriores al inicio del estudio.

4.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un ensayo clínico intervencionista, longitudinal, aleatorizado y cruzado (Figura 11), diseñado para evaluar el efecto de tres tipos de grasas ingeridas durante el desayuno en el metabolismo lipídico de las voluntarias. La aleatorización se llevó a cabo con la ayuda de una macro diseñada en Visual Basic para el programa Microsoft Excel.

El muestreo es polietápico, primero por localización de las voluntarias institucionalizadas, que se ofrecen a participar. Se trata de una población con riesgo cardiovascular, mujeres postmenopáusicas y con al menos dos factores de riesgo cardiovascular cuantificables, es decir, que verificaron los criterios de inclusión/exclusión descritos previamente.

A cada voluntaria se le rellena un archivo con datos personales, demográficos, hábitos de vida y clínicos. Así mismo, se realiza una evaluación nutricional de la dieta que habitualmente sigue esa persona, por si se detectan alteraciones que causen la no aceptación de esa voluntaria en la muestra poblacional. Se abre otra ficha con medidas antropométricas: peso, talla y perímetro de cintura y se toma la medida de tensión arterial.

El diseño del estudio no puede ser doble ciego, ya que las características organolépticas permiten a la muestra poblacional diferenciar los tres tipos de desayuno, pero sí es simple ciego, ya que los investigadores que realizan las

analíticas de laboratorio y el análisis estadístico de los datos desconocen a que grupo pertenece cada una de las voluntarias.

Cada voluntaria fue tratada con tres tipos de desayunos diferenciados en su composición lipídica: desayuno 1 o D1 (que se caracteriza por un mayor contenido de grasas saturadas), desayuno 2 o D2 (que se caracteriza por un mayor contenido de grasas polisaturadas) y desayuno 3 o D3 (que se caracteriza por un mayor contenido de grasas monoinsaturadas).

Dentro de la muestra poblacional se establecieron aleatoriamente 6 subgrupos, diferenciados entre sí por los órdenes en la ingesta de cada tipo de desayuno, eliminando así el posible sesgo por el que el orden de la ingesta pudiera interferir en los resultados:

- Subgrupo 1: D1/D2/D3
- Subgrupo 2: D1/D3/D2
- Subgrupo 3: D2/D1/D3
- Subgrupo 4: D2/D3/D1
- Subgrupo 5: D3/D1/D2
- Subgrupo 6: D3/D2/D1

A las voluntarias participantes, previo a la intervención, se les solicita adecuadamente, en tiempo y forma, tanto la firma del consentimiento de participación en el estudio, como la firma del consentimiento informado, ya que ambas eran necesarias para llevar a cabo el estudio (Anexo 1, Anexo 2).

El estudio se realiza acuerde a los principios de la Declaración de Helsinki (Seúl, octubre 2008) (345). Los investigadores y todas las personas involucradas en este estudio se acogen y siguen estos principios.

El marco legal donde se recogen las normas éticas que guían este ensayo es el siguiente:

- Decreto nº 58/1998, de 8 de octubre de 1998, por el que se regulan los Comités Éticos de Investigación Clínica en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.
- Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

El estudio se presentó para su aprobación al Comité de Ética de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, y fue aprobado por dicho comité (Anexo 3)

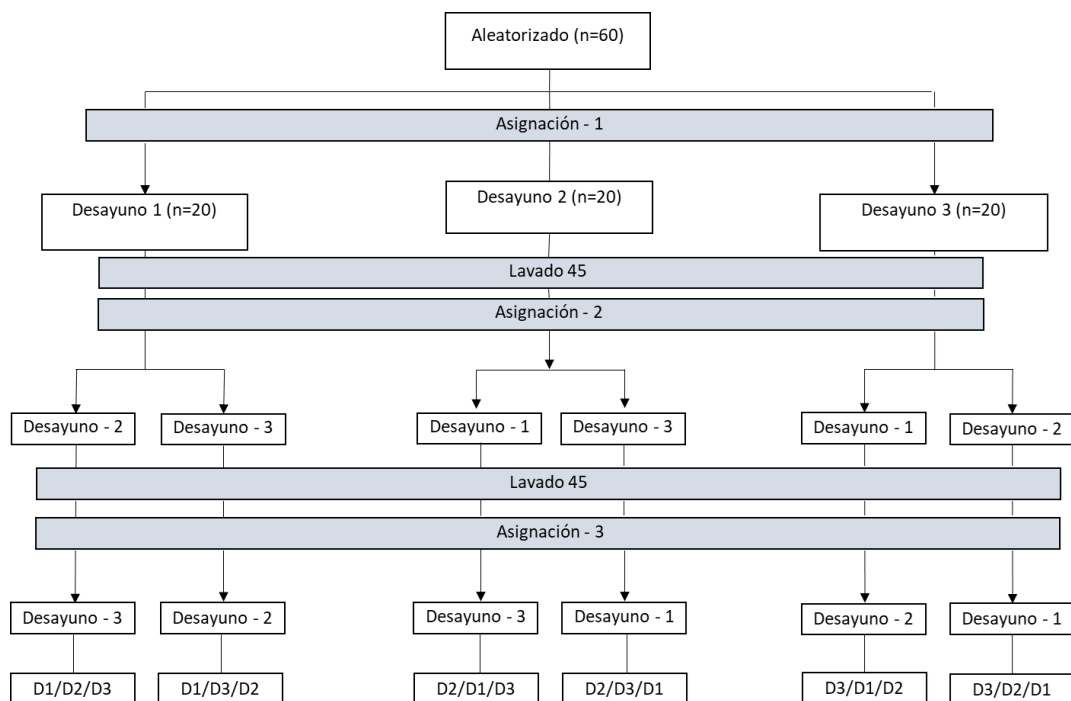


Figura 11. Diseño del estudio aleatorizado y cruzado. [n: número de voluntarias, D1: desayuno tipo 1, D2: desayuno tipo 2, D3: desayuno tipo 3. D1/D2/D3, D1/D3/D2, D2/D1/D3, D2/D3/D1, D3/D1/D2 Y D3/D2/D1: Ordenes de administración de cada tipo de desayuno en los subgrupos de la muestra poblacional.

4.2.1 Identificación y protección de datos de las voluntarias

A cada voluntaria participante se le asigna un código cuyos datos figuran en la base de datos informatizada. Así todas las voluntarias reclutadas pueden ser identificables durante todo el periodo del estudio, pero en la base de datos informatizada sus datos figuran codificados y las claves para la identificación permanecen adecuadamente custodiadas por el investigador principal del estudio. Así mismo, el investigador principal conserva una lista personal de la información completa de todas las voluntarias (números de teléfono y nombres

completos), de tal manera permita una identificación y comprobación posterior de los registros, por si fuera necesario en algún momento.

La información de cada voluntaria obtenida en el presente estudio es de carácter confidencial y su difusión a terceras personas está prohibida. Así mismo, la identidad de las voluntarias y centros no podrá ser revelada ni publicada por el investigador, sin la previa aprobación de la/s voluntaria/s.

El investigador confirma los derechos de las voluntarias a ser protegidas frente a la irrupción de su privacidad. Así mismo, los datos recopilados por el investigador solo se podrán identificar a través de un número de identificación asignado a cada participante y dicha identidad no se podrá conseguir sin el consentimiento del investigador y de la voluntaria. El investigador garantiza que la utilización y divulgación de la información científica protegida que se ha obtenido durante el estudio, cumple la legislación relacionada con la privacidad y protección de datos personales.

Si por motivos legales o porque una auditoria pretenda evaluar la calidad de los datos del estudio, fuese obligatorio conocer la identidad del/os participante/s, el investigador debe cumplir siempre con las normas de confidencialidad. Por este motivo se debe seguir lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de "Protección de Datos de Carácter Personal".

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1 Tipos de desayunos

Cada una de las voluntarias se sometieron a la ingesta de 3 tipos de desayuno (D1, D2 Y D3) que se diferencian exclusivamente en el tipo de grasas que son aportadas a través de diferentes alimentos:

- mantequilla (20g), como fuente principal de grasas saturadas (D1)
- margarina (20g), como fuente principal de grasas poliinsaturadas (D2)
- aceite de oliva (20g), como fuente principal de grasas monoinsaturadas (D3)

El resto de los componentes del desayuno, idénticos en los tres tipos de desayuno, consistía en leche semidesnatada (200 ml), café instantáneo/polvo de cacao (1 sobre monodosis de 18 g), azúcar (1 sobre monodosis de 8 g) y dos tostadas de pan blanco. Estos formatos de dosis única son disponibles

comercialmente y de uso frecuente, se ofrece a diario en hospitales, restaurantes, hoteles, café de negocios, centros de estudio, entre otros, y son consumidos por un alto porcentaje de la población en el desayuno. Excepto el tipo de grasa que contribuye para el desayuno, la composición nutricional de las otras comidas diarias era idéntica (1580 ± 485 Kcal / día, 60 ± 23 g de proteínas / día, 202 ± 58 g de carbohidratos / día, 60 ± 29 g de grasas / día). Las dietas fueron diseñadas dependiendo de los requisitos de los voluntarios y en función de los hábitos nutricionales de los voluntarios para mejorar adherencia. Al comienzo del estudio, los voluntarios recibieron instrucciones de seguir la dieta asignada, sin modificar su estilo de vida (actividad física, hábitos de sueño, horarios de comidas, etc.) durante el periodo experimental.

Cada participante consumió los tres tipos de desayuno durante 1 mes consecutivo y entre cada tipo diferente de desayuno se estableció un periodo de lavado de 45 días, que consistía en administrar un desayuno constituido por los componentes comunes antes mencionados y en lugar de las grasas evaluadas, mermelada de melocotón (50g) para las tostadas y un zumo de piña (200ml).

Los voluntarios rellenaron diariamente una ficha que refleja cualquier incidencia relacionada con el desayuno o con cualquiera de las comidas del día.

4.3.2 Extracciones sanguíneas

A cada una de las participantes en el estudio se le extrajo sangre de la vena antecubital en ayunas durante el primer y último día del período (un mes) que consumen cada uno de los tres tipos de desayunos de la intervención. Para las extracciones sanguíneas se desplazó el investigador con un enfermero (que era el profesional que realizó las extracciones) hasta el lugar donde residían las voluntarias del estudio (Figura 12).

Para realizar una extracción sanguínea correcta, se siguen los siguientes pasos:

1. Se identifica al paciente. Tomando datos de nombre y apellidos. Se corrobora la petición confirmando que pertenece al paciente que se pincha y al material preparado.

2. Se garantiza que el paciente esté en ayunas.
3. Se transmite al paciente la información referente a la extracción sanguínea.
4. Se realiza la extracción teniendo en cuenta las medidas y protocolos de seguridad. Se coloca el compresor a 7-10 cm por encima de la zona de punción elegida, en la mayoría de los pacientes el acceso vascular fue la fosa antecubital del brazo contrario a la FAVI. A continuación, se aplica una solución antiséptica con Clorhexidina al 2% y se deja secar. La punción se realiza con un ángulo de 30-40 grados.
5. Una vez realizada la punción, se introduce el tubo en la gradilla y se deja fluir la sangre hasta que se agote el vacío del mismo.
6. Se etiquetan los tubos cuidadosamente.
7. Se envía las muestras codificadas al laboratorio de referencia.



Figura 12. Extracción sanguínea (región antecubital)

Las analíticas se realizaron sobre suero obtenido de la sangre colectada de la muestra de la población de estudio. Las muestras de sangre se recogieron con anticoagulante tripotásico EDTA Vacuntainer® en tubos de 9mL y se mantuvieron en hielo. Asimismo, las muestras de sangre se codificaron con el fin de que los analistas desconozcan el tipo de desayuno con el que se corresponden y se ingresan al sistema informatizado (Figura 13).

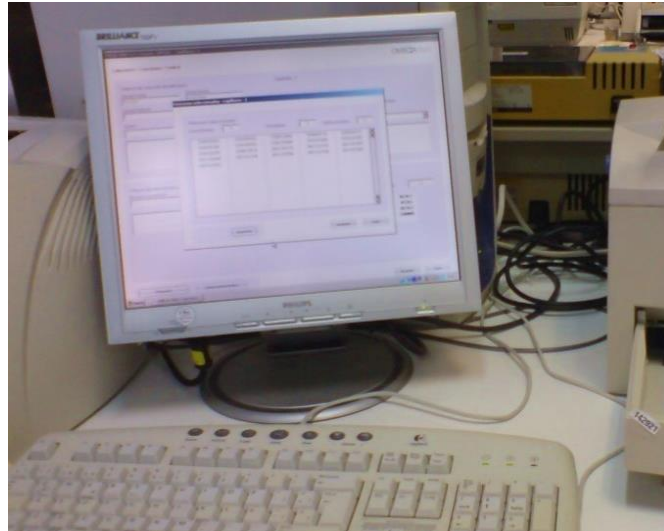


Figura 13. Ingreso de codificación al sistema informatizado

Las determinaciones experimentales de este trabajo se desarrollaron entre los laboratorios del Departamento de Tecnología de Alimentos y Nutrición de la Universidad Católica San Antonio y del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (HUVA), ambos en Murcia, los cuales disponen de la infraestructura de material y equipos necesarios para realizar las determinaciones analíticas.

4.3.3 Valoración nutricional

A cada voluntaria seleccionada se le realizaron medidas de tensión arterial, perímetro de la cintura, peso y talla (IMC). Así mismo, se les realizaron encuestas para conocer sus hábitos de estilo de vida (actividad física, funcionamiento digestivo, horas de sueño, etc.) (Anexo 4). La valoración dietética se realizó mediante encuestas recordatorio de 24 horas (en días no consecutivos e incluyendo uno festivo) para valorar nutricionalmente la ingesta habitual (Anexo 5). El recordatorio consiste en recopilar toda la información sobre la ingesta total (comidas, bebidas u otros) en las 24 h anteriores a la entrevista, por lo que cada voluntaria debe recordar todos los alimentos (tipo y cantidad) consumidos en el día anterior, el cuestionario se realizó individualmente y de forma presencial, siendo las voluntarias entrevistadas siempre por el mismo investigador, a fin de

evitar posibles sesgos. Se realizó a cada voluntaria esta evaluación al principio del estudio, durante tres días no consecutivos. Estas encuestas se realizaron durante cada mes y cada periodo de lavado, también con 3 días no consecutivos en cada caso. Estas valoraciones tuvieron como objetivo evaluar si existían diferencias en la composición nutricional de la dieta de las diferentes participantes, a pesar de estar todas habitando en la misma institución y con el mismo régimen de comidas.

4.3.3.1 *Análisis informático de la valoración nutricional de las dietas*

Los datos obtenidos en las encuestas recordatorio 24h fueron procesados mediante el software Dietsource®, programa informático desarrollado para el cálculo y valoración nutricional de dietas y menús hospitalarios.

El programa requiere la introducción de los alimentos consumidos por las voluntarias, se obtienen resultados referidos tanto al contenido energético de la dieta ingerida, como al contenido en macro y micronutrientes, detallando los diferentes tipos de ácidos grasos y otros componentes nutricionales de la dieta.

4.3.4 **Parámetros antropométricos y Tensión arterial**

Los protocolos de medición, registro de datos, material antropométrico utilizado, puntos antropométricos de referencia marcados y medidas tomadas con las que se ha trabajado en el presente estudio, son acordes al protocolo internacional para la valoración antropométrica Isak (346).

Procedimientos

Los procedimientos empleados para realizar las mediciones son:

- Previa a cada medición se deben limpiar las manos del antropometrista.
- Las mediciones deben realizarse en privado, en una habitación o en un espacio reservado.
- El espacio donde se realizan las mediciones debe ser adecuado a fin de ofrecer privacidad y una temperatura agradable para el sujeto.
- Así mismo a cada sujeto se ofrece la opción de que le acompañe un amigo o familiar.

-Puesto que todas las personas poseen un “espacio personal” que al ser invadido les hace sentir incómodas o amenazadas, se debe respetar este espacio y para ello la mayoría de las mediciones se toman desde el costado o por detrás, ya que la parte frontal es la más personal. Por tanto, los antropometristas deben recibir formación en proxemia (espacio personal), háptica (aspectos socioculturales del contacto físico), y sensibilidades culturales a la hora de medir.

-Siempre que sea posible, debe ofrecerse la oportunidad de ser medidos por antropometristas del mismo sexo puesto que algunos sujetos sienten mayor confianza si las mediciones son llevadas a cabo por personas de su mismo sexo, y así fue realizado en este estudio.

- Se deben establecer claramente los procedimientos por escrito a fin de abordar las quejas e incidentes que puedan ocurrir.

Vestimenta

Respecto a la vestimenta, los antropometristas deben ser sensibles y respetar las creencias y tradiciones culturales del sujeto.

Durante las mediciones, se puede pedir al sujeto que adopte diferentes posiciones. Con el fin de realizar las mediciones de la manera más rápida y eficiente, por lo que se puede solicitar al sujeto que acuda al estudio con un mínimo de ropa o ropa ligera. La ropa interior no es considerada apropiada para realizar las mediciones.

La vestimenta debe tener un grosor mínimo y adaptarse a la figura natural del cuerpo y de ser posible permitir el acceso a aquellas zonas del cuerpo de realizarse la medición.

Se debe tener en cuenta que medir un sujeto en un espacio muy pequeño o estrecho, será incómodo y llevará a mediciones imprecisas. El antropometrista debe tener espacio suficiente, para poder moverse y utilizar el instrumental cómodamente alrededor del sujeto. Se sugiere disponer de un espacio mínimo de 2,5 m x 2,5 m, así también, de una mesa pequeña para el equipo y el registro de los datos. Es importante que la habitación esté libre de objetos que comprometan la salud de las personas, a fin de evitar accidentes, como caídas u otros.

De ser posible, se sugiere contar con un anotador a fin de proveer ayuda en el registro de datos. Así el antropometrista se centrará en la técnica y no tendrá problemas para recordar las medidas realizadas anteriormente cuando se repiten segunda o tercera medida. El trabajo en equipo del medidor y el anotador comprende que el anotador debe estar dispuesto a ayudar al medidor en todos los casos que sean necesarios, así mismo debe estar entrenado en las técnicas de registro de datos. Así también, ha de verificar la exactitud de la localización de un punto de medición y verificar el orden correcto de las mediciones.

Si bien se siguen con máxima atención a las normas, es posible incurrir en errores durante el registro de los datos. Lo cual puede ocurrir por mala dicción del medidor, distracción del anotador, entre otros. A fin de evitar errores, el anotador tiene que repetir los valores de las medidas que el medidor le indica mientras va registrando, lo cual permitirá que el medidor verifique en el mismo momento si el dato que se va a registrar es el correcto. Siempre se recomienda que las mediciones se repitan hasta tres veces. Cuando se toman tres mediciones, se utiliza el valor de la mediana para el análisis de datos y así se realizó en el presente estudio.

Material antropométrico

El material antropométrico debe ser sencillo y de fácil manejo, preciso en su medición y homologado. Se requiere disponer de un material determinado acorde a las medidas específicas a ser tomadas. A continuación, se describe el equipo necesario y utilizado para el estudio antropométrico:

- Estadiómetro o tallímetro: Se utiliza para la toma de medidas de la estatura y talla sentado. En trabajo de campo, como ha sido el presente estudio, cuando no se dispone de un estadiómetro, se puede usar una cinta métrica adosada a una pared controlando su verticalidad y altura, complementado con una escuadra o un instrumento similar colocado a 90°. Material utilizado: cinta métrica (marca Seca) adosada a la pared con cinta adhesiva, comprobando previamente su verticalidad, y escuadra para tomar la medida sobre el vertex de la cabeza.
- Báscula (Figura 14): El instrumento sugerido es la báscula con precisión mínima de 100g. Aunque el uso de la báscula eléctrica está normalizados,

puesto que son de fácil transporte y pueden utilizarse tanto en el laboratorio como en trabajos de campo. Además, la precisión mínima de estos instrumentos es de 50g.



Figura 14. Impedanciómetro-Báscula, marca Tanita (BF-350)

- Cinta antropométrica (Figura 15): Tiene que ser flexible, inextensible, anchura no superior a 7 mm, con una zona neutra de por lo menos 4 cm antes de la línea de inicio del cero. Se sugiere una cinta métrica de acero flexible con una longitud mínima de 1,5 m de largo.



Figura 15. Cinta de acero (marca Lufkin Executive).

Calibrada en centímetros con graduación milimétrica. El muelle o sistema de recogida y extensión de la cinta deben mantener una tensión constante y permitir su fácil manejo. Se usa para medir alturas, perímetros, pliegues cutáneos y marcar las distancias entre las protuberancias o puntos óseos de referencia

anatómica. La cinta debe guardarse con retracción anatómica en su respectiva caja o estuche.

Material auxiliar:

Todo material necesario para las medidas o registro de datos, como, por ejemplo:

- Silla o taburete de madera para medidas en las que el sujeto debe estar sentado.
- Lápiz dermatográfico para señalar los puntos anatómicos.
- Material necesario para el registro de datos.

Puntos antropométricos de referencia marcados

Son los puntos identificables del esqueleto que, en general, están situados en la superficie del cuerpo y son marcas anatómicas que identifican la localización exacta del punto anatómico a ser medido, o a partir del cual se localiza una zona de tejido blando. Se localizan a través de la palpación o la medición. Al palpar los puntos corporales, se debe tener especial atención a fin de mantener un ángulo de 90° entre el dedo del antropometrista y la superficie cutánea del sujeto para identificar las superficies óseas evitando que la piel haya sido retirada de su posición normal. A fin de asegurar la comodidad del sujeto y la precisión de la medición, el antropometrista debe tener las uñas adecuadamente cortadas.

El punto de referencia o marca se localiza con el dedo pulgar o índice. Liberándose el punto a fin de evitar alguna distorsión de la superficie cutánea, y luego se reubica el punto y se marca con un lápiz dermatográfico. El punto se ubica por encima de la marca mediante un punto o línea pequeña. Luego, se verifica la marca verificando que no haya habido ningún desplazamiento cutáneo respecto a la superficie ósea subyacente. Al utilizarse una cinta antropométrica para realizar las marcas, éstas se marcan por el borde superior de la cinta.

Medidas Antropométricas

La medición de los puntos anatómicos debe realizarse en secuencia continua a fin de evitar el sesgo del antropometrista. Esto indica, que debemos obtener una serie de completa datos previo a repetir las medidas de la segunda y tercera medición. De ser posible, las puntuaciones anteriores deben ser olvidadas por el antropometrista.

Las medidas no deben tomarse tras una actividad física, ni tras deporte, sauna o ducha, ya que el ejercicio, el agua caliente y el calor pueden producir hiperemia (aumento del flujo sanguíneo) o deshidratación. Lo cual puede hacer que las mediciones sean imprecisas (347).

La posición inicial del sujeto evaluado debe ser de pie, con la cabeza y los ojos dirigidos hacia el infinito, los brazos relajados a lo largo del cuerpo con los dedos extendidos, repartiendo el peso del cuerpo por igual en ambas piernas y los pies con los talones juntos formando un ángulo de 45° (347).

Las medidas antropométricas tomadas en este estudio fueron las siguientes:

4.3.4.1 *Talla*

La talla se toma por medio de una cinta métrica metálica adherida a la pared, controlando su verticalidad y altura, complementado con una escuadra con el fin de apoyar esta sobre la cabeza del sujeto a 90° con la pared, para identificar la altura.

Para la medida de la talla se toma la distancia entre el vertex y las plantas de los pies del sujeto, medida en cm. Se debe posicionar a la voluntaria de pie, descalza, con los talones juntos, rodillas estiradas, glúteos y la parte superior de la espalda en contacto con la escala. La persona encargada de tomar la medida coloca, la escuadra firmemente sobre el Vertex, comprimiendo el cabello. La medición se toma antes de que el sujeto espire.

4.3.4.2 *Peso*

La medida del peso corporal de las voluntarias se realizó por medio del bioimpedanciómetro con báscula, marca Tanita (modelo: BF-350), con precisión de $\pm 100\text{g}$ (rango 0,1-150Kg)

La báscula se situó en una superficie plana y horizontal, comprobando el cero antes de cada pesada y la superficie de la báscula se limpiaba con alcohol previamente a cada medición para evitar posibles contagios. Estas medidas se realizan con ropa ligera y sin calzado. La voluntaria permanece de pie sin apoyo, descalza, pisando sobre las cuatro placas metálicas de la báscula. La voluntaria debe permanecer erguida, lo más inmóvil posible hasta que se registre el peso.

4.3.4.3 *Perímetro de cintura*

El perímetro de la cintura se toma por medio de una cinta métrica. Es la medida del contorno de la cintura cuyas unidades están en cm. Cuando se mide el perímetro de la cintura, la cinta métrica se sostiene en ángulo recto con el eje del segmento del cuerpo que se está midiendo y la tensión de la cinta debe ser constante, sin compresión de la piel minimizando los espacios entre la piel y la cinta. Se mide el perímetro del abdomen en su punto más estrecho, entre el borde costal lateral inferior (10ª costilla) y la parte superior de la cresta ilíaca, perpendicular al eje longitudinal del tronco. La voluntaria debe adoptar una posición relajada, de pie, y con los brazos cruzados en el tórax. El investigador se coloca al frente o a un lateral del sujeto, los ojos deben estar a la altura de la cinta y directamente frente al cero para evitar errores de inclinación. La cinta se posiciona sosteniendo de frente a la superficie del cuerpo que va a ser medida, se pasa el extremo de la cinta por detrás de la extremidad o tronco y se sostiene el extremo y la caja de la cinta métrica con la mano derecha y con la mano izquierda, se ajusta en el nivel más estrecho de la cintura. El sujeto debe respirar con normalidad y la medición se realiza al final de una espiración normal.

4.3.4.4 *Cálculo de IMC*

A partir de las medidas de peso y talla se calcula el índice de masa corporal.

$$IMC = \frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Altura}^2(\text{m}^2)}$$

El IMC constituye uno de los índices más utilizados en la actualidad, fundamentalmente se encuentra mejor estandarizado en personas adultas, por tanto, se utiliza para clasificar el estado ponderal de la persona adulta y en el presente estudio todas las voluntarias son mayores de 18 años, según su índice de masa corporal, se clasifica según el Consenso de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) (Tabla 12) (348).

Tabla 12. Criterios SEEDO para definir la obesidad en grados según el índice de masa corporal IMC

	Valores límites de IMC (Kg/m ²)
Peso insuficiente	<18,5
Peso normal	18,5-24,9
Sobrepeso grado I	25-26,9
Sobrepeso grado II (preobesidad)	27-29,9
Obesidad tipo I	30-34,9
Obesidad tipo II	35-39,9
Obesidad tipo III (mórbida)	40-49,9
Obesidad tipo IV (extrema)	>50

4.3.4.5 Tensión arterial

Con la finalidad de tener más indicadores de riesgo cardiovascular, a parte de la composición corporal y valoración de la ingesta dietética, llevamos a cabo la medición de la tensión a las voluntarias del estudio.

La tensión arterial se midió utilizando el tensiómetro modelo Beurer MB35. La presión arterial se expresa en milímetros de mercurio sobre la presión atmosférica (mmHg).

Antes de realizar esta medida se les explica el procedimiento de la técnica para evitar en la medida de lo posible factores externos que pudieran causar errores. Se pide a las voluntarias del estudio que se mantengan relajadas, en silencio y se toma la tensión arterial 2 o 3 veces, estableciendo la media de estas determinaciones como valor final.

Los parámetros para la presión sanguínea se determinaron según el JNC 7 (349), como; presión óptima: la menor a 120/80 mm de Hg; prehipertensión: entre 120/80 y 139/89 mm de Hg; e hipertensión: la igual o mayor a 140/90 mm de Hg.

4.3.5 Parámetros bioquímicos

Todas las extracciones sanguíneas se realizaron en las mismas condiciones y las muestras fueron procesadas por el mismo personal, siguiendo las recomendaciones de los Estándares de Comité Clínico Nacional para Laboratorios [A] y utilizando los valores de referencia de Roche Diagnostics GmbH [B].

Después de centrifugar a 3500 rpm durante 10 minutos a 4°C (Heraus Biofugue Stratos, Thermo Scientific, Germany), el tiempo medio entre la extracción y la centrifugación fue de 50 min (rango intercuartil: 30-70min) (Figura 16). Las muestras de suero no analizadas al momento, se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. En las muestras se analizaron los siguientes parámetros:

- Bioquímica general en suero:
 - o glucosa,
 - o urea,
 - o creatinina,
 - o ácido úrico,
 - o proteínas totales,
 - o albúmina,
 - o Colesterol total plasmático (CT),
 - o Triglicéridos,
 - o Colesterol HDL(HDLc),
 - o Colesterol LDL (LDLc),
 - o GOT,
 - o GPT,
 - o sodio,
 - o potasio
 - o cloro,
- Proteína C reactiva.
- Homocisteína
- Estado antioxidante total plasmático (TAS)
- Lipoproteínas (Quilomicrones, Beta, Prebeta y Alfa) y Lp(a)
- Apoproteínas: A-I, A-II, E y B (ApoAI, APo AII, ApoE y ApoB)
- Subfracciones de LDL
- Citoquinas
- LDL oxidadas (LDL ox)



Figura 16. Preparación de muestras de suero

La bioquímica general se realiza en la Unidad de Bioquímica del HUVA, con un analizador Roche/Hitachi Cobas C711 (Roche Diagnostics, Manheim, Alemania) (Figura 17), de acuerdo a sus protocolos para cada analítica: Glucosa (kitGLUC3 de Roche Diagnostics), Urea (kit UREAL de Roche Diagnostics), Creatinina (kitCREJ2 de Roche Diagnostics), Ácido úrico (kitUA2 de Roche Diagnostics), Proteína total (kit TP2 de Roche Diagnostics), Albumina (kit ALB2 de Roche Diagnostics), Colesterol Total (kit CHOL2 de Roche Diagnostics), Triglycerides (prueba colorimétrica y enzimática), HDLc (kit HDLC3 de Roche Diagnostics), LDLc. (Friedewald, Levy y Fredrickson formula), GOT o AST (aspartate aminotransferase, kit ASTL de Roche Diagnostics), GPT o ALT (alanine aminotransferase, kit ALTL de Roche Diagnostics); Sodio, Potasio and Cloro (electrodos ion-selectivo usando carriers neutros para determinación de sodio y potasio e intercambio iónico para determinaciones de cloro).

La proteína C reactiva se cuantifica por nefelometría, (N High Sensitivity CRP, Behring, Marburg, Alemania).

Otras variables analíticas realizadas en las muestras de suero se describen a continuación:



Figura 17. Autoanalizador HUVA Hitachi

4.3.5.1 *Análisis de homocisteína*

Fundamento

La homocisteína se midió por Inmunonefelometría en BN ProSpec® (Siemens, Barcelona, Spain) (Figura 18). La homocisteína ligada presente en la muestra se reduce a homocisteína libre por la acción del ditiotreitól, y se convierte enzimáticamente en S-adenosil-homocisteína (SAH) en la siguiente fase. La S-adenosilcisteína conjugada (SAC), añadida al comienzo de la reacción, compete con la SAH de la muestra mediante la unión de anticuerpos anti-SAH unidos a las partículas de poliestireno. En presencia de SAH, o no hay agregación o se produce una agregación de partículas muy débil. En ausencia de SAH en la muestra, se produce una agregación de las partículas reacción, menor será la señal de luz dispensada. El resultado se evalúa en comparación con un estándar de concentración conocida.

Reactivos:

- N HCY, REF OPAX
- N Reactivo HCY
- NHCY RA; SR A; SR B
- Sistema BN* II o BN ProSpec
- N Estándar proteínas SL, REF OQIM
- Control proteínas SL/L, REF OQIN; SL/M, REF OQIO; SL/H, REF OQIP

- N diluyente, REF OUMT
- Tapones antievaporación BN*II (opcionales), REF OVLE

Método

- Se lleva a cabo automáticamente por el sistema software del equipo.
- Las muestras se diluyen automáticamente a 1:5 con N diluyente. Las diluciones deben medirse en un plazo máximo de cuatro horas. Si los resultados obtenidos se encuentran por encima del intervalo de medición, el ensayo puede repetirse utilizando una dilución de muestra de 1:20.

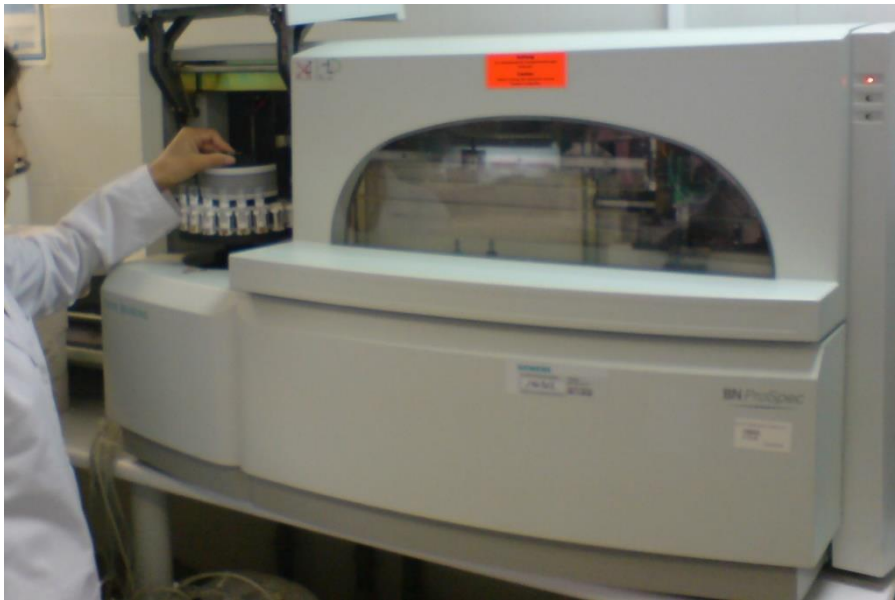


Figura 18. Medición de homocisteína en las muestras

4.3.5.2 *Análisis del estado antioxidante total (TAS)*

Fundamento

Para medir el estado antioxidante total se utiliza el Kit para TAS suministrado por Randox Laboratories. La metamioglobina reacciona con el peróxido de hidrógeno para formar especies radicalarias de ferrilmioglobina. El cromógeno ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina 6-sulfonato)) se incuba con la ferrilmioglobina para producir el catión radical ABTS⁺, relativamente estable de un color azul-verdoso que es medido a 600 nm. Los antioxidantes contenidos en

las muestras añadidas causan la supresión de ese color, en un grado que es proporcional a su concentración. El sistema se estandariza usando Trolox, un análogo hidrosoluble del α -tocoferol. La unidad de capacidad antioxidante en el plasma es la concentración (mM) de una disolución de Trolox que tiene una capacidad antioxidante equivalente a 1 ml del plasma se investiga. El rango del ensayo es de 0 a 2.5 mM de Trolox.

Reactivos

- TAS cromógeno ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina 6-sulfonato))
- TAS ferrilmioglobina
- TAS peróxido de hidrógeno

Método

- Las muestras de sangre son recogidas en tubos que contienen EDTA como anticoagulante y se centrifugan a 6000 rpm / 10 minutos (a 25^o C) introducidas en tubos Eppendorf en una centrífuga de sobremesa (Eppendorf™ 5424, FA 45-24-11, España).
- El suero obtenido es refrigerado inmediatamente a 4^o C hasta su posterior análisis.
- El estado antioxidante total plasmático se determina espectrofotométricamente con un espectrofotómetro Varian Cary 50-Bio UV-Vis y los reactivos contenidos en el Kit comercializado para TAS por Randox Laboratories (HN5067).

4.3.5.3 Análisis de Lipoproteínas: Quilomicrones, Beta, PreBeta y Alfa

Fundamento

Las lipoproteínas se midieron con Hydragel 7 Liprotein® kit (Sebia, Lisses, France), es decir los complejos circulantes formados por lípidos y proteínas. En los geles de agarosa, las lipoproteínas se separan por su orden de movilidad creciente: los quilomicrones: moléculas muy grandes con un alto contenido en triglicéridos, presentes en forma de pequeñas partículas en el plasma y responsables de la opacidad del suero. Normalmente permanecen en el punto de aplicación. Las lipoproteínas beta o LDL (Lipoproteínas de Baja Densidad) migran normalmente en la posición de las beta-2 globulinas. Las lipoproteínas pre-beta rápidas: esta fracción está compuesta de lipoproteína (a) (Lp(a)), que se parece a

las LDL en tamaño y composición. Puede verse a la Lp(a) migrando entre VLDL y HDL cuando está presente en una concentración suficientemente alta. Las alfa lipoproteínas o HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad) son las más rápidas. Representan la mayor parte de las lipoproteínas y migran en la posición de las alfa-2 globulinas.

Reactivos

- Geles de agarosa PN4104
- Esponjas tamponadas PN4104
- Colorante negro Sudán (solución stock) PN4104
- Papeles de filtro fino

Método

Etapa de la migración: 1. Colocar el aplicador para el HYDRAGEL para lipoproteínas y Lp(a) en una superficie plana aplicar 10 μ L de muestra y colocar los aplicadores en cámara húmeda con el peine hacia arriba, dejar difundir la muestra durante 5min. 2. Se eleva los soportes de los electrodos y el aplicador. 3. Seleccionar el programa de migración. 4. Asir las esponjas tamponadas por los extremos de plástico agujereados con las puntas metálicas del soporte de los electrodos. 5. Abrir el contenedor del HYDRAGEL, extender un papel de filtro fino de manera rápida y uniforme sobre la superficie del gel para absorber el exceso de líquido. Dispensar 120 μ L de agua destilada o desionizada para el HYDRAGEL 7 LIPO + Lp(a), en el tercio inferior del marco serigrafiado en la Superficie de Control de Temperatura del módulo de migración. Aplicar el gel (la cara de agarosa hacia arriba), haciéndolo contactar con el agua. 6. Devolver ambos soportes a su posición original. En esta posición, las esponjas tamponadas no tocan el gel. 7. Extraer los aplicadores de la cámara húmeda. Asirlos por el plástico protector. Romper el plástico protector precortado del peine. Con 7 y 15 muestras colocar el aplicador en la posición No 4 del soporte. 8. Cerrar la tapa del módulo de migración. 9. Iniciar el procedimiento inmediatamente, presionando la tecla "START". Durante la migración, realizar el lavado del módulo de tinción/procesado.

Etapa de lavado del módulo de tinción de procesado. 1. Colocar el Soporte del Gel vacío en el Módulo de Tinción/Procesado. el contenedor de decolorante contiene como mínimo 220 mL de solución decolorante; el contenedor de

desechos está vacío. Para conocer en qué posiciones conectar los reactivos. 2. Seleccionar el programa de tinción "LIPO + Lp(a) & LIPO" en el menú del instrumento. Iniciar el procedimiento presionando la tecla "START". Durante todas las secuencias de lavado, el sistema permanece bloqueado. Después del lavado, una señal audible indica que el compartimento se abre

Se prepara 440mL de la solución decolorante 15 min antes de usarla, debe contener 45% de Etanol puro y 55% de agua destilada.

Etapa de puesta en marcha del procesado del gel 1. Abrir la tapa del módulo de migración. 2. Sacar los aplicadores y desecharlos. 3. Elevar ambos soportes, sacar las esponjas tamponadas por sus extremos de plástico y desechar. 4. Una vez que el gel esté seco, sáquelo inmediatamente para realizar el tratamiento siguiente. 5. Limpiar los electrodos y la placa de control de la temperatura con un pañuelo de papel suave y húmedo. 6. Abrir el soporte del gel. Poner el gel secado (con la superficie de agarosa hacia arriba) en los orificios de las dos varillas y cerrar el soporte. 7. Colocar el soporte en el Módulo de Procesado / Tinción. Antes de comenzar con el programa de procesado / tinción, comprobar: -el contenedor de colorante contiene 220 mL de solución de tinción; - el contenedor de decolorante contiene como mínimo 220 mL de solución decolorante; -el contenedor de desechos está vacío. 8. Iniciar el procedimiento apretando la tecla "START". Durante la tinción, la decoloración, el lavado y el secado del gel el compartimento permanece bloqueado. Después del enfriamiento de la cubeta, una señal sonora suena y el sistema se desbloquea.

Procesado del gel. Retirar el soporte del compartimento; abrirlo y extraer el gel ya seco. 2. Leer el gel con un densitómetro / escáner seleccionando el programa de lectura: cero en el punto más bajo.

Etapa de lavado nº 2 del módulo de tinción 1. Colocar el soporte del gel vacío dentro del módulo de procesado / tinción. Comprobar: -el contenedor de lavado nº 2: contiene al menos 250 mL de solución de lavado nº 2; -el contenedor de desechos: está vacío. Para conocer en qué posiciones conectar los reactivos: No olvidar bloquear los canales no utilizados. 2. Iniciar el procedimiento presionando la tecla "START" (flecha verde situada en la parte derecha del teclado). Durante todas las secuencias de lavado, el sistema permanece bloqueado. Después del secado, una señal audible nos advierte de la posibilidad de retirar el gel.

La lectura del gel mediante densitometría permite definir las concentraciones relativas (porcentajes) de cada fracción. Los valores normales (media \pm 2 SD) de las fracciones individuales con el procedimiento HYDRAGEL LIPO + Lp(a) K20 establecidos son:

lipoproteínas Beta (LDL): 38.6 - 69.4 %

lipoproteínas Pre-beta (VLDL): 4.4 - 23.1 %

lipoproteínas Alfa (HDL): 22.3 - 53.3 %

El patrón lipoproteico de una muestra clínica puede ser interpretado visualmente comparándolo con un control, el patrón de un suero normal. La densitometría proporciona los porcentajes relativos exactos de las fracciones individuales de lipoproteína. Se empleó el sistema Hydroscan 2 (Sebia, Lisses, Francia) para cuantificar las diferentes lipoproteínas. En cada gel, se usó un control normal para verificar el proceso de electroforesis y el procedimiento de tinción.

4.3.5.4 *Análisis de Apolipoproteína A-I, A-II, B y E*

Fundamento

La medición de concentraciones plasmáticas de apolipoproteínas se realizó mediante Inmunonefelometría en BN ProSpec® (Siemens, Barcelona, Spain) (Figura 19). Las apolipoproteínas contenidas en el suero humano forman con anticuerpos específicos, por medio de una reacción inmunoquímica, inmunocomplejos los cuales pueden dispersar un rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la correspondiente apolipoproteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida.

Reactivos

- BN antisuero contra apolipoproteína A-I, A-II humana.
- BN antisuero contra apolipoproteína B humana.
- BN Apo REAGENT
- Sistema BN 100

Método

- El protocolo se lleva a cabo automáticamente por el sistema software del equipo.
- Es importante tener en cuenta, que el tiempo de reconstitución del reactivo liofilizado se cumpla (30 min).
- Para las medidas, los reactivos y las muestras deben de haber alcanzado la temperatura ambiente. En el BN 100, se puede también utilizar directamente las muestras y los reactivos que estaban almacenados entre +2 y +8°C.
- La medida de las muestras en el BN 100, se debe efectuar a la misma temperatura ambiente a la que se realizó la curva de calibración.



Figura 19. Puesta en marcha del análisis de apoproteínas

4.3.5.5 *Análisis de Lp(a) por Nefelometría*

Fundamentos

La Lp(a) está constituida por dos componentes diferentes, la lipoproteína de baja densidad (LDL) y una glicoproteína, la apolipoproteína (a) (Apo(a)), las cuales están unidas entre sí por puentes disulfuro. La Apo(a) tiene una estructura

altamente homóloga a la del plasminógeno y debido a eso puede impedir competitivamente su actividad y posiblemente provocar efectos aterógenos. La concentración individual de Lp(a) en el suero está determinada genéticamente; el rango de variación en una población es relativamente grande. A partir de una concentración de aprox. 30 mg/dl de Lp(a) en el suero, aumenta el riesgo de efecto aterógeno, especialmente en personas que presenten también un aumento en LDL. La Lp(a) es uno de los mejores diferenciadores para la aterosclerosis y el infarto cardíaco. Dado que la concentración de Lp(a) no puede ser influenciada por dietas o por medicamentos que disminuyan el contenido lipídico, en personas con elevado nivel de Lp(a) es necesario prestar una gran atención a los otros factores de riesgo.

Las muestras conteniendo Lp(a) se van a aglutinar al mezclarse con las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos contra la Lp(a) humana. La intensidad de la luz dispersada en el nefelómetro depende del contenido de Lp(a) de la muestra, de tal forma que por comparación con soluciones de un estándar de concentración conocida de Lp(a) se puede determinar el contenido de ésta en las muestras.

Reactivos

- N Latex - Lp(a).
- N Lpa REAGENT
- Sistema BNA o BN 100

Método

- El protocolo se lleva a cabo automáticamente por el sistema software del equipo.
- Es importante tener en cuenta, que el tiempo de reconstitución del reactivo liofilizado se cumpla (30 min).
- Para las medidas en el BNA y el BN 100, los reactivos y las muestras deben de haber alcanzado la temperatura ambiente. En el BN 100, se puede también utilizar directamente las muestras y los reactivos que estaban almacenados entre +2 y +8°C.
- La medida de las muestras en el BNA y en el BN 100, se debe efectuar a la misma temperatura ambiente a la que se realizó la curva de calibración.

4.3.5.6 Análisis de subfracciones de Lipoproteínas

Fundamento

Las subfracciones de lipoproteínas fueron medidas por electroforesis gel poliacrilamida usando el kit Lipoprint de Quantimetrix® (Redondo Beach, CA). El colorante se une proporcionalmente a la cantidad relativa de colesterol en cada lipoproteína. Las lipoproteínas preteñidas seguidamente se someten a electroforesis. Durante la primera fase de la electroforesis, las partículas de lipoproteínas se concentran mediante el gel cargador y el gel apilador en una banda estrecha y nítida. A medida que las lipoproteínas migran a través de la matriz del gel separador, se resuelven en bandas de lipoproteínas según el tamaño de las partículas, de las más grandes a las más pequeñas, debido a la acción de cribado del gel: las HDL migran más lejos, seguidas de las LDL pequeñas y densas, las LDL grandes y más ligeras, las bandas intermedias (que incluyen principalmente las IDL) y las VLDL. Los quilomicrones, si los hay, aparecerán por encima del gel apilador o permanecerán en el gel cargador (Figura 20).

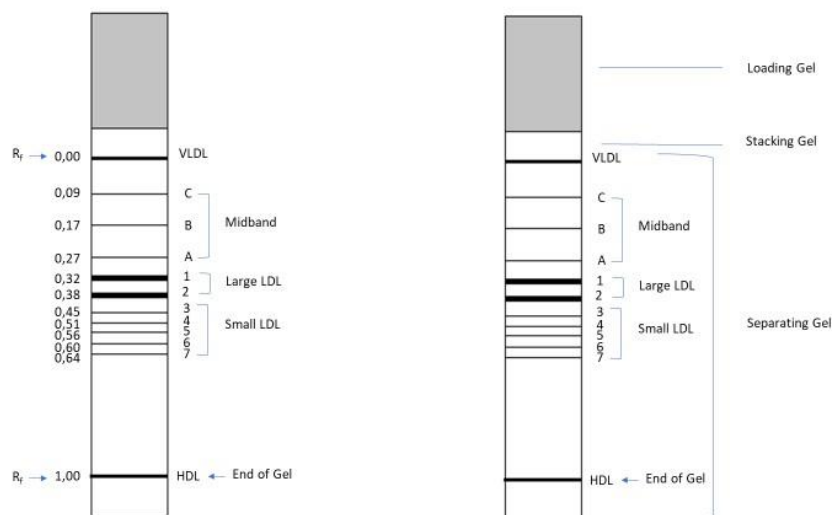


Figura 20: Distribución de las subfracciones lipoprotéicas (manual Quantimetrix)

Un perfil Lipoprint típico consta de 1 banda de VLDL, 3 bandas intermedias, hasta 7 bandas de LDL, y 1 banda de HDL. Una vez terminada la

electroforesis, las diversas fracciones de lipoproteínas teñidas (bandas) presentes en la muestra, serán identificadas por su movilidad (Rf) utilizando las VLDL como el punto de referencia de inicio (VLDL=0) y las HDL como el punto de referencia principal (HDL=1) (Tabla 13).

Tabla 13. Valores RF asignados a cada subfracción de lipoproteínas

VLDL -	0.00 - 0.06
Mid C -	0.13
Mid B -	0.22
Mid A -	0.27
LDL 1 -	0.33
LDL 2 -	0.39
LDL 3 -	0.44
LDL 4 -	0.49
LDL 5 -	0.54
LDL 6 -	0.58
LDL 7 -	0.74
HDL -	0.74 - 1.00

Reactivos

- LQ Agua desionizada
- LQ Buffer electrolítico
- LQ Controles de fracciones lipídicas
- LQ Gel de poliacrilamida lineal preformado (gel aplicador y gel separador) en tubos de vidrio
- LQ Gel cargador de líquido con un colorante lipofílico.

Método

Electroforesis

- Colocar los tubos de gel en una gradilla, no ejercer presión sobre ellos para evitar la introducción de burbujas de aire.
- Eliminar completamente el buffer de almacenamiento de la parte superior de los geles.

- Aplicar sobre cada gel 25 μ l de suero evitando la formación de burbujas.
- Aplicar a cada tubo conteniendo el suero, 200 μ l de colorante lipofílico, cubrir con parafilm cada tubo y colocar la tapa de la gradilla.
- Invertir suavemente varias veces la gradilla, para mezclar el gel cargador con la muestra.
- Colocar la gradilla de preparación cargada en contacto con la lámpara y fotopolimerizar los geles durante 30 min.
- Una vez terminada la fotopolimerización, extraer los tubos y colocarlos en el adaptador de silicona de la cámara de electroforesis, empujando los tubos hacia abajo hasta que el extremo superior del tubo quede al ras de la silicona.
- Colocar 100ml de solución buffer en la cámara inferior de electroforesis. Tapar la cubeta y colocar 200 ml de buffer en la cámara superior. Mantener a temperatura ambiente.
- Cerrar la cubeta y conectar las clavijas en la fuente de electricidad. Ajustar la electricidad para que suministre 3 mA por cada tubo de gel, durante 60 min aproximadamente, detener la electroforesis cuando la fracción de HDL esté aproximadamente a 1 cm del fondo del tubo del gel.
- Terminado el tiempo, apagar la corriente, quitar la tapa de la cámara y desechar el buffer electrolítico de la cámara superior (el de la cámara inferior se puede reutilizar 5 veces). Retirar los tubos a una gradilla.

Densimetría

- En la bandeja del escáner cargar los tubos de gel y cerrar la bandeja presionando hacia dentro.
- Encender el ordenador ingresar los datos, a continuación, dar orden de escanear los tubos. Asegurarnos que las imágenes obtenidas sean buenas, para que se corrija si hubiera presencia de burbujas.
- Luego proceder al análisis de las fracciones lipídicas en los tubos a analizar (previamente identificados). El programa de forma automática realiza la separación de las fracciones guardando los informes en archivo del directorio principal.

El software de Lipoprint inserta de forma automática líneas verticales basándose en estos parámetros predeterminados y calcula el área de la porción incluida entre las líneas para cada subclase de lipoproteína. Dicha área multiplicada por el colesterol total nos informa de la concentración de colesterol correspondiente a cada fracción. Un informe gráfico genera detalles tales como el porcentaje de área, contenido de colesterol y tamaño de partícula de LDL (Figura 21). El diámetro de partícula del pico de LDL (PPD) se estima a partir del siguiente algoritmo desarrollado por Kazumi et al.

$$PPD = (1.429 - RF) \times 25$$



Figura 21. Lectura del perfil lipoprotéico

Parámetros

De esta forma se consiguen determinar los siguientes parámetros (Figura 22):

- a. VLDLc Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína VLDL.
- b. MID-C Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína identificada como banda intermedia C.
- c. MID-B Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína identificada como banda intermedia B.
- d. MID-A Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína identificada como banda intermedia A.

- e. IDL total. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína IDL. Es un valor calculado como la suma de las tres anteriores.
- f. LDLc-1 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-1.
- g. LDLc-2 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-2.
- h. LDLc-3 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-3.
- i. LDLc-4 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-4.
- j. LDLc-5 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-5.
- k. LDLc-6 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-6.
- l. LDLc-7 Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína LDL-7.
- m. LDL agrupada (3-7) Lipoprint®. Es un parámetro calculado a partir de la sumatoria de las concentraciones en colesterol de las lipoproteínas LDL-3 hasta LDL-7.
- n. LDL agrupada (1-7) Lipoprint®. Es un parámetro calculado a partir de la sumatoria de las concentraciones en colesterol de las lipoproteínas LDL-1 hasta LDL-7.
- o. HDLc Lipoprint®. Concentración de colesterol correspondiente a la subfracción de lipoproteína HDL.
- p. Dm LDLc. Diámetro de partícula de lipoproteína LDL expresado en Å. Es un parámetro calculado a partir del algoritmo propuesto por Kazumi et al. más arriba descrito.
- q. Dm IDLc. Diámetro de partícula de lipoproteína IDL expresado en Å. Es un parámetro calculado a partir del algoritmo propuesto por Kazumi et al. más arriba descrito.

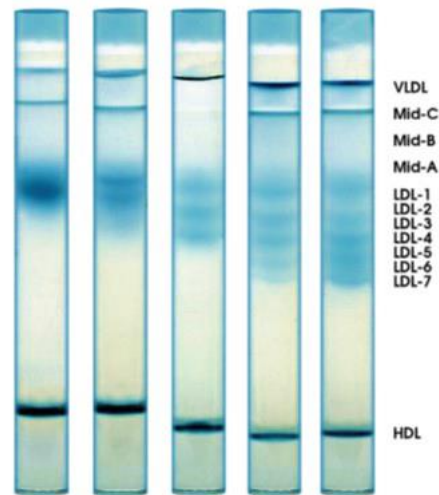


Figura 22. Distribución de cinco muestras de subfracciones lipoproteicas

4.3.5.7 *Análisis de Citoquinas*

Fundamento

El Análisis de Citoquinas se realizó por HSA (High Sensitivity Array) o Biochip Array. En un dispositivo en estado sólido, contenido en un array de regiones de pruebas discretas de anticuerpos específicos inmovilizados para diferentes citoquinas y factores de crecimiento, se tiene un grupo de inmunoensayos quimioluminiscentes el cual es empleado para el array de citoquina. Incrementando los niveles de citoquinas en un espécimen, llevará a incrementar el conjunto de anticuerpos etiquetados con una peroxidasa (HRP) y además se da un incremento en la señal quimioluminiscente emitida.

La señal de luz generada por cada una de las regiones de prueba en el biochip es detectada usando una tecnología de imagen digital y es comparada con una curva de calibración almacenada. La concentración de análisis presente en la muestra es calculada de la calibración de la curva.

Reactivos

- Citokina High Sensitivity (CTK HS) Diluyente de ensayo
- CTK HS Conjugado
- CTK HS BIOCHIP

- CTK HS Calibrador
- Reactivo de señal
- Luminol
- Peroxidasa
- Buffer de lavado concentrado

Método

- Poner en cada carrier el diluyente de ensayo
- Adicionar 100 μ L de control /muestra (Figura 23)
- Incubar en el termoshaker por 1 hora a 37°C y 370 RPM
- Enfriar y cubrir con los Films
- Incubar en refrigeración durante 16-20 horas
- Lavar (2 rápidos y 4 cada dos minutos) y escurrir
- Adicionar 300 μ L de conjugado
- Incubar en el termoshaker por 1 hora a 37°C y 370 rpm
- Lavar (2 rápidos y 4 cada dos minutos) y dejar en agua, secar antes del siguiente paso.
- Adicionar el cromógeno y dejar en oscuridad durante 2 min. (Figura 24)
- Leer por quimioluminiscencia.

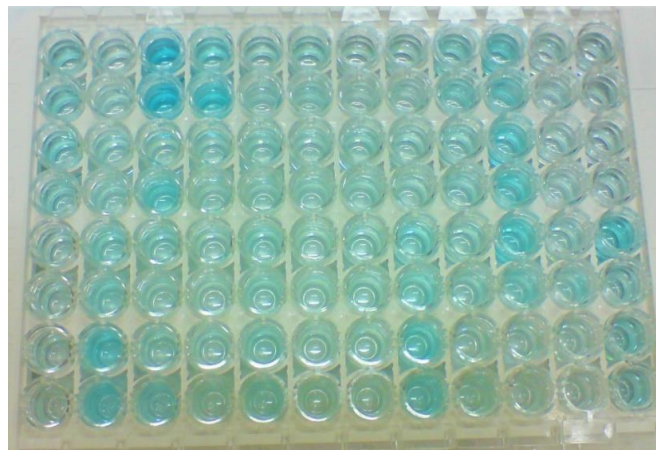


Figura 23. Carrier luego de adicionar el diluyente de ensayo revela la concentración de citoquinas en cada muestra, acorde a la concentración de azul.



Figura 24. Carrier luego de adicionar el conjugado y cromógeno, donde se observa la mayor concentración de citoquinas en los pocillos más amarillos.

4.3.5.8 *Análisis de LDL oxidadas*

Fundamento

El análisis por ELISA (Kit 7810 Immun diagnostik) se realiza para la medida directa de LDL oxidadas en suero humano.

Los estándares, los controles y las muestras conteniendo a la LDL oxidada del ser humano se agregan a los pocillos cubiertos con anticuerpos de alta afinidad. Durante el primer período de incubación, los anticuerpos inmovilizados en la pared de los pocillos capturan el antígeno en las muestras. Después de extraer los componentes desatados de muestras, un anticuerpo peroxidasa-conjugado se agrega a cada pocillo. Tetrametilbenzidina se utiliza como substrato para la peroxidasa. Finalmente, se agrega una solución de ácido para la terminar la reacción. La intensidad del color amarillo es directamente proporcional a la concentración de LDL oxidada en la muestra. Una curva de la reacción a cierta dosis de la unidad de la absorbancia (densidad óptica 450nm) vs. la concentración, se genera; usando los valores obtenidos de estándar. La LDL oxidada presente en las muestras es determinada directamente de esta curva.

Reactivos

- Estándares liofilizados (ID7810)
- Controles liofilizado (ID7810)
- Tampón de lavado concentrado (ID7810)
- Dilución del Conjugado (ID7810)
- Tampón de dilución de muestra (ID7810)
- TMB sustrato (ID7810)
- Solución de pare (ID7810).

Método

- Llevar los reactivos y muestras a temperatura ambiente (18-26°C) y mezclarlos bien.
- Lavar bien 5 veces y en cada uno adicionando 250 µl de dilución de tampón de lavado.
- Adicionar 100 µl de estándar / muestra /control en su respectivo pocillo.
- Tapar bien e incubar durante 4 horas a temperatura ambiente en un agitador horizontal.
- Aspirar el contenido de cada pocillo. Lavar 5 veces con la dilución de tampón de lavado. Después del último lavado, invertir y golpear ligeramente sobre papel absorbente a fin de remover el exceso de dilución.
- Adicionar 100 µl de dilución del conjugado en cada pocillo.
- Tapar bien e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador horizontal.
- Aspirar el contenido de cada pocillo. Lavar 5 veces con la dilución de tampón de lavado. Después del último lavado, invertir y golpear ligeramente sobre papel absorbente a fin de remover el exceso de dilución.
- Adicionar 100 µl de sustrato en cada pocillo.
- Incubar durante 15-25 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
- Adicionar 50 µl de solución de parar en cada pocillo y mezclar bien.
- Determinar la absorción inmediatamente con el lector ELISA (Figura 25).



Figura 25. Resultados listos para lectura, tras adicionar la solución en cada pocillo.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Posteriormente a la recogida de datos, se introducen dichos datos en una hoja de cálculo proporcionada por el programa Excel (versión 2007 del paquete ofimático Microsoft Office 2007) y a continuación se realiza la importación de datos procedentes de Excel al programa estadístico R versión 4.1.2. Una vez importados los datos, se transforman en variables estadísticas apropiadas para el análisis.

El análisis estadístico y las gráficas se realizaron con el lenguaje y entorno para la computación estadística R versión 4.1.2, (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria), fijando todos los test como significativos con un p valor $< 0,05$.

Para el análisis estadístico descriptivo de la muestra, se analizó descriptivamente todas las variables relacionadas con las características sociodemográficas y clínicas de la población en estudio. Para las variables numéricas se obtuvo la media, mediana, desviación estándar y rango. Para las variables categóricas se obtuvieron las frecuencias, las cuales se presentan como número de casos y la proporción sobre el total, como el % correspondiente.

Para el análisis estadístico comparativo, se calculó el incremento pre/post tratamiento para cada parámetro, restando el valor basal al valor final.

Posteriormente, se analizaron las diferencias en función del tratamiento para cada parámetro, tanto para los incrementos como para los valores basales, mediante modelos de regresión lineal simple para medidas repetidas o efectos aleatorios. Este análisis fue seguido del test de Tukey, de comparaciones múltiples, para determinar las diferencias entre los tres tratamientos.

La distribución de la población según el perfil lipídico se contrastó con el test de Chi-cuadrado en comparaciones entre los tres desayunos en un mismo momento del seguimiento (basal o final). Los cambios en la distribución de la población según el perfil lipídico se contrastaron con el test de McNemar en comparaciones entre determinaciones basales y finales para cada tipo de desayuno.

V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ANALISIS DESCRIPTIVO EN CONDICIONES BASALES

Se muestra el análisis descriptivo de las variables relacionadas con las características sociodemográficas y clínicas de la población de estudio. Para las variables numéricas se presenta la media y el intervalo de confianza (95%). En la valoración nutricional se presenta la media y la desviación estándar. Las variables categóricas se expresan como porcentaje (%).

5.1.1 Composición de alimentos de los cuatro tipos desayunos

La composición de alimentos de todos los tipos de desayunos del estudio se refleja en la tabla 14. Los tres tipos de desayunos de las tres intervenciones (D1, D2, D3), así como el desayuno de lavado (D Lavado), tienen la misma composición de alimentos, siendo el tipo de grasa lo único que cambia en los tres desayunos de la intervención nutricional del estudio y en el caso del desayuno de lavado, los alimentos que aportan los diferentes tipos de grasa (mantequilla, margarina, aceite de oliva virgen extra) son reemplazados por mermelada de melocotón y zumo de piña (con el objetivo de que las calorías ingeridas sean lo más similares posibles respecto a los tres desayunos de las intervenciones). Las cantidades correspondientes a cada alimento, responden a un consumo habitual y los formatos monodosis, son los que se utilizan en la mayoría de hostelería y restaurantes (que también se comercializan para uso doméstico) para un consumo habitual.

Los alimentos utilizados en el estudio son marcas comerciales que se encuentran en supermercados y son referentes de consumo habitual. La selección de la mantequilla se hizo buscando en el mercado la que tuviese menor cantidad de grasa, para no tener gran diferencia calórica con el desayuno de la margarina. Las marcas comerciales de los alimentos utilizados para los desayunos no se publican por no disponer de la autorización para ello, de los fabricantes correspondientes.

Tabla 14. Composición de alimentos de los desayunos

Cantidad	D1	D2	D3	D Lavado
200ml	Leche semidesnatada			
1 sobre monodosis (18g)	café instantáneo/ polvo de cacao desgrasado			
1 sobre monodosis (8g)	azúcar			
2 unidades (10g)	tostadas pan blanco			
20g	mantequilla	margarina	aceite oliva virgen extra	
50g				Mermelada de melocotón
200ml				Zumo de piña

D1: desayuno con grasas saturadas, D2: desayuno con grasas poliinsaturadas, D3: desayuno con grasas monoinsaturadas, D Lavado: desayuno de lavado

5.1.2 Composición nutricional de los desayunos: D1, D2, D3, D Lavado.

En la tabla 15 se puede apreciar la composición nutricional de cada uno de los desayunos del estudio, donde se observa un valor energético similar en los desayunos D1 y D lavado, inferior en D2 y superior en D3. Estas pequeñas diferencias tienen su origen en el diseño del estudio, ya que se optó por utilizar presentaciones monodosis de los alimentos incluidos (mantequilla, margarina, aceite de oliva, mermelada, leche, zumo, azúcar, cacao y café soluble) basándonos en el hecho de que estas presentaciones suponen un consumo estandarizado de estos productos en nuestra población. Así evitamos el error de otro tipo de mediciones (cucharadas, pesada por parte del consumidor, etc), que habrían supuesto unas variaciones superiores en las cantidades de consumo indicadas en el diseño. Resultó imposible localizar en el tiempo que se realizó el estudio, presentaciones comerciales de mantequilla, margarina y aceite de oliva que aportasen el mismo contenido calórico. Las fuentes de grasas utilizadas (mantequilla, margarina y AOVE) no llevan en su composición ningún tipo de sustancias bioactivas del tipo de fitosteroles, antioxidantes, etc, habiéndose seleccionado aquellos que en su composición respondían a la formulación más sencilla de lo que constituye una margarina, una mantequilla y un AOVE, sin otro

tipo de sustancias adicionales en la composición. No se observan diferencias en el contenido de carbohidratos y proteínas entre los tres desayunos de la intervención nutricional (D1, D2 y D3). El contenido de carbohidratos en el desayuno del lavado es superior ya que la energía correspondiente a la grasa del desayuno (administrada como mantequilla, margarina y aceite de oliva) se reemplazó por mermelada y zumo. El contenido lipídico entre los tres desayunos no es igual, ya que el valor nutricional de las tres grasas utilizadas es diferente: mantequilla, como fuente de grasas saturadas mayoritariamente; margarina, como fuente de grasas poliinsaturadas mayoritariamente y aceite de oliva virgen extra, como fuente mayoritaria de grasa monoinsaturada.

Tabla 15. Composición nutricional de los desayunos: D1, D2, D3, lavado

Parámetros nutricionales	D1	D2	D3	D Lavado
Energía (kcal)	411,1	375,1	446,9	413,5
Proteínas (g)	10	10	10	10,8
Carbohidratos(g)	46,1	46,1	46,1	81,9
Lípidos (g)	20,7	16,7	24,7	4,7
Grasas saturadas (g)	12,7	4,9	5,1	2,5
Grasas poliinsaturadas (g)	0,6	5,1	1,6	0,04
Grasas monoinsaturadas (g)	6,1	5,9	15,9	1,1
Colesterol (mg)	63	13	13	13
Fibra	0,4	0,4	0,4	0,4

D1: desayuno con grasas saturadas, D2: desayuno con grasas poliinsaturadas, D3: desayuno con grasas monoinsaturadas, D Lavado: desayuno de lavado

5.1.3 Composición de ácidos grasos de los lípidos de las intervenciones.

Los tres tipos de alimentos fuentes de grasas utilizados en el desayuno fueron mantequilla, margarina y aceite de oliva virgen extra, como fuente principal de AGS, AGPI y AGMI, respectivamente. La cantidad evaluada fue el formato comercial usual, monodosis correspondiente a 20 g.

La composición de ácidos grasos (en gramos de grasa por 100 g de alimento) de las diferentes intervenciones, están reflejadas en la tabla 16.

Tabla 16. Composición lipídica de los alimentos del desayuno que aportan los diferentes tipos de grasa.

Mantequilla 81.1g grasa/100g alimento		Margarina 60g grasa/100g alimento		Aceite de Oliva 99g grasa/100g alimento	
AGS	51,4 g	AGS	12,8 g	AGS	14,5 g
ácido butírico	4,2 g	ácido caprílico	0,1 g	ácido palmítico	14,4 g
ácido caproico	2,0 g	ácido cáprico	0,1 g	ácido mirístico	0,1 g
ácido caprílico	1,2 g	ácido láurico	1,7 g	AGMI	71 g
ácido cáprico	2,5 g	ácido mirístico	0,6 g	ácido oleico	71 g
ácido laurico	2,6 g	ácido palmítico	5,6 g	AGPI	10 g
ácido mirístico	7,4 g	ácido esteárico	4,2 g	Ácido linoleico	9,1 g
ácido palmítico	21,7 g	AGMI	15,3 g	Ácido linolénico	0,9 g
ácido esteárico	9,9 g	ácido oleico	15,3 g	Sin colesterol	
AGMI	21,0 g	AGPI	29,2 g		
ácido palmitoleico	0,96 g	ácido linoleico	28,9 g		
ácido oleico	19,9 g	ácido linolénico	0,3 g		
AGPI	3,0 g	Sin colesterol			
ácido linoleico	2,7 g				
ácido linolénico	0,3 g				
Colesterol	215 mg				

AGS: ácidos grasos saturados, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados, AOVE: aceite de oliva virgen extra

5.1.4 Análisis descriptivo de la población.

La muestra poblacional del presente estudio, está constituida por un grupo homogéneo de mujeres mayores de edad, que presentan al menos, cada una de ellas, dos factores de riesgo cardiovascular. Todas son posmenopáusicas, con una edad de 63.5 ± 18.3 años, de la cuales el 57% son mayores de 65 años.

Además de su condición posmenopáusica, como factor de riesgo cardiovascular común en todas, presentan un IMC medio de $27,8 \pm 3.94$ Kg / m², lo que se corresponde con un 66% de la muestra con sobrepeso u obesidad (otro factor de riesgo cardiovascular), de acuerdo a la valoración establecida por la Sociedad Española para la Obesidad (SEEDO) (350). Cabe mencionar que, la

medida del IMC no contempla la variación de la distribución de grasa corporal y grasa abdominal, la cual puede variar dentro de un limitado rango del IMC; teniendo en cuenta que el exceso de grasa abdominal está asociado con un alto riesgo de morbilidad por obesidad, respecto a la adiposidad general (351).

Por lo que, se utilizó como una alternativa y/o complemento al IMC, la medida del perímetro de la cintura (PC) a fin de valorar uno de los riesgos de enfermedad cardiovascular (352). El PC basal es de 88.2 ± 2.7 cm, superior al valor de referencia para mujeres europeas (≥ 80 cm) (97).

Las características basales de la población estudiada se muestran en la Tabla 17, donde se puede observar que las voluntarias del estudio mostraron además otros factores asociados a riesgo cardiovascular, el 30,4% son hipertensas, el 12,5% diabéticas, el 35,7% hipercolesterolémicas, el 16,1% presentan otras patologías cardiovasculares (CV) y un 30,4% tienen familiares que padecen o han padecido enfermedad cardiovascular (ECV), como antecedentes de ECV.

Tabla 17. Características descriptivas de la muestra poblacional

Variable	Descriptivos	Unidades
Sexo (mujer)	100	%
Edad ($\bar{x} \pm SD$)	63,5 (18,30)	años
Peso ($\bar{x} \pm SD$)	64,6 (8,80)	Kg
Talla ($\bar{x} \pm SD$)	153 (0,07)	cm
IMC ($\bar{x} \pm SD$)	27,8 (3,94)	Kg/m ²
PC	88.2 (2.70)	cm
TA (sistólica/diastólica) ($\bar{x} \pm SD$)	130/72.6 (21.7/9,52)	mm Hg
Edad superior a 65 años	57,0	%
Sobrepeso/obesidad	66.1	%
HTA	30,4	%
Diabetes	12,5	%
Hipercolesterolemia	35,7	%
Otras patologías CV	16,1	%
Antecedentes familiares de ECV	30,4	%

IMC: índice de masa corporal, PC: perímetro de cintura, TA: tensión arterial, HTA: Hipertensión arterial, CV: cardiovascular, ECV: enfermedad cardiovascular. %: Frecuencia medido en porcentaje

Al tener un grupo de voluntarias mayores de edad, categorizadas como adultas y ancianas, cabe indicar además que, el incremento de peso favorece el desarrollo del síndrome metabólico y otras patologías asociadas al riesgo cardiovascular, ya sea una o más de una. Por lo que resulta interesante considerar que el control del IMC podría limitar la aparición de algunas patologías de las que se muestran en la tabla anterior (HTA, diabetes, etc.) (353).

Así también, se debe tener presente que la muestra poblacional estudiada contaba con al menos dos factores de riesgo cardiovascular, ya que, aparte de ser mujeres menopáusicas, con al menos un año de amenorrea, contaban además con otros factores de riesgo CV, de modo que cada voluntaria se incluyó en el estudio tras verificar que cumplía este criterio de inclusión.

5.1.5 Perfil lipídico sérico de la muestra poblacional en condiciones basales

En la tabla 18, se muestran los resultados del perfil lipídico de la muestra poblacional extraído de la analítica sanguínea basal, donde se observa que los niveles de LDL-c son superiores a los valores normales recomendados, mientras que el colesterol, triglicéridos y HDL-c muestran unos valores dentro de los recomendados (85).

Tabla 18. Perfil lipídico plasmático de la muestra poblacional en condiciones basales

Variable	Media (IC 95%)	Valor de Referencia
Colesterol (mg/dl)	201,56 (192,85-210,27)	200
Triglicéridos (mg/dl)	98,56 (86,93-110,19)	150
HDL-colesterol (mg/dl)	63,10 (59,97-66,23)	>40
LDL-colesterol (mg/dl)	118,70 (111,40-126,00)	100

Valor referencia: NCEP-ATPIII (85). Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

Con la finalidad de profundizar en el análisis del metabolismo lipídico, de forma adicional a los factores de riesgo convencionales, se determinaron en las muestras sanguíneas basales, las concentraciones de lipoproteínas (Tabla 19), de apoproteínas (Tabla 20) y de las subfracciones lipoproteicas (Tabla 21); ya que en la actualidad existe un interés considerable sobre si la predicción de ECV puede establecerse mejor en base a la evaluación de marcadores adicionales relacionados con los lípidos, como los antes mencionados. Los resultados se muestran en sus respectivas tablas, donde se puede apreciar la situación basal de cada valor de los parámetros medidos, es decir antes de iniciar las diferentes intervenciones dietéticas que se muestran en el apartado de diseño del estudio (página 124).

Los resultados basales de lipoproteínas, nos indican que la población de estudio tiene los niveles de lipoproteínas dentro de cada rango correspondiente.

Tabla 19. Concentraciones séricas de Lipoproteínas de la muestra poblacional en condiciones basales

Variable	Valor (IC95%)	Referencia
Quilomicrones (mg/dl)	0.72 (0,51-0,94)	0-2
LDL (mg/dl)	49,42 (47,78-51,07)	40.7-71.9
VLDL (mg/dl)	17,31 (15,41-19,20)	0-29.6
HDL (mg/dl)	32,59 (30,36-34,82)	9.8-46.2

Referencia: SMS CARM (354). LDL: lipoproteína de baja densidad, VLDL: lipoproteína de muy baja densidad, HDL: lipoproteína de alta densidad. Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

Los análisis de apolipoproteínas pueden complementar los análisis de colesterol tradicionales, ya que informan sobre el número de partículas de lipoproteínas, mientras que los análisis de colesterol en sangre estándar, miden la cantidad de colesterol circulante. Por lo que en términos de riesgo CV la concentración de partículas aterogénicas es más significativa que la cantidad de colesterol que contienen. En la Tabla 20 se observan los valores obtenidos para las apolipoproteínas evaluadas.

Tabla 20. Concentraciones séricas de apolipoproteínas de la muestra poblacional en condiciones basales

Variable	Valor (IC95%)	Referencia
	180,77	115 - 220 ^a
Apo A-I (mg/dl)	(175,69-185,85)	
	35,47	38-73 ^a
Apo A-II (mg/dl)	(34,09-36,85)	
	88,27	60 - 138 ^a
Apo B (mg/dl)	(82,75-93,80)	
	4.67	37-73 ^c
Apo E (mg/dl)	(4,40-4,94)	

Apo: apolipoproteína. Referencias: ^a: Marrugat et al (253). ^c: Mahley (267). Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

Estudios recientes (236) han demostrado relaciones independientes entre los niveles o subclases de LDL y riesgo de otras enfermedades de las arterias coronarias y cerebrovasculares.

Aunque históricamente se ha considerado el aumento de la concentración de LDL-c como un factor de RCV, el tamaño de la LDL emerge como un nuevo e importante factor de riesgo para estas enfermedades. Aunque el mecanismo no ha sido bien dilucidado, existen evidencias que indican que las LDL pequeñas y densas, son más susceptibles a oxidarse e incrementan el riesgo a enfermedad cardiovascular más que las LDL grandes y poco densas (235).

Si bien, aún no hay evidencia concluyente que sugiera que la medición de las subfracciones de LDL y HDL mejora la evaluación clínica del riesgo cardiovascular, diversos estudios sugieren que análisis más refinados de subespecies de lipoproteínas pueden conducir a más mejoras en la evaluación de riesgo cardiovascular, desde la caracterización de subclases de LDL. En la tabla 21, se observan los valores basales de las distintas subfracciones lipoproteicas.

Tabla 21. Concentraciones séricas de subfracciones lipoproteicas de la muestra poblacional en condiciones basales

Subfracciones de lipoproteínas	Valor (IC95%)	Referencia
Lipoproteína (a) (mg/dl)	21,22 (15,07-27,36)	30.00 ^a
VLDL-Lip (mg/dl)	23,64 (20,85-26,42)	<24.4 ^b
IDL-C-Lip (mg/dl)	13,54 (11,96-15,11)	<23.2 ^b
IDL-B-Lip (mg/dl)	12,63 (11,51-13,76)	<14.6 ^b
IDL-A-Lip (mg/dl)	13,58 (12,09-15,07)	<18.6 ^b
LDL-1 (mg/dl)	33,94 (30,44-37,44)	<46.5 ^b
LDL-2 (mg/dl)	24,19 (21,25-27,13)	<31.5 ^b
LDL-3 (mg/dl)	6,03 (4,46-7,60)	<9.2 ^b
LDL-4 (mg/dl)	0,57 (0,16-0,97)	<4.7 ^b
LDL-5 (mg/dl)	0,04 (-0,11-0,20)	<5.5 ^b
LDL-6 (mg/dl)	0,04 (-0,09-0,18)	<2.0 ^b
LDL-7 (mg/dl)	0,06 (-0,13-0,26)	<2.0 ^b
HDL-Lip (mg/dl)	69,10 (65,29-72,91)	>54.2 ^b

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad, IDL: lipoproteína de densidad intermedia, LDL: lipoproteína de baja densidad, HDL: lipoproteína de alta densidad. Referencias: ^a: Nordestgaard y otros (112), ^b: Sancho-Rodríguez y otros (238). Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

5.1.6 Perfil lipídico óptimo

En la tabla 22 se observa que sólo el 54.0% de la muestra presenta el perfil óptimo de acuerdo al NCEP-ATP III (85), es decir se trata de las voluntarias que cumplen con la siguiente condición: HDL>35mg/dl, LDL<150 mg/dl y colesterol<200 mg/dl.

Tabla 22. Descripción basal del porcentaje de participantes que muestran un perfil lipídico óptimo

Perfil lipídico óptimo	Descriptivo	Unidad
Si	54,0	%
No	46,0	%

5.1.7 Parámetros bioquímicos asociados a riesgo cardiovascular en condiciones basales

En las muestras sanguíneas de la muestra poblacional también se midieron parámetros bioquímicos asociados al riesgo cardiovascular (Tabla 23):

- Homocisteína
- Proteína C reactiva
- Estado antioxidante total
- LDL oxidadas
- Citoquinas

Tabla 23. Parámetros bioquímicos séricos asociados a riesgo cardiovascular en condiciones basales del estudio

Variable	Valor (IC 95%)	Valor de Referencia
Homocisteína (µmol/L)	10,44 (9,44-11,43)	4,0-15,0
Antioxidantes totales (mmol/L)	1,76 (1,71-1,82)	1,16-1,94
PC reactiva (mg/dl)	0,27 (0,13-0,41)	0-1,0
LDL oxidada (U/L)	210,01 (102,03-317,99)	74,0 ^a

Referencia: SMS CARM (354), ^a: Gómez *et al.* (355). Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

La mayoría de ellos están dentro del rango de valores de referencia aportados por el Servicio Murciano de Salud de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (SMS CARM) (354). Siendo los valores de LDL oxidada, los que se observan superiores a la referencia 74 U/L indicadas en un estudio tomado como referencia (355).

Diversas enfermedades, como la obesidad y la patología cardio y cerebrovascular, se caracterizan por una inflamación crónica, que puede desempeñar un papel específico en su patogenia (289). En la expansión adiposa y durante la obesidad, se activa un programa proinflamatorio temprano, alterando el sistema inmunológico a un fenotipo proinflamatorio, caracterizado por la

sobreexpresión de las citoquinas proinflamatorias y otros reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva, que superan las citoquinas antiinflamatorias (288). Las citoquinas inflamatorias y los mediadores relacionados también podrían ser marcadores adecuados para la estratificación y pronóstico del riesgo en pacientes con insuficiencia cardiaca (292). En base a este fundamento, su medida fue de interés en el presente estudio y los resultados basales de las citoquinas se muestran en la tabla 24.

Tabla 24. Niveles basales de concentraciones séricas de citoquinas en la muestra poblacional

Citoquinas	Valor (IC95%)	Valor de Referencia
Proinflamatorias		
IL1A (pg/ml)	0,06 (0,03-0,10)	1.4 ^d
IL1B (pg/ml)	0,51 (0,37-0,66)	3.2 ^d
IL2 (pg/ml)	0,65 (0,43-0,87)	1.1-9.8 ^c
IL6 (pg/ml)	1,10 (0,71-1,50)	1.7-16.6 ^c
IL8 (pg/ml)	9,74 (7,26-12,21)	29.3 (24.4±35.9) ^d
TNFA (pg/ml)	1,37 (1,12-1,62)	0.1-5.2 ^c
Antiinflamatoria		
IL4 (pg/ml)	0,73 (-0,32-1,78)	0.1-3.0 ^c
IL10(pg/ml)	0,40 (-0,11-0,91)	2.6-4.9 ^c
Inmunopresoras		
IFNG (pg/ml)	1,43 (0,96-1,90)	1.6-17.3 ^c
VEGF (pg/ml)	102,36 (69,97-134,75)	61.6 (32±118.9) ^d
MCP1 (pg/ml)	186,49 (152.79-220,20)	41.5 (20.1±78.9) ^d
EGF (pg/ml)	35,11 (27,72-42,50)	17.9

IL: interleuquina, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, IFNG: interferón gama, EGF: factor de crecimiento epidérmico, Referencias: ^a: Vidal et al. (356) ^b: Martí et al. (357) ^c: Yuan-Jian et al. (358) ^d: Kleiner et al. (359). Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

Los límites particulares de citoquinas como biomarcadores para procesos de enfermedades no se han estudiado bien. El establecimiento de límites de citoquinas clínicas para diversas afecciones nos facilitaría la comprensión de los perfiles de citoquinas normales. Para comprender mejor los niveles de citoquinas

y establecer límites de diagnóstico en estados de enfermedad, es importante caracterizar primero los niveles normales de citoquinas en varias poblaciones (358). Además, a medida que se aclaran los límites normales y de diagnóstico para estos biomarcadores. Se puede considerar que las citoquinas mejoran los resultados del paciente cuando no es posible el diagnóstico definitivo con las características clínicas solas. Muchas enfermedades tienen características clínicas muy similares y, por lo tanto, el establecimiento de perfiles patológicos de citoquinas puede ayudar a diferenciar tales afecciones (358).

Se ha tomado referencia de distintos estudios, con la finalidad de ver el punto de partida de la muestra poblacional en cuanto a citoquinas, la cual no presenta importantes índices de inflamación respecto a las referencias encontradas, e indicadas en la tabla anterior.

5.1.8 Concentraciones séricas basales de parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado

Todos los parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado, (urea, ácido úrico, creatinina, proteínas totales, albúmina, GOT y GPT) en condiciones basales se observan dentro de los rangos de referencia (Tabla 25). Por tanto, si los marcadores de función renal son adecuados, la muestra poblacional del estudio se trata de mujeres sin patología renal (360).

Diversos estudios observan que el riesgo de enfermedad cardiovascular se incrementa al progresar la falla renal, probablemente por la suma de los factores de riesgo no tradicionales propios de la insuficiencia renal. Si bien la enfermedad renal y cardíaca discurren de forma paralela, al mayor deterioro de una suele acompañar una afectación más grave de la otra. Este hecho indica que debe existir una relación bidireccional entre patología renal y cardiovascular; por un lado, la primera promueve ésta, y que ésta es, a su vez, un acelerador de aquélla (361). Por lo que, en práctica clínica la valoración de la función renal es un elemento determinante en el abordaje diagnóstico de pacientes con cardiopatías y presenta múltiples implicaciones terapéuticas cuya identificación es preciso determinar.

Tabla 25. Parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado en condiciones basales del estudio

Variable	Valor (IC 95%)	Referencia
	35,96	10-50
Urea (mg/dl)	(32,64-39,28)	
	4,20	2.4-5.7
Ácido úrico (mg/dl)	(3,92-4,49)	
	0,77	0,5-1,1
Creatinina (mg/dl)	(0,73-0,81)	
	7,42	6,6-8,7
Proteínas totales (g/dl)	(7,31-7,53)	
	4,50	3,5-5,0
Albúmina (g/dl)	(4,44-4,56)	
	19,76	<31
GOT (U/L)	(18,45-21,07)	
	14,88	<31
GPT (U/L)	(13,00-16,76)	

GOT: transaminasa glutámico oxalacética, GPT: transaminasa glutámico pirúvica. Valores de Referencia: SMS CARM. Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

5.1.9 Concentraciones séricas basales de glucosa y electrolitos en la muestra poblacional

Los valores obtenidos de los análisis basales de glucemia y electrolitos sanguíneos se muestran en la Tabla 26, donde se observa que todos los valores están dentro de los rangos de normalidad. Lo cual es importante, ya que los accidentes cardiovasculares se asocian de una manera muy prevalente a la presencia de diabetes. Por otro lado, al observar que los marcadores de función renal son adecuados y sabiendo que los riñones contribuyen a mantener un equilibrio entre la ingesta diaria y la eliminación de electrolitos y agua, se observa un adecuado funcionamiento de los mismos al mantener equilibrio de electrolitos dentro de los rangos sugeridos y no perjudicarían patologías asociadas a las ECV.

Tabla 26. Glucemia y niveles sanguíneos de electrolitos en condiciones basales del estudio

Variable	Valor (IC 95%)	Referencia
Glucosa (mg/dl)	93,84 (90,58-97.10)	60-110
Sodio (mEq/L)	141,64 (141,22-142-06)	135-150
Potasio (mEq/L)	4,53 (4,42-4,64)	3-5
Cloro (mEq/L)	104,14 (103,58-104,70)	90-120

Valor de Referencia: SMS CARM (356). Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%).

De los resultados descriptivos relativos a los niveles de parámetros bioquímicos séricos mostrados en las dos últimas tablas, se deduce que se encuentran dentro de sus rangos normales en la valoración clínica global de la muestra poblacional analizada, es decir, atendiendo a los parámetros analíticos generales, de función renal, hepática y equilibrio electrolítico, a nivel basal. Los parámetros bioquímicos cuyos resultados están fuera de los valores normales, son los que se utilizan como marcadores de riesgo cardiovascular (analitos relativos al perfil lipídico, estado inflamatorio y oxidativo), como corresponde a una población seleccionada por presentar varios factores de riesgo cardiovascular

5.1.10 Resultados de la valoración nutricional de la ingesta

Para la valoración nutricional, los datos de los resultados se expresan como media y desviación estándar, y cuando procede en %.

Se realizó a cada voluntaria la evaluación nutricional mediante encuestas recordatorio de 24 h (ER 24h) al principio del estudio, previamente a la fase de intervención nutricional, durante tres días no consecutivos, incluyendo un festivo. Posteriormente, estas ER 24h se realizaron durante cada mes y cada periodo de lavado, también con 3 días no consecutivos, incluyendo un festivo en cada caso. Estas valoraciones tuvieron como objetivo evaluar si existían diferencias en la composición nutricional de la dieta de las diferentes participantes, a pesar de

estar todas conviviendo en la misma institución y con el mismo régimen de comidas.

Tras el análisis basal de la ingesta de las voluntarias, en cuanto al consumo energético, la ingesta calórica media fue de 1580 ± 485 Kcal/día, inferior a la recomendación de ingesta de mujeres adultas sedentarias en España (1624Kcal) y menor a la recomendación de la ingesta general para la población española (1875 Kcal en mujeres) (362,14). El colectivo de voluntarias en estudio es físicamente menos activo respecto a población en general de similares características. Por lo que sus requerimientos calóricos son inferiores a la energía ingerida. Así también, la menopausia es una etapa en la vida de la mujer que entraña determinados cambios fisiológicos. Estos cambios van a implicar unos requerimientos específicos de nutrientes y energía, ya que las necesidades energéticas disminuyen un 5 % aproximadamente cada decenio, por lo que la ingesta calórica debe ser inferior (OMS) (363).

5.1.10.1 *Macronutrientes*

El consumo diario de **carbohidratos**, en condiciones basales, se corresponde con $202,0 \pm 57,8$ g, lo que supone un 35-64% de la energía total de la dieta de origen glucídico en el grupo de voluntarias (Tabla 27). La ingesta de hidratos de carbono se observa que el límite inferior del rango, es menor a las recomendaciones establecidas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y por la OMS, que estiman que la ingesta de este grupo en macronutrientes debería de ser del 45-60% y del 55-75% respectivamente (364, 14).

La mayoría de los estudios epidemiológicos muestran una asociación inversa entre el consumo de hidratos de carbono y el IMC, lo cual se puede corroborar en nuestro estudio en el que observamos valores de IMC compatibles con sobrepeso y un consumo de carbohidratos inferior a las recomendaciones. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios en los que también observan una aportación de hidratos de carbono inferior a las recomendaciones en pacientes con SM que presentan obesidad (365,366).

La ingesta **proteica** media de la dieta en condiciones basales fue $59,5 \pm 23,4$ g/día, es decir, supone una ingesta energética de origen proteico del 10-21%. Las evidencias referidas al consumo de proteína total y su efecto sobre la variación de

peso en adultos son, en algunas de las participantes, superiores a recomendaciones para adultos (OMS) y mujeres menopáusicas (364, 367).

El consumo medio de **lípidos** en la población de estudio, en condiciones basales, es $59,8 \pm 29,0$ g, es decir entre el 24 % y 40 %, de la energía total ingerida con la dieta, procede de las grasas, lo que excede las recomendaciones en todas las participantes del estudio (20-35%) (367, 53). Correspondiendo el $17,0 \pm 9,74$ g AGS, $22,6 \pm 14,7$ g AGMI, $7,75 \pm 4,68$ g AGPI y 223 ± 157 mg colesterol (Tabla 28).

Tabla 27. Datos descriptivos de los parámetros nutricionales: macronutrientes y fibra, en la dieta de la muestra poblacional, en situación pre-intervención nutricional

Macronutrientes	Cantidad ingerida (g/día)	VET (%)	Referencia VET (%)
Carbohidratos ($\bar{x} \pm SD$)	$202,0 \pm 57,8$	35-64	55-75
Proteínas ($\bar{x} \pm SD$)	$59,5 \pm 23,4$	10-21	10-15
Lípidos ($\bar{x} \pm SD$)	$59,8 \pm 29$	24-40	20-35
Fibra ($\bar{x} \pm SD$)	15 ± 7		25

Referencia: OMS (14). VET: Valor energético total. Los valores se expresan como media \pm desviación estándar ($\bar{x} \pm SD$)

La ingesta de **fibra** dietética es de 15 ± 7 g/día. Este consumo de fibra se encuentra por debajo de las recomendaciones que se establecen en más de 25 g/día para la población adulta.

Estos valores, nos indican que una parte de la muestra poblacional no cubre las recomendaciones en cuanto a AGMI y AGPI, pero los AGS estarían superando el límite de las recomendaciones de la FAO/WHO, (ya que sugiere que no supere el 7%) (48, 53), en la mayor parte de las voluntarias del estudio.

Así también en la Tabla 28, se refleja el consumo medio de colesterol (223 ± 157 mg), lo que significa que participantes del estudio ingieren cantidades de colesterol superiores al valor recomendado en la ingesta diaria (200 mg/día) (48).

Tabla 28. Composición de ácidos grasos de la dieta diaria en la muestra poblacional durante el periodo pre-intervención nutricional

Ácidos grasos	Cantidad	%	Rangos recomendados
AGS ($\bar{x} \pm SD$)	17,0 \pm 9,74 g	6-12	7 %
AGMI ($\bar{x} \pm SD$)	22,6 \pm 14,7g	6-17	15-20 %
AGPI ($\bar{x} \pm SD$)	7,75 \pm 4,68 g	2-6	6-11 %
Colesterol ($\bar{x} \pm SD$)	223 \pm 157 mg		200 mg/día

AGS: ácidos grasos saturados, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados. Los valores se expresan como media \pm desviación estándar ($\bar{x} \pm SD$).

Para juzgar la calidad de la grasa ingerida pueden emplearse diferentes índices o relaciones (según la información disponible) que consideran las distintas familias de ácidos grasos (37), para el estudio se utiliza el cociente que involucra a los tres tipos de ácidos grasos relacionados con los desayunos de intervención.

Del cálculo del cociente de la calidad de la grasa dietética, en individuos con RCV, se obtiene como resultado 1.79 cuyo valor se interpreta como que el perfil lipídico no es adecuado a las recomendaciones (un contenido adecuado en los tres tipos de ácidos grasos considerados, se correspondería con un cociente ≥ 2) (368), lo que indica que se tiene un exceso de ácidos grasos saturados en la dieta.

$$\text{Cociente} = \frac{\text{AGMI} + \text{AGPI}}{\text{AGS}}$$

Un estudio en adultos mayores que muestra los resultados de la calidad de grasa en la dieta de la población española (369), revela resultados contrarios a los obtenidos por nosotros. Beltrán y otros, indica que gran parte de la grasa de la dieta de los ancianos españoles procede de la grasa visible o añadida en la preparación culinaria de los alimentos (aceites de oliva y girasol), especialmente en la dieta de las mujeres (369), lo cual no se estaría observando en la población de nuestro estudio.

5.1.10.2 Micronutrientes

La ingesta basal de **minerales** se observa por debajo de las cantidades recomendadas (Tabla 29), en los minerales: Calcio (950-1000 mg/d), Iodo (150 µg/d) y Zinc (8-9,3 mg/d) (362).

Hay que tener en cuenta que una de las patologías asociadas a la menopausia es la osteoporosis, ya que la absorción de calcio no aumenta en este tiempo, sino que disminuye, representando un balance de calcio negativo, que resulta compatible con la pérdida ósea media de 0,5-10% por año después de la menopausia (370). Por todo ello, es importante recomendar incrementar el aporte dietético de calcio antes, durante y después de la menopausia, para cubrir al menos la pérdida adicional obligatoria de calcio que se produce a través de la orina.

Tabla 29. Cantidades diarias ingeridas de minerales en la dieta basal de la muestra poblacional

Minerales	Cantidad ($\bar{x} \pm SD$)	Valores recomendados
Fósforo (mg)	862 ± 321	700
Magnesio (mg)	207 ± 91,3	280
Calcio (mg)	652 ± 306	1000
Hierro (mg)	9,58 ± 3,53	9
Zinc (mg)	6,30 ± 2,81	8
Sodio (mg)	1250 ± 631	1500
Potasio (mg)	2210 ± 865	3500
Yodo (µg)	43,3 ± 31,5	150
Cobre (µg)	962 ± 613	1,2
Flúor (µg)	403 ± 614	3

Los valores se expresan como media ± desviación estándar ($\bar{x} \pm SD$). Referencia: AESAN (2019) (362)

Por otro lado, el Yodo es esencial para la producción de hormonas tiroideas y la deficiencia puede ocasionar hipotiroidismo u otras disfunciones tiroideas, causan gran variedad de alteraciones hemodinámicas y cardíacas que pueden conducir a eventos CV (370).

El zinc ayuda a limitar la inflamación y el estrés oxidativo, asociados con la aparición de enfermedades cardiovasculares y cánceres crónicos (370)

En cuanto a la ingesta basal de **vitaminas** liposolubles A, D y E, se observa deficiencia en la ingesta de vitaminas D, E y ácido fólico (Tabla 30) (362). La deficiencia de vitamina D, en el colectivo poblacional de mujeres menopáusicas tiene una importancia especial ya que la vitamina D es imprescindible para mantener los niveles de calcio en sangre, que a su vez son necesarios para la mineralización de los huesos, además de su papel como inmunomodulador (371).

Tabla 30. Cantidades diarias ingeridas de vitaminas en la dieta basal de la muestra poblacional

Vitaminas	Cantidad ($\bar{x} \pm SD$)	Valores recomendados
Ácido ascórbico (mg)	125 ± 118	75
Vitamina A (ug)	1450 ± 1090	650
Vitamina D (ug)	4,02 ± 6,64	12,5
Vitamina E (mg)	3,93 ± 2,58	11
Ácido fólico (ug)	144 ± 85,5	330

Los valores se expresan como media \pm desviación estándar ($\bar{x} \pm SD$). Referencia: AESAN (2019) (364)

También resulta preocupante la ingesta de vitamina E por debajo de las recomendaciones, teniendo en cuenta el papel de la vitamina E como el principal antioxidante liposoluble en el sistema de defensa, ya que protege los AGPI, las LDL y otras membranas celulares de la oxidación, es decir, media en la estabilización de las membranas celulares protegiéndolas de la oxidación lipídica, en la regulación de los procesos inflamatorios y en la agregación plaquetaria, que tan relacionados directamente están con la patología cardiovascular (372). De hecho, existe evidencia científica que pone de manifiesto que, el consumo de vitamina E se asocia con un menor riesgo de padecer ECV y DM2 (371).

5. 2. ANALISIS INFERENCIAL

El objetivo principal del estudio consistió en analizar si los diferentes tipos de grasas ingeridas en los tres tipos de desayunos, como única variable en el conjunto de la composición nutricional de la dieta, influyen sobre el riesgo

cardiovascular en un colectivo de mujeres posmenopáusicas. Para ello se evalúan variables relacionadas con el perfil lipídico plasmático, con el estado oxidativo y con el proceso inflamatorio, además de otros analitos bioquímicos relacionados con el metabolismo nitrogenado, glucídico, de vitaminas y electrolitos

Un aspecto metodológico por destacar, que constituye una limitación del estudio, es el hecho que, los tres tipos de desayunos no fueron isocalóricos, existiendo ciertas variaciones en la cantidad de grasa que aportan las preparaciones en monodosis utilizadas en el estudio. En este sentido, predominaron las consideraciones habituales de consumo y manteniendo idénticos el resto de los componentes del desayuno (y el resto de las comidas), la única variable fue la fuente de grasa del desayuno, que se aportó en una forma muy utilizada por la población general, en sobres monodosis.

5.2.1 Efecto en el perfil lipídico sanguíneo de los tres tipos de desayuno evaluados

En una muestra poblacional con riesgo cardiovascular (población femenina posmenopáusica, que además cada participante presenta al menos otro factor de riesgo CV), se evaluó el efecto de las grasas ingeridas a través de tres tipos de desayunos, en el perfil lipídico plasmático, a fin de determinar si alguno de los tres tipos de grasas al ser ingeridas a primera hora del día, tienen capacidad de modificar dichos parámetros que son de importancia en el control y prevención del RCV.

5.2.1.1 Parámetros convencionales de perfil lipídico

En las diferencias pre / post de los tres tipos de desayunos, para los parámetros (colesterol total, LDL-c, HDL-c y TG) del perfil lipídico (concentración final - concentración inicial), se observaron diferencias estadísticamente significativas en el colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL-c) y colesterol LDL (LDL-c) (Tabla 31). La concentración plasmática de CT y HDL-c aumentaron significativamente ($p < 0,05$) en las participantes tras recibir el desayuno 1, mientras que tras la administración del desayuno 2 se observan disminuciones ($p < 0,05$) en los valores de colesterol total plasmático y de LDL-c, aumentando

además con este 2º tipo de desayuno los valores de HDL-c ($p=0,0006$). La ingestión del desayuno 3 (D3), rico en AGMI, no produjo variaciones estadísticamente significativas en ningún parámetro bioquímico del perfil lipídico plasmático, aunque se observó una tendencia a la disminución de los niveles de CT y LDL-c y un aumento de los niveles de HDL-c. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de triglicéridos después de la ingestión de los tres tipos de desayuno. Por otro lado, se observa que casi todos valores basales y finales se encuentran dentro de los rangos recomendados, excepto el LDL en los tres desayunos, que fueron superiores ($p<0,05$) al valor de referencia.

Tabla 31. Comparación de los valores basales y finales del perfil lipídico dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Colesterol total (mg/dl)	201,56 (192,85-210,27)	208,26* (194,27-222,26)	204,49 (195,63-213,34)	195,24* (180,93-209,55)	197,79 (188,85-206,73)	194,07 (179,23-208,92)	200
HDL-c (mg/dl)	63,1 (59,97-66,23)	68,06* (62,97-73,15)	64,91 (61,74-68,09)	68,40* (63,23-73,59)	66,27 (63,07-69,47)	66,68 (61,3-72,06)	>40
LDL-c (mg/dl)	118,70• (111,40-126,00)	121,12• (109,23-133,00)	121,61• (114,19-129,03)	109,19*• (96,93-121,35)	112,80• (105,30-120,29)	110,08• (97,22-122,93)	100
Triglicéridos (mg/dl)	98,56 (86,93-110,19)	95,90 (77,64-114,16)	90,17 (78,34-101,99)	87,85 (69,19-106,51)	93,46 (81,51-105,40)	89,84 (70,49-109,18)	150

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{x} (IC 95%).

*Diferencia significativa final vs basal ($p<0,05$); •Diferencias significativa ($p<0,05$) vs valor de referencia.

Para cada tiempo (basal y final), así como para las variaciones pre/post, la comprobación de las posibles diferencias, para cada parámetro en función de los diferentes desayunos, se llevó a cabo mediante un modelo de regresión lineal simple, introduciendo el parámetro analizado como variable dependiente, el tipo de desayuno como variable independiente y el ID (código o número de identificación) de las participantes como variable de efectos aleatorios. Para

comprobar que desayunos produjeron las diferencias, este análisis fue seguido de un test de comparaciones múltiples de Tukey. Para la comparación de los tiempos basales y finales de cada parámetro con los valores de referencia, se realizó un modelo de regresión lineal simple, introduciendo como variable dependiente el parámetro analizado, como variable independiente el desayuno y como variable de efectos aleatorios el ID de las participantes. Posteriormente se realizó un contraste de los valores medios obtenidos, para cada tiempo y desayuno, con los respectivos valores de referencia.

En la comparación de las variaciones en los cuatro parámetros mostrados en la Figura 26, se observa que con el desayuno rico en AGS (D1) aumenta ($p < 0,05$) el colesterol total, lo que no sucede con D2 y D3, siendo estas diferencias pre/post estadísticamente significativas (D1 vs D2 y D1 vs D3) ($p < 0,05$), no evidenciando diferencias significativas entre las variaciones producidas con D2 y D3. Mientras que los valores de HDL-c se observa que incrementaron con los desayunos D1 y D2, el incremento con D1 es significativamente superior ($p < 0,05$) al cambio observado con D3. Sin embargo, el incremento con D2 no es significativamente distinto al observado con D1 ni con D3. Por otro lado, se observa que los niveles de LDL-c disminuyen significativamente solo con D2 evidenciando diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las variaciones de D2 con D1 y con D3. Las variaciones de los niveles de triglicéridos en los tres desayunos, no evidencian diferencias estadísticamente significativas.

Estos resultados tienen una gran relevancia clínica en términos de prevención de ECV, ya que observamos que el desayuno que contenía una fuente de grasas poliinsaturadas, a través de la margarina, logró mejorar el perfil lipídico de los voluntarios (disminuyendo los niveles de LDL-c y aumentando los niveles de HDL-c), mientras que la mantequilla, como fuente de grasas saturadas en el desayuno, solo pudo aumentar la colesterolemia a expensas del HDL-c sin disminuir los niveles de LDL-c, el verdadero agente aterogénico. También observamos que el desayuno que contenía aceite de oliva como principal fuente de AGMI no alteró el perfil lipídico de la población analizada, quizás por el tamaño de la muestra y el momento de la intervención o los antecedentes genéticos de los sujetos.

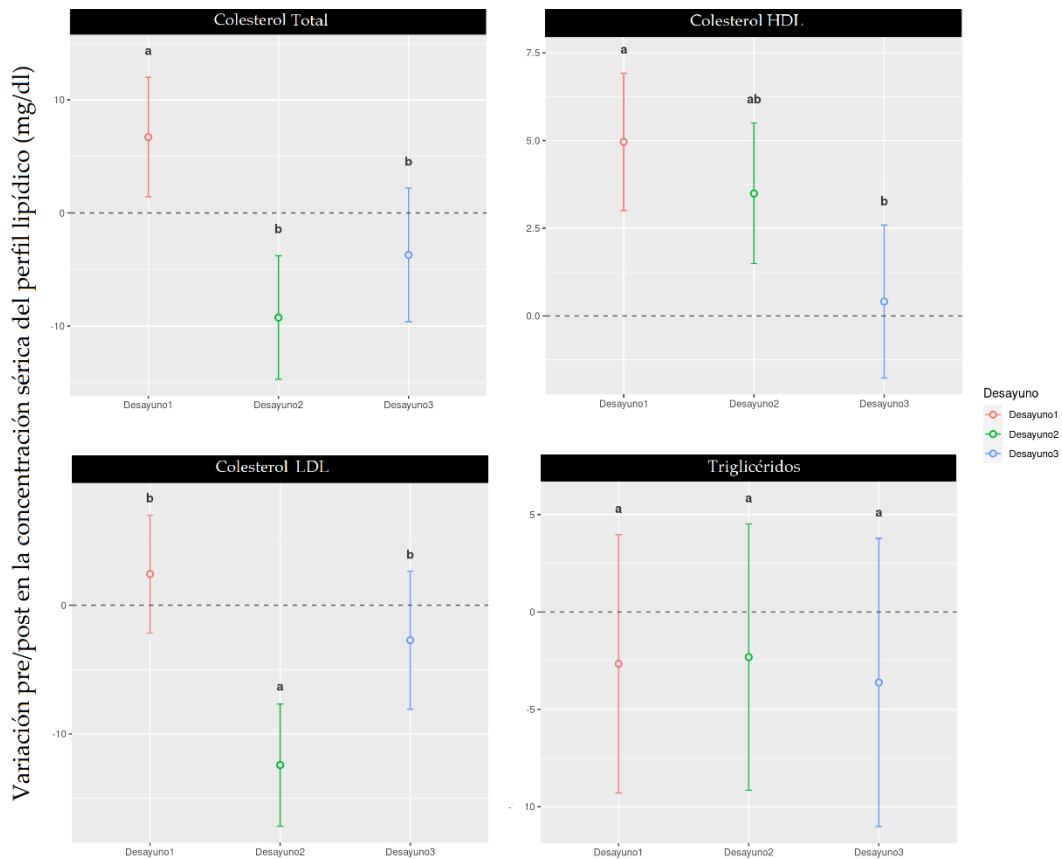


Figura 26. Variación del perfil lipídico sanguíneo pre-post en los 3 tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Nuestros resultados indican que la sustitución de grasas saturadas por grasas poliinsaturadas en el desayuno disminuye los niveles de colesterol total (204,49 vs 195,24 mg/dl; $p < 0,005$) y los niveles de LDL-c (121,61 vs 109,19 mg/dl; $p = 0,05$), proporcionando grandes beneficios para disminuir el riesgo cardiovascular como muchos estudios indican (373). Estos resultados apoyan y sugieren la iniciativa de modificar o cambiar el tipo de grasa de la dieta, y específicamente en el desayuno, ya que en la actualidad las ECV constituyen la principal causa de muerte en los países desarrollados. Los resultados del presente trabajo son acordes con estudios previos según los cuales los AGPI tienden a reducir los niveles de colesterol plasmático, mientras que los ácidos grasos saturados tienden a aumentarlos (53), apoyando así que los AGPI pueden ser un

reemplazo ideal de los AGS, tal como lo sugiere la OMS (53) al afirmar que reemplazar los AGS por AGPI disminuye el nivel de colesterol LDL y la relación colesterol total/HDL-c. Un efecto similar pero menos efectivo se consigue reemplazando estos AGS con AGMI.

Es bien sabido que niveles elevados de colesterol total en sangre se considera un factor de riesgo de ECV. La asociación americana del corazón define un nivel normal de colesterol total como menos de 200 mg/dL (211), mientras que un nivel de "límite alto" de colesterol sérico total es de 200 mg/dL a 239 mg/dL es y el nivel de colesterol superior a 240 mg/dL indica un mayor riesgo de enfermedad cardíaca. Nuestra muestra poblacional presenta niveles de colesterol en límite alto y estos niveles elevados de colesterol total y LDL-c son afecciones que representan la dislipemia y además se informa que son factores críticos que contribuyen a la aterosclerosis, el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular (214).

Desde hace décadas atrás, se sabía que el uso de grasas poliinsaturadas en el contenido total de la dieta reducía el colesterol sérico y también los niveles de LDL-c (374). Lo que no estaba descrito hasta ahora es si la introducción de estas grasas poliinsaturadas en el desayuno era capaz de ejercer esos cambios sobre el perfil lipídico plasmático. En un estudio desarrollado por Mozaffarian y otros (62) también se informa que los AGPI redujeron los niveles de HDL-c y, al mismo tiempo, mejoraron la resistencia a la insulina y redujeron la inflamación sistémica. Nuestros resultados no coinciden con los de Mozaffarian ya que se obtuvieron niveles superiores de HDL-c (64,91 vs 68,40 mg/dl) tras la ingestión del desayuno rico en grasas poliinsaturadas.

Por otro lado, en nuestro estudio observamos que la incorporación de grasas monoinsaturadas en el desayuno reduce los niveles de colesterol total y LDLc y se observa también una tendencia al aumento de HDL-c, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Pelkman y colaboradores (375) informaron que las dietas bajas en grasas y las dietas enriquecidas con grasas monoinsaturadas disminuyeron los niveles de LDL-c, aunque las concentraciones de HDL-c no aumentaron como en nuestro trabajo. Además, las dietas AGMI ejercieron efectos favorables sobre el riesgo de ECV porque la proporción de LDL a HDL mejoró significativamente más con la dieta AGMI que con la dieta baja en grasas o la dieta de control.

5.2.1.2 Perfil lipídico óptimo

Se evaluó la influencia de los diferentes desayunos en el porcentaje de sujetos con perfil lipídico óptimo, definido como el número de sujetos que cumplieran la siguiente condición HDL-c > 35 mg / dl, LDL-c <150 mg / dl y colesterol total <200 mg / dl, según NCEP-ATP III y recomendaciones de la SEA (85, 376). La comparación entre los datos basales y los datos finales se realizó por distribución de la población según el perfil lipídico, se contrastó con el test Chi-cuadrado en comparaciones entre los tres desayunos en un mismo momento (basal y final).

Como se muestra en la Tabla 32, tras finalizar el seguimiento de cada tipo de desayuno, se aprecian tendencias a cambios en la tasa de mujeres con perfil lipídico óptimo, respecto a los valores basales. Al analizar la evolución de los valores para cada desayuno, se observa que solo con D2, el desayuno a base de margarina se produce un incremento significativo ($p=0.012$) de mujeres con perfil lipídico óptimo, mientras que con D1 y D3 las variaciones observadas no alcanzan la significación estadística.

El aumento en el porcentaje de sujetos con óptimo perfil de lípidos después de la ingestión de un desayuno que contiene margarina también sugiere que el consumo de AGPI en el desayuno puede ser aconsejable en sujetos con riesgo de ECV debido a los efectos sobre el perfil lipídico y, en consecuencia, la disminución del riesgo cardiovascular.

Tabla 32. Variación del porcentaje de participantes con Perfil lipídico óptimo en cada tipo de desayuno

Perfil lipídico óptimo (%)	D1	D2	D3
Basal	54,0	42,6	60,5
Final	44,0	61,7*	52,6

D1: desayuno a base de AGS, D2: desayuno a base de AGPI, D3: desayuno a base de AGMI. (*) Diferencias significativas vs valor Basal

Los resultados obtenidos también son importantes ya que, según algunos autores (37, 377), el tipo de nutrientes ingeridos durante la primera comida del

día son capaces de programar el metabolismo durante el resto del día. En este sentido, si son elevadas las cantidades de carbohidratos que se ingieren por la mañana, se utilizará más extensamente durante el resto del día el combustible glucídico. Si se toma un desayuno rico en grasas, el metabolismo será más flexible con carbohidratos y grasas como fuente de energía durante el resto del día y, por tanto, la acumulación de grasa en el tejido adiposo disminuiría y favorecería movilización de grasas como colesterol lipoproteico. En nuestro trabajo, las fracciones movilizadas de colesterol lipoproteico (HDL y LDL) podrían ser diferentes según el tipo de grasa ingerido en el desayuno, teniendo AGPI una mayor influencia positiva sobre el metabolismo lipoproteico.

5.2.1.3 Lipoproteínas

Cuando se evaluaron las lipoproteínas pre y post en los tres tipos de desayunos (Tabla 33), los datos mostraron que los quilomicrones se redujeron de manera significativa con los tres desayunos, basados en AGS ($p=0.0004$), AGPI ($p=0.0002$) y AGMI ($p=0.0006$). Estos resultados nos sorprenden ya que las muestras sanguíneas se extrajeron en condiciones de ayuno (horario previo al desayuno), razón por la que los quilomicrones, según la bibliografía, no debían estar presentes en cantidades significativas. Mientras que el desayuno rico en AGPI tuvo una reducción significativa ($p = 0,007$) de lipoproteína β (LDL) y el desayuno rico en AGS se asoció con un aumento significativo ($p = 0.000$) de esta fracción. Lo contrario se observó con respecto a la pre- β lipoproteína (VLDL), ya que el desayuno rico en AGPI aumentó esta fracción ($p = 0,0221$), sin embargo, con el desayuno rico en AGS se reducen ($p = 0,0000$) los valores de esta lipoproteína. Por otro lado, las α lipoproteínas (HDL) se incrementaron con el desayuno rico en AGPI ($p=0.0144$) mientras que con los desayunos ricos en AGS y AGMI se observa una tendencia al incremento, no significativa en ambos casos.

Por otro lado, se observa que todos los valores de las lipoproteínas se encontraron dentro del rango de normalidad tanto pre como post en cada tipo de desayuno de la intervención.

Al comparar las variaciones de estos parámetros convencionales del perfil lipídico entre los tres tipos de desayuno (Figura 27), se observa que no existen diferencias significativas para los cambios observados en los niveles de

quilomicrones entre los tres desayunos, basados en AGS, AGPI y AGMI. Sin embargo, con D1, el desayuno rico en AGS, los cambios pre / post que se observan son diferentes en LDL ($p=0.000$) y VLDL ($p<0.0004$) respecto a D2 y D3, y en HDL ($p<0.05$) respecto a D2. Mientras que con D2, desayuno rico en AGPI, se evidencian diferencias significativas en las variaciones de LDL ($p<0.05$) con D1, de HDL ($p<0.05$) con D1, y de VLDL ($p<0.05$) con D1 y D3. Por otro lado, con el desayuno rico en AGMI, D3, las variaciones son diferentes para las LDL con D1, para las VLDL ($p=0.0024$) con D1 y D2, sin que se aprecien diferencias significativas entre las variaciones de HDL con los otros dos tipos de desayunos.

Tabla 33. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de lipoproteínas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Quilomicrones (mg/dl)	0,72 (0,51-0,94)	0,48* (0,14-0,83)	1,09 (0,89-1,30)	0,84* (0,51-1,18)	0,94 (0,72-1,15)	0,69* (0,33-1,05)	0-2
LDL (mg/dl)	49,42 (47,78-51,07)	54,27* (50,98-57,56)	49,84 (48,25-51,42)	47,01* (43,78-50,24)	44,61 (42,93-46,29)	43,19 (39,69-46,70)	40.7-71.9
VLDL (mg/dl)	17,31 (15,41-19,20)	13,44* (10,33-16,54)	15,69 (13,85-17,53)	17,09* (14,05-20,13)	16,16 (14,24-18,08)	15,12 (11,91-18,33)	0-29.6
HDL (mg/dl)	32,59 (30,36-34,82)	31,9 (27,84-35,97)	33,89 (31,73-36,05)	36,14* (32,18-40,11)	38,35 (36,08-40,61)	39,84 (35,62-44,05)	9.8-46.2

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{x} (IC 95%).

* Diferencia significativa final vs basal ($p<0,05$); •Diferencias significativa ($p<0,05$) vs valor de referencia.

Como se puede observar en los resultados obtenidos al final de la intervención, se confirma nuestra hipótesis, ya que se evidenciaron varios cambios en estos marcadores como consecuencia de las intervenciones realizadas, lo cual podría tener cierta relevancia en términos de prevención de ECV, modificando el tipo de grasa ingerida en el desayuno.

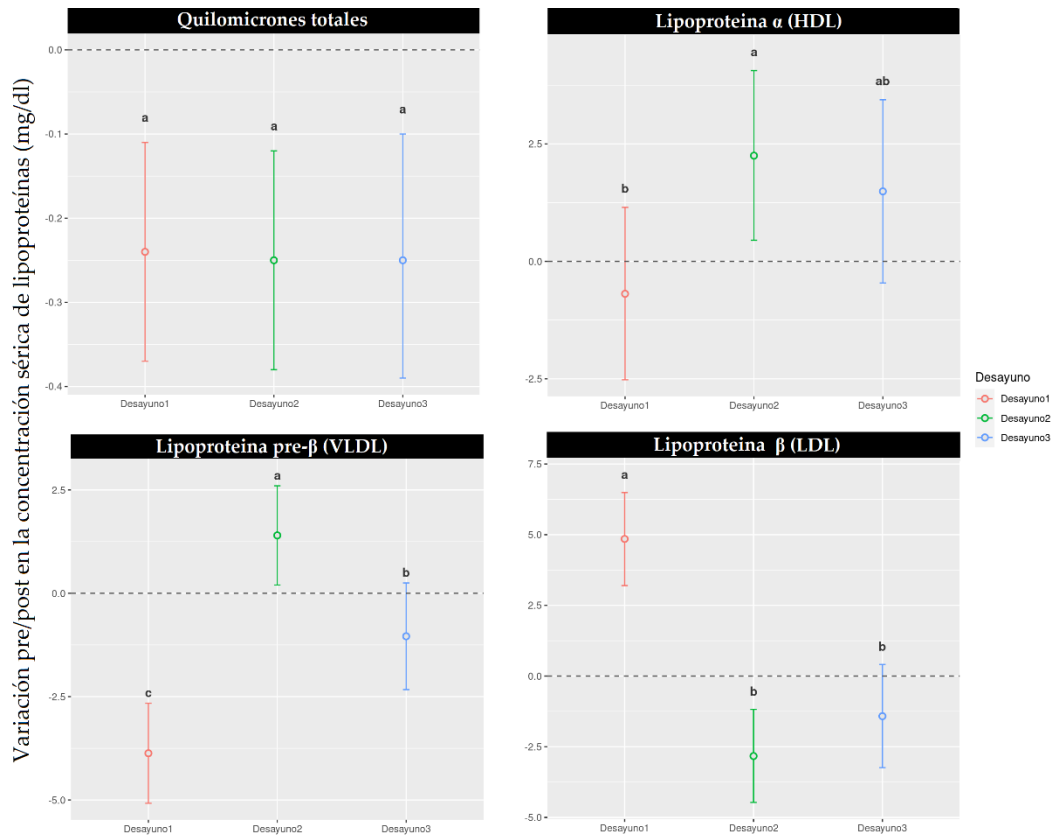


Figura 27. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de lipoproteínas entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Diversos estudios observacionales y cohortes han destacado la relevancia de la ingesta de grasas en la dieta sobre las ECV, pero hasta ahora ninguno de esos estudios ha evidenciado la importancia de esos tipos de grasas contenidos en el desayuno sobre el riesgo cardiovascular de los individuos. Un importante estudio prospectivo indicó que reemplazar el 5% de la dosis diaria de energía de AGS con una ingesta equivalente de AGPI, redujeron un 24% la razón de riesgo de ECV (378). Por otro lado, un metaanálisis ha observado que el efecto de la sustitución de 1% AGS por una cantidad equivalente de AGPI, disminuyeron los triglicéridos plasmáticos, colesterol total y las lipoproteínas β (LDL) (379). Sin embargo, al contrario de lo que se esperaba, una revisión ha descrito que los

triglicéridos posprandiales eran más bajos con una comida rica en AGS, sugiriendo, por tanto, que la duración posprandial es de importancia al evaluar el efecto de los ácidos grasos en las lipoproteínas séricas (380), así mismo destaca la necesidad de estudios a largo plazo.

El efecto de las intervenciones sobre las diferentes variables lipídicas séricas, mostraron que la intervención evidencia diferencias significativas de quilomicrones entre los tres desayunos, esto a pesar de que las muestras de sangre fueron recolectadas en condiciones de ayuno (12 h), donde su concentración es muy baja. En reportes previos se ha demostrado que la edad es un regulador clave de la respuesta del quilomacrón a la grasa de la dieta (381). La eliminación del resto de quilomicrones del torrente sanguíneo se retrasa en sujetos de edad avanzada (381). Un estudio refiere que los adultos mayores tienen una respuesta de quilomicrones alterada, debiéndose a la formación de quilomicrones más grandes que contienen una mayor cantidad de triglicéridos que retrasaría la eliminación (382). Dado que el tamaño de los quilomicrones dicta el aclaramiento lipolítico, las diferencias relacionadas con la edad en la composición y el tamaño de los quilomicrones podrían contribuir al aclaramiento deficiente de los remanentes de quilomicrones (382). Cabe mencionar que los remanentes corresponden a la comida anterior (en ayuno, cena anterior). Sin embargo, nos sorprende ver en nuestro estudio la disminución de niveles de quilomicrones al finalizar cada periodo de desayuno, aunque no se tuvo en cuenta el tipo de grasa ingerida a lo largo del día, ni al finalizar el día, por lo que no se podría afirmar si el tipo de grasa ingerida en el desayuno sea el único factor que determina la variación de quilomicrones, ya que estos principalmente reflejan los remanentes de la comida anterior. La relación entre la grasa ingerida a primera hora del día y los quilomicrones no se ha estudiado, por lo que este trabajo podría servir de base para futuras líneas de investigación. Por lo que sería recomendable evaluar una alteración apo C-II, la cual activa la lipoprotein lipasa, en la grasa ingerida a primera hora del día y esto podría ayudar a explicar la variación de quilomicrones (265).

El desayuno que contiene una fuente rica en AGPI (margarina) fue capaz de disminuir el nivel del agente proaterogénico, las lipoproteínas β (LDL) e incrementar la lipoproteína α (HDL). Por otro lado, se observó que el desayuno rico en AGMI tuvo una tendencia a la disminución del agente aterogénico pre- β

(VLDL) y β , aunque sin significancia estadística. Como comentaron Aneni y colaboradores (383), los análisis de subfracción de lipoproteínas puede ayudar a discriminar aún más a los pacientes que requieren un estudio cardiovascular más intensivo y tratamiento. Teniendo en cuenta el efecto del desayuno rico en AGPI sobre las lipoproteínas, se puede especular que estas intervenciones redujeron el riesgo cardiovascular de los participantes. Curiosamente, el desayuno que contiene una fuente de SFA (mantequilla) pudo disminuir los niveles de lipoproteínas pre- β (VLDL), pero el efecto sobre el marcador proaterogénico LDL fue inverso al observado en el desayuno rico en AGPI. Un estudio anterior también mostró que reemplazar la mantequilla por margarina mejoró el perfil de lipoproteínas en sanguíneas y redujo el riesgo previsto de enfermedad coronaria (384), así como en el presente trabajo.

Uno de los parámetros más afectados en las diferentes intervenciones realizadas fue la lipoproteína HDL. El desayuno rico en AGPI y aumentaron sus valores plasmáticos, mientras que los desayunos ricos en AGS ejercieron el efecto contrario.

5.2.1.4 Apolipoproteínas

Los resultados intradesayunos, comparan los valores pre y post de las apolipoproteínas, que se muestran en la Tabla 34. Se puede observar que el desayuno D1, rico en AGS disminuye de manera significativamente ($p < 0.05$) las apo A-I y apo A-II. Mientras que el desayuno rico en AGPI incrementa de manera significativa ($p < 0.05$) la apo A-I y la apo E y disminuyó ($p = 0.0015$) la apo B. Mientras que con D3, desayuno rico en AGMI, se observa una disminución significativamente ($P = 0.0000$) de la apo A-II. Por otro lado, se observa que los valores de la apoproteína A-II está por debajo de las recomendaciones, tanto en los valores pre como post, en todos los desayunos.

Al comparar las variaciones de las concentraciones séricas de apolipoproteínas entre los tres tipos de desayuno (Figura 28), se observa que D2, desayuno rico en AGPI tiene diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a D1 y D3, en las variaciones de apo A-I, apo A-II, apo E y apo B. Por otro lado, no se observan diferencias entre las variaciones de D1 y D3 en las variaciones de concentraciones séricas de ninguna de las apolipoproteínas analizadas.

Tabla 34. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de apolipoproteínas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Apo A-I (mg/dl)	180,77 (175,69-185,85)	176,79* (168,14-185,44)	164,35 (159,39-169,32)	178,83* (170,30-187,37)	176,37 (171,24-181,50)	175,48 (166,59-184,38)	115 - 220
Apo A-II (mg/dl)	35,47• (34,09-36,85)	33,53*• (31,28-35,77)	34,96• (33,60-36,33)	35,24• (33,03-37,47)	34,88• (33,50-36,27)	32,42*• (30,11-34,75)	38-73
Apo B (mg/dl)	88,27 (82,75-93,80)	88,52 (80,42-97,43)	89,49 (84,03-94,95)	84,73* (76,33-93,13)	98,05 (92,49-103,61)	99,17 (90,39-107,96)	60 - 138
Apo E (mg/dl)	4,67 (4,40-4,94)	4,54 (4,09-4,99)	4,42 (4,16-4,69)	4,69* (4,26-5,14)	4,4 (4,13-4,67)	4,38 (3,92-4,84)	37-73

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{X} (IC 95%).

*Diferencia significativa final vs basal ($p < 0,05$); •Diferencias significativa ($p < 0,05$) vs valor de referencia.

Los datos derivados de las apolipoproteínas (Apo) fueron más controvertidos. El desayuno rico en AGPI se caracterizó por un aumento de las lipoproteínas apo A y E, y por la disminución de los niveles de apo B. La apo B es la proteína integral del quilomicrón y sus remanentes, VLDL, IDL, LDL y Lp (a). Los resultados de estudios epidemiológicos recientes sugieren que la apo B es un mejor predictor de eventos coronarios que LDL (385). En un estudio anterior, Gagliardi y colaboradores (384), examinó los efectos de la mantequilla y la margarina, encontrando una reducción significativa en apo B cuando se usó margarina, coincidiendo con lo que se observa en el presente trabajo. Así también, los niveles altos de Apo AI se asocian con un menor riesgo de aterosclerosis, por tener un efecto vasoprotector (251), por lo que las apo AI son un mejor predictor de mortalidad por cardiopatía isquémica (252). Por otro lado, los niveles altos de Apo B se asocian con un mayor riesgo de aterosclerosis (261).

La apo A-II es la segunda proteína más abundante en las partículas HDL, pero su función permanece en gran parte desconocida. Los estudios en humanos y ratones modificados genéticamente han destacado el papel de estabilización de la apo A-II en HDL a través de la inhibición de su remodelación por lipasas (386) y a través de la modulación de la actividad de la lipoproteína lipasa (387). Una

teoría interesante de estos trabajos está relacionada con la funcionalidad de partículas de HDL. Estos estudios han revelado la presencia disfuncional de HDL en pacientes con enfermedad cardiovascular (386, 387); por lo tanto, se puede plantear la hipótesis de que la determinación de apo A-II es más relevante que el de HDL, especialmente en pacientes con enfermedad cardiovascular. Por lo tanto, el efecto beneficioso del desayuno rico en AGPI sobre la salud cardiovascular, resulta más avalado con estos resultados al provocar un incremento de la apo A-II (388, 389).

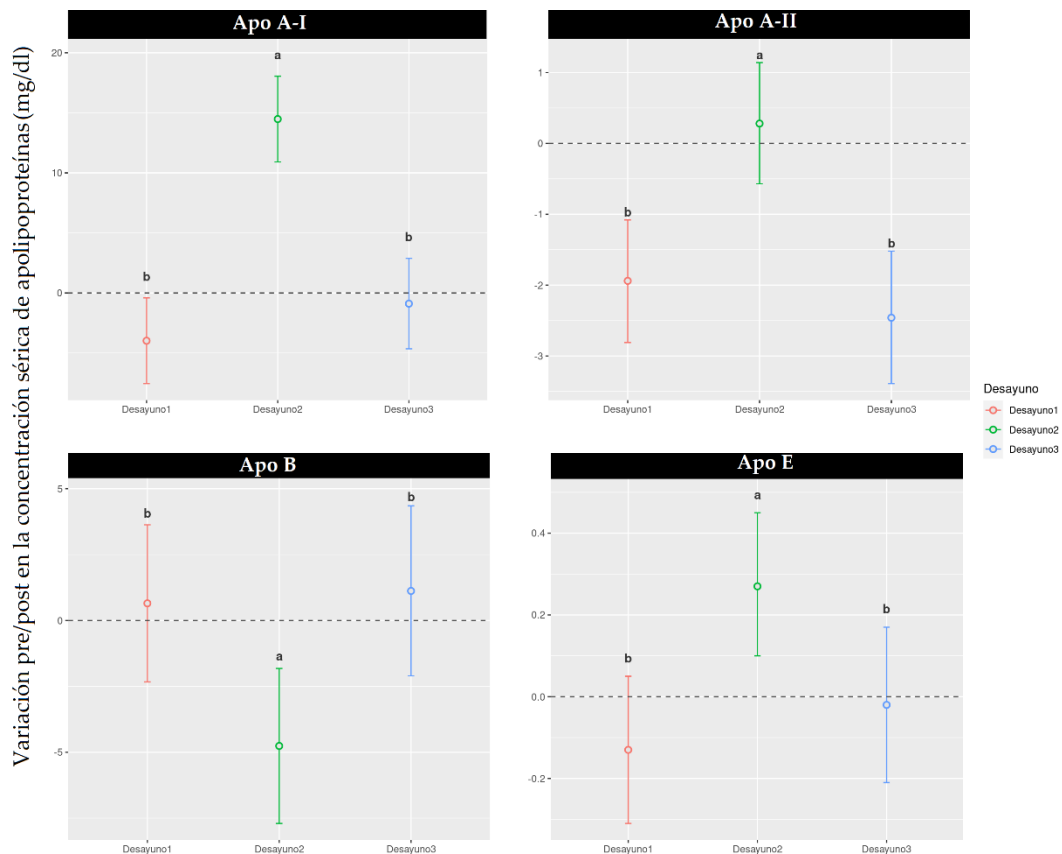


Figura 28. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de apolipoproteínas entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

5.2.1.5 Subfracciones lipoproteicas

En la tabla 35, se muestran los resultados pre y post de las cada una de las intervenciones nutricionales sobre los parámetros de las subfracciones de lipoproteínas dentro de cada tipo de desayuno, así como los respectivos valores de referencia.

Tras la intervención con el desayuno rico en AGS, curiosamente se observa una disminución significativa de la lipoproteína de muy baja densidad VLDL ($P=0.0000$) e incremento significativo de lipoproteínas de densidad intermedia, IDLc ($P=0.0194$) e IDLb ($P=0.0007$). Mientras que con el desayuno rico en AGPI, disminuye significativamente la Lp (a) ($P=0.0000$), VLDL ($P=0.0047$), IDLc ($P=0.0500$) y LDL5 ($P=0.0451$) e incrementa significativamente HDL ($P=0.0000$) y la LDL2 ($P=0.0275$). Mientras tanto, el desayuno rico en AGMI sólo evidenció una tendencia a la reducción en la mayoría de las lipoproteínas, no llegando alcanzar la significación estadística en ninguno de los parámetros evaluados.

Por otro lado, al comparar los valores de las subfracciones lipoproteicas, tanto a nivel basal como final, con sus respectivos valores de referencia, se observa que sólo existe diferencia significativa en el valor basal de VLDL del D2, siendo superior ($p=0.0000$) al valor referencia, el cual tras la intervención con el desayuno rico en AGPI disminuye significativamente.

En la Figura 29, se muestran las diferencias entre las variaciones de las diferentes intervenciones nutricionales realizadas.

Se observaron efectos principales con respecto a las partículas HDL, que incrementan con el desayuno rico en AGPI, y con ello se diferencia significativamente ($p<0,05$) de los desayunos D1 y D3, en los que no se aprecian incrementos de las HDL, según este método de análisis de subfracciones lipoproteicas. Respecto a la variación de VLDL y IDL-B se observan diferencias significativas ($p<0.05$) entre D1 Y D3, sin embargo, no existe diferencia en la entre D1 y D2, ni entre D2 y D3. Mientras tanto, en las variaciones de las subfracciones IDL-C, LDL-2, LDL-4 y LDL-5, se observan diferencias significativas ($P<0.05$) entre D1 y D2, aunque no se observa diferencias para las variaciones de estos parámetros entre D1 y D3, ni D2 y D3. Por otro lado, no se observan diferencias entre las variaciones de lipoproteína (a), IDL-A, LDL-1, LDL-3, LDL-6 y LDL-7 entre los tres desayunos de la intervención.

Tabla 35. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de las subfracciones lipoproteicas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Lipoproteína (a) (mg/dl)	21,22 (15,07-27,36)	20,36 (12,79-27,92)	22,47 (16,37-28,58)	19,67* (12,23-27,12)	22,22 (16,07-28,38)	21,57 (13,54-29,61)	30.00
VLDL-Lip (mg/dl)	23,64 (20,85-26,42)	18,73* (13,96-23,48)	30,84• (28,11-33,58)	28,02* (23,34-32,71)	25,36 (22,55-28,17)	23,98 (18,61-29,35)	<24.4
IDL-C-Lip (mg/dl)	13,54 (11,96-15,11)	15,52* (12,28-18,76)	21,82 (20,30-23,34)	20,28* (17,22-23,34)	19,95 (18,34-21,55)	20,96 (17,34-24,57)	<23.2
IDL-B-Lip (mg/dl)	12,63 (11,51-13,76)	14,29* (12,21-16,37)	13,02 (11,93-14,11)	13,42 (11,38-15,46)	12,53 (11,38-13,67)	12,2 (9,76-14,63)	<14.6
IDL-A-Lip (mg/dl)	13,58 (12,09-15,07)	13,3 (10,23-16,37)	13,86 (12,43-15,29)	14,29 (11,29-17,29)	10,85 (9,33-12,36)	11,2 (7,66-14,73)	<18.6
LDL-1 (mg/dl)	33,94 (30,44-37,44)	32,28 (25,14-39,43)	33,92 (30,56-37,28)	34,09 (27,12-41,07)	29,77 (26,19-33,35)	30,84 (22,43-39,25)	<46.5 ^b
LDL-2 (mg/dl)	24,19 (21,25-27,13)	22,73 (17,09-28,38)	27,37 (24,53-30,21)	30,35* (24,86-35,85)	28,3 (25,31-31,28)	27,18 (20,70-33,66)	<31.5 ^b
LDL-3 (mg/dl)	6,03 (4,46-7,60)	6,03 (2,83-9,23)	6,51 (5,00-8,02)	6,2 (3,08-9,32)	7,24 (5,64-8,83)	6,63 (2,80-10,45)	<9.2 ^b
LDL-4 (mg/dl)	0,57 (0,16-0,97)	0,97 (0,07-1,86)	1,16 (0,77-1,55)	0,77 (-0,10-1,64)	1,16 (0,75-1,57)	0,97 (-0,08-2,02)	<4.7 ^b
LDL-5 (mg/dl)	0,04 (-0,11-0,20)	0,17 (-0,12-0,47)	0,12 (-0,03-0,26)	-0,02* (-0,31-0,26)	0,27 (0,11-0,42)	0,13 (-0,22-0,48)	<5.5 ^b
LDL-6 (mg/dl)	0,04 (-0,09-0,18)	0,07 (-0,15-0,31)	0,02 (-0,11-0,15)	-0,05 (-0,27-0,18)	0,22 (0,09-0,36)	0,19 (-0,07-0,46)	<2.0 ^b
LDL-7 (mg/dl)	0,06 (-0,13-0,26)	0,4 (-0,19-1,01)	0,23 (0,04-0,42)	0,08 (-0,51-0,68)	0,13 (-0,07-0,34)	0,02 (-0,73-0,79)	<2.0 ^b
HDL-Lip (mg/dl)	69,10 (65,29-72,91)	68,09 (61,05-75,13)	57,77 (54,05-61,48)	67,73* (60,88-74,57)	61,06 (57,21-64,92)	63,05 (55,39-70,73)	>54.2 ^b

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{x} (IC 95%). *Diferencia significativa final vs basal ($p < 0,05$); •Diferencias significativa ($p < 0,05$) vs valor de referencia.

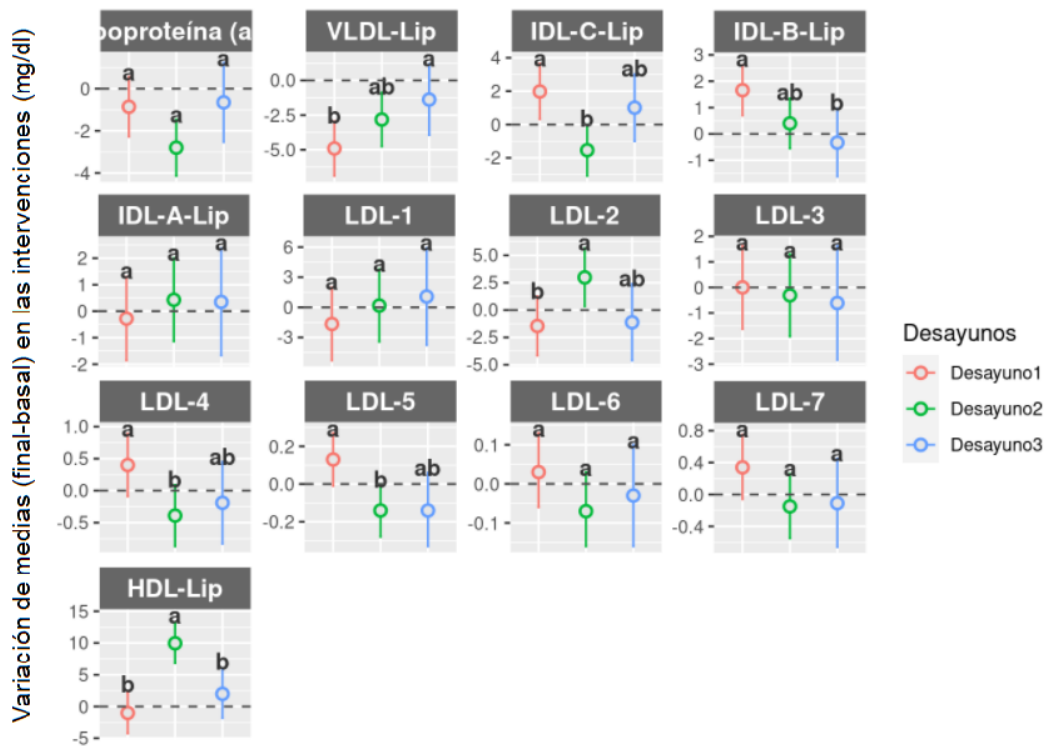


Figura 29. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de subfracciones lipoproteicas entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Las partículas de LDL pequeñas y densas se consideran más proaterogénicas que las partículas de LDL grandes. Se han descrito dos fenotipos distintos: el patrón B con predominio de partículas LDL pequeñas y densas, y el patrón A con una mayor proporción de partículas LDL grandes y más flotantes. Aunque el tamaño de las partículas de LDL está determinado genéticamente, su expresión fenotípica también puede verse afectada por factores ambientales, las drogas, la dieta, la obesidad o el ejercicio (238). Las partículas de LDL del fenotipo aterogénico contienen menos colesterol y fosfolípidos, pero más triglicéridos. Este fenotipo se conoce generalmente como fenotipo B y se caracteriza por niveles elevados de apo B, que se encuentra en LDL y VLDL (239).

El patrón B con predominio de partículas LDL pequeñas y densas (LDL3-LDL7), y el patrón A con una mayor proporción de partículas LDL grandes y más

flotantes. La prevalencia del fenotipo del patrón B es de aproximadamente el 15-25% en mujeres posmenopáusicas (240). El tamaño de LDL y el predominio del patrón B, está genéticamente influenciado, con una heredabilidad que oscila entre el 35 y el 45%, a su vez están asociadas a un riesgo aumentado de enfermedad cardíaca coronaria prematura, como hiperlipemia combinada, hiper-beta-lipoproteinemia e hipo-alfa-lipoproteinemia (241). Por otro lado, los factores no genéticos y ambientales influyen en la expresión de este fenotipo, la adiposidad abdominal y el uso de anticonceptivos orales se asocian con un aumento en LDL pequeño y denso (242).

La Sociedad Europea de Aterosclerosis, publicó una declaración del panel de consenso de 2010 recomendando la detección de Lp(a) elevada en individuos con riesgo cardiovascular intermedio, alto o muy alto, y sugirió una concentración plasmática deseable de menos de 50 mg / dl, ya que el riesgo cardiovascular se asocia con una concentración de Lp(a) por encima de 30 mg / dl (112). Si bien en nuestro estudio no se evidenció diferencias en los tres tipos de desayuno, se pudo observar que los niveles de Lp(a) estuvieron debajo de los 30mg/dl y se observó una tendencia a la disminución tras cada tipo de intervención sin alcanzar significancia estadística entre las variaciones de los tres tipos de desayunos. Sin embargo, analizando independientemente la evolución de los valores para cada desayuno, se observó que sólo con el desayuno rico en AGPI se obtuvo una disminución significativa ($p=0.0000$) en los niveles séricos de Lp(a), lo que vuelve a situar a las grasas poliinsaturadas ingeridas en el desayuno como una recomendación para disminuir el riesgo cardiovascular en la población.

Los niveles elevados de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) también se asocian con un aumento riesgo cardiovascular (390, 391). Los resultados derivados del presente estudio mostraron que el desayuno rico en AGPI disminuyeron los niveles totales de IDL, especialmente la subclase IDL-C. Como IDL-C es el más pequeño de la subfracción IDL, su disminución en la concentración sérica también podría estar relacionada con un menor riesgo CV, lo contrario se observa con el desayuno rico en AGS (392).

Aunque el efecto de la grasa sobre las lipoproteínas séricas se ha estudiado en profundidad, los datos del efecto de la modificación del tipo de grasa ingerida en el desayuno sobre las subclases de lipoproteínas son bastante escasos. Estudios recientes han examinado si la distribución del tamaño de LDL o la concentración

de LDL pequeñas (LDL-3, LDL-4, LDL-5, LDL-6 y LDL-7) están fuertemente relacionados con las tasas de eventos cardíacos (muerte, infarto de miocardio y revascularización por isquemia refractaria) y enfermedad de las arterias coronarias (228, 390, 393). El tamaño de LDL parece ser un importante predictor de eventos cardiovasculares y progresión de la enfermedad de las arterias coronarias, además, un predominio de LDL pequeñas y densas ha sido aceptado como un factor de riesgo cardiovascular por el NCEP-ATP III (85).

En este estudio, nuestros datos mostraron que los niveles de LDL5 disminuyen significativamente solo con el D2, desayuno rico en AGPI. Trabajos anteriores han descrito una disminución similar de pequeñas partículas densas de LDL tras la suplementación con AGPI (394), pero también es importante recordar que otros nutrientes como los carbohidratos modulan sus niveles plasmáticos (395). Como todos los participantes siguieron el mismo programa dietético, podemos especular que nuestras observaciones se debieron principalmente al tratamiento basado en el cambio del tipo de grasas en el desayuno.

Uno de los parámetros más afectados en las diferentes intervenciones realizadas fue la lipoproteína HDL. De hecho, el único efecto estadísticamente significativo se obtuvo con el desayuno rico en AGPI sobre las lipoproteínas y fue el incremento de las HDL, lo cual se reprodujo también al evaluarse con esta técnica en la que se analizan subfracciones lipoproteicas (lipoprint), así como cuando se evaluó por electroforesis las distintas fracciones lipoproteicas.

En conjunto y considerando los datos obtenidos, los AGPI, especialmente, y los AGMI, como se deduce de las tendencias observadas en las variaciones de los diferentes parámetros analizados en este trabajo, se asociaron a un menor perfil de riesgo coronario, situación que se ha detallado previamente (388, 389). El interés del presente estudio es, en nuestra opinión, que el perfil de lipoproteínas de un paciente se puede mejorar con una simple intervención como la modificación del tipo de grasa del desayuno. Sin embargo, varias limitaciones se deberían comentar en este punto. Por un lado, las tres intervenciones no fueron isocalóricas, tampoco proporcionaron la misma cantidad de grasa. En este sentido, decidimos mantener la ingesta de grasas proporcionada por los sobres monodosis, un formato utilizado por la población general a nivel de restauración y hostelería, aunque en menor grado a nivel doméstico.

Teniendo en cuenta el creciente interés en la utilización de nuevos marcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular a fin de mejorar la evaluación y el seguimiento de ésta, ya que los marcadores disponibles o convencionales muchas veces se indica que carecen de suficiente especificidad, conviene evaluar las lipoproteínas y las apolipoproteínas como marcadores adicionales, ya que muchos autores (396) les atribuyen una mayor especificidad y constituyen una alternativa para medir la ingesta dietética, frente al análisis bioquímico de ácidos grasos en fracciones de lípidos plasmáticos. Las concentraciones de ácidos grasos en sangre o tejidos deben interpretarse con cautela porque como se sabe las grasas saturadas y monoinsaturadas se pueden sintetizar de forma endógena; por lo tanto, estas medidas pueden no reflejar la ingesta. Además, la composición de los AG en los tejidos puede verse afectada por factores genéticos, hormonales y de estilo de vida (396).

5.2.2 Efecto en los parámetros bioquímicos asociados al riesgo cardiovascular de los tres tipos de desayunos

Existen diversos parámetros asociados al riesgo cardiovascular, dentro de los cuales vienen tomado especial relevancia los parámetros relacionados con el estado oxidativo e inflamatorio. La evidencia reciente respalda un papel clave de la oxidación y la inflamación en todas las etapas del desarrollo de la aterosclerosis (397.). Los marcadores circulantes de inflamación, como la proteína C reactiva (PCR), el factor de necrosis tumoral- α y algunas interleuquinas (IL-6 e IL-1), se asocian con un alto riesgo de eventos cardiovasculares (398). Existe una creciente evidencia de que la influencia de la dieta en las enfermedades cardiovasculares (ECV) está mediada por mecanismos que incluyen la inflamación subclínica (399).

En base a ello en el presente trabajo se analiza el efecto del tipo de grasa ingerida en el desayuno sobre parámetros bioquímicos asociados al riesgo cardiovascular, y entre ellos, la homocisteína y los siguientes biomarcadores de estrés oxidativo e inflamatorio.

En la tabla 36 se muestran las diferencias pre / post dentro de cada tipo de desayuno, sobre los siguientes parámetros bioquímicos asociados al riesgo cardiovascular: homocisteína, antioxidantes totales (TAS), LDL-ox y Proteína C

reactiva. Así mismo se observa la comparación con los valores referencia respectivos de cada parámetro.

Tabla 36. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de parámetros bioquímicos relacionados con riesgo cardiovascular dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Homocisteína (umol/L)	10,44 (9,44-11,43)	10,09 (8,65-11,52)	9,54 (8,53-10,54)	11,05* (9,60-12,49)	8,42 (7,41-9,43)	7,64* (6,14-9,15)	4,0-15,0
Antioxidantes totales (mmol/L)	1,76 (1,71-1,82)	1,84* (1,74-1,95)	1,6 (1,54-1,66)	1,78* (1,66-1,89)	1,83 (1,77-1,89)	1,63* (1,52-1,75)	1,16-1,94
LDL-ox (U/L)	210,01• (102,03-317,99)	214,1• (30,05-398,10)	195,34• (87,36-303,32)	211,08• (26,90-395,27)	331,66• (223,69-439,64)	265,31*• (80,51-450,1)	74
PC reactiva (mg/dl)	0,27 (0,13-0,41)	0,33 (0,05-0,61)	0,6 (0,41-0,79)	0,68 (0,30-1,06)	0,49 (0,31-0,68)	0,36 (0,00-0,62)	0-1,0

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{x} (IC 95%). *Diferencia significativa final vs basal ($p < 0,05$); •Diferencias significativa ($p < 0,05$) vs valor de referencia.

Tras el consumo durante un mes de cada tipo de desayuno, se observa que con el desayuno rico en AGS, los antioxidantes totales (TAS) incrementan ($P=0.0019$). Mientras que con el desayuno rico en AGPI, incrementan de manera significativa ($p < 0.05$) tanto la homocisteína como los antioxidantes totales. Sin embargo, con el desayuno rico en AGMI, la Homocisteína, LDL-ox y los antioxidantes totales disminuyen ($p < 0.05$).

No se observaron diferencias significativas en la proteína C-reactiva. Los datos de variaciones pre/post de las intervenciones, revelan que no existe diferencias significativas en PCR ni en LDL-ox entre ninguno de los desayunos de intervención. Aunque se observa con D1 y D2 una tendencia al incremento, mientras que con D3 una tendencia a la disminución, en todos los casos sin alcanzar el nivel de significancia, con la excepción del D3 que sí provoca una bajada en LDL-ox. Al comparar los datos con los valores referencias, se observa que los valores tanto pre como post en los tres tipos de desayuno, son superiores en LDL oxidada.

5.2.2.1 Homocisteína

Varios estudios epidemiológicos han demostrado que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo de arteriosclerosis coronaria, cerebral, periférica y aórtica (400). Este riesgo es independiente de otros factores de riesgo cardiovascular, y es mayor cuanto mayor sea la concentración de homocisteína. Sin embargo, los estudios prospectivos muestran resultados aún contradictorios.

Las voluntarias de nuestro estudio presentan unos valores de homocisteína dentro del rango de normalidad, incluso con el D1 que muestra el mayor nivel basal de homocisteína ($10.44\mu\text{mol/L}$), se ha observado que se encuentra por debajo del valor de referencia $15\mu\text{mol/L}$. Así también, si observó un incremento significativo con D2, el desayuno rico en AGPI, pero a pesar de dicho incremento los valores están dentro del límite de normalidad ($<15\mu\text{mol/L}$), aunque se debe tener en cuenta los incrementos plasmáticos de homocisteína se asocian a procesos de aterosclerosis prematura y a trombosis de origen coronario, cerebral, periférico o venosos (400). Diversos estudios han mostrado en estos últimos años que incluso niveles ligeramente elevados de homocisteína aumentan el riesgo de padecer una ECV. Habiéndose documentado la hiperhomocisteinemia como un factor de riesgo cardiovascular (401).

En la Tabla 36, se observa que con D2 aumenta ($p<0.05$) la concentración sérica de homocisteína, mientras que con D3 disminuye ($p<0.05$).

El aumento de la concentración de homocisteína plasmática puede deberse tanto a alteraciones hereditarias de las enzimas que intervienen en su metabolismo como a otros factores (principalmente dietéticos, como déficit de vitaminas B6, B12 y ácido fólico). El aporte de suplementos de vitamina B6, B12 y ácido fólico se ha demostrado eficaz para disminuir la concentración de homocisteína plasmática (402). Se precisan aún ensayos clínicos que demuestren que la disminución de homocisteína plasmática conlleva una disminución del riesgo de enfermedad cardiovascular.

Cabe resaltar que la muestra poblacional de este trabajo presenta déficit dietético de ácido fólico (Tabla 30), pero no existen datos sobre valores plasmáticos de ácido fólico de las participantes, que se pudieran relacionar con los valores séricos obtenidos de homocisteína.

En la Figura 30, se puede observar la comparación de las variaciones de homocisteína entre los tres tipos de desayunos. Los cambios en los niveles de homocisteína son significativamente diferentes ($p=0.0000$) entre D2 y los desayunos D1 y D3.

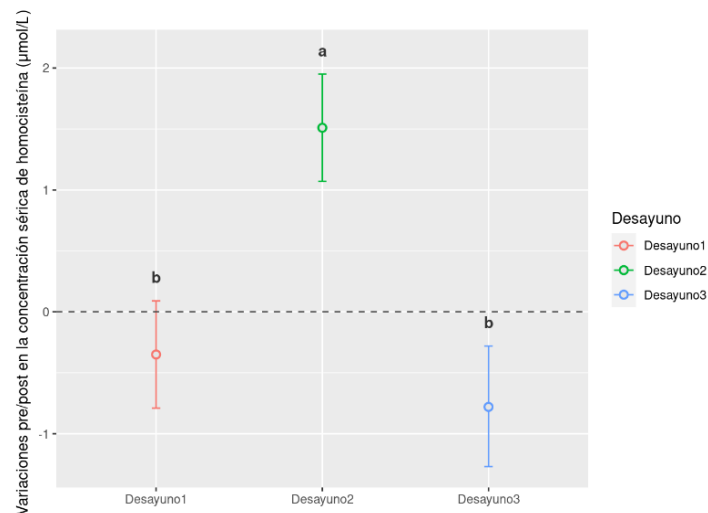


Figura 30. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de homocisteína entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

En el estudio se observa que la ingesta de AGPI se asocia con un incremento de concentraciones de homocisteína, mientras que con la ingesta de AGMI disminuyó este marcador. En un estudio anterior, Berstad y colaboradores (401, examinó los efectos de la grasa dietética en las concentraciones de homocisteína plasmática, encontrando un incremento significativo con la ingesta de AGS y AGPI, una reducción significativa con la ingesta de AGMI de cadena larga, mientras que tuvo un incremento significativo con las grasas totales y los AGMI totales. Los resultados de Berstad y col (401) no coinciden con nuestros resultados, ya que en nuestro trabajo los AGS no modifican la homocisteína y los AGMI totales bajan la homocisteína.

Existen limitados estudios de la asociación entre la homocisteína y la dieta. Uno de estos estudios, con una dieta en base a pescado y ácidos grasos n-3 de cadena muy larga, se han observado que estos últimos pueden reducir la

homocisteína, pero solo en combinación con una ingesta alta de vitamina B (402). Hay menos estudios aún, sobre los otros tipos de grasas alimentarias. Se ha sugerido que una concentración plasmática baja de homocisteína puede estar asociada con el consumo de leche desnatada (403) y una baja ingesta de AGS (404). Por lo tanto, la posible relación entre la ingesta de grasas y la homocisteína plasmática puede explicarse por un vínculo bioquímico entre la homocisteína y el metabolismo de los lípidos (405).

Los estudios epidemiológicos revelan que existe diferencia entre la población de mujeres posmenopáusicas con respecto a las mujeres premenopáusicas, siendo este último grupo el que suele presentar una menor concentración de esta molécula en sangre (406).

Así mismo, se ha indicado que un posible mecanismo por el cual la homocisteína incrementa el riesgo cardiovascular, puede ser por medio del estrés oxidativo, ya que algunos autores sugieren que los altos valores de homocisteína favorecen el estrés oxidativo, dañan la función endotelial e incrementan la oxidación de LDL en plasma (407). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo reforzarían este argumento, ya que el desayuno rico en AGMI disminuye significativamente los niveles de homocisteína y también se observa una tendencia a disminuir los niveles de LDL oxidadas (Tabla 36).

5.2.2.2 *Antioxidantes totales*

Los antioxidantes se han relacionado con la protección cardiaca, aunque aún no está claro el mecanismo. Se relaciona la actividad antioxidante sérica con la resistencia de las LDL a la peroxidación, con la actividad del colesterol HDL y con de la actividad de la paroxonasa sérica. Por tanto, los antioxidantes ejercen un rol cardioprotector como modulador de la agregación plaquetaria, produciendo vaso relajación mediada por óxido nítrico (NO), inhibiendo la proliferación de las células musculares y la hiperplasia de la íntima.

En la Figura 31 se muestra la comparación de las variaciones pre/post en los niveles de TAS entre los tres desayunos, observándose diferencias significativas entre los tres desayunos ($p < 0.05$). El desayuno rico en AGS y el desayuno rico AGPI incrementan significativamente ($p < 0.05$) el estado antioxidante total plasmático, pero este incremento es significativamente superior ($p < 0.0234$), en D2 respecto a D1. Por otro lado, el desayuno rico en AGMI

disminuye significativamente ($p < 0.05$) el estado antioxidante total y esta variación resulta estadísticamente significativa ($p = 0.0000$) respecto a los cambios provocados por D1 y D2.

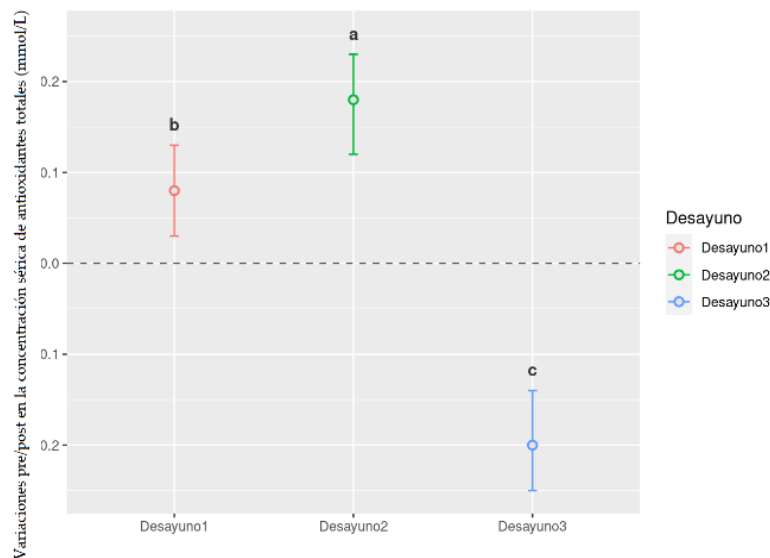


Figura 31. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de estado antioxidante total (TAS) entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Un incremento en los valores TAS, sugerimos que podría tratarse de la respuesta del organismo ante un aumento del estrés oxidativo, para intentar contrarrestar el daño oxidativo que desencadenan niveles altos de LDL oxidadas. Esta situación se corresponde con el efecto observado de los desayunos D1 y D2, con los que se aprecia una tendencia a subir los valores de LDL oxidadas y con los que observamos un incremento significativo ($p < 0.05$) en los niveles séricos de TAS. En concordancia con este razonamiento, observamos en nuestro estudio que con el desayuno rico en AGMI disminuyen significativamente ($p < 0.05$) tanto los niveles de LDL oxidadas como de TAS, y consecuentemente con esta disminución del estrés oxidativo se aprecia una disminución en los niveles de homocisteína.

Algunos autores indican que los cambios en la composición de ácidos grasos del hígado debidos principalmente a los lípidos ingeridos en la dieta del

grupo de AGPI (n-3) pueden mejorar la eficacia del sistema de defensa antioxidante (408). Sin embargo, estudios que coinciden con nuestros resultados, indican que una mayor ingesta dietética de AGPI se considera una estrategia preventiva eficaz, pero a la vez surge una preocupación teórica relacionada con el posible aumento de la peroxidación lipídica inducida por una dieta rica en AGPI (409). Este posible aumento de la peroxidación lipídica inducida por el desayuno D2, rico en AGPI, podría ser el motivo que causa la tendencia observada al incremento en los valores de LDL oxidadas.

El estrés oxidativo, como consecuencia del efecto combinado de diversos factores de riesgo cardiovasculares, como la dislipidemia, la hipertensión y la DM, juega un papel crucial en el proceso de la enfermedad aterogénica, además del envejecimiento general (410). El aumento de especies reactivas de oxígeno conduce a la formación de lipoproteínas oxidadas de baja densidad (LDL). En la actualidad, existe suficiente evidencia (409) que respalda la hipótesis de que LDL-ox son altamente inmunogénicas y aterogénicas.

Varias líneas de evidencia sugieren que la oxidación de las lipoproteínas juega un papel en la aterogénesis. Los estudios basados en la población y los estudios en animales de experimentación sugieren que los antioxidantes reducen la aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares (411).

Las opciones nutricionales, que incluyen ácidos grasos dietéticos, vitaminas y azúcares, tienen un impacto significativo en el desarrollo de los niveles de índice ateromático (412). Existen opiniones controvertidas en la literatura sobre el papel de los diferentes tipos de grasa y su asociación con el índice ateromático. Por lo que la medición de cada ácido graso sería de gran valor para el cribado de trastornos del metabolismo lipídico en el control del índice ateromático.

5.2.2.3 *LDL oxidadas.*

Las LDL oxidadas (LDL-ox) son un factor de riesgo de las enfermedades cardiovasculares, activan los monocitos circulantes, aumentando así su capacidad para infiltrarse en la pared vascular. La acumulación de LDL oxidadas en los macrófagos y células musculares lisas conduce a la formación de células espumosas, características de la aterosclerosis y de inflamación sistémica (413). La LDL oxidada juega un papel primordial en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis, al promover un ambiente inflamatorio y la deposición de lípidos en

la pared arterial (414). La LDL-ox está asociada con afecciones patológicas relacionadas con la ECV, incluida la diabetes mellitus, la obesidad y el síndrome metabólico.

En la Figura 32, se observa la comparación de las variaciones de LDL-ox entre los tres desayunos de la intervención, si bien los D1 y D2 tienden al incremento y con D3 disminuyen, no se evidencia diferencias significativas entre los cambios apreciados con los distintos tratamientos, muy probablemente debido a que los datos muestran unos intervalos de confianza al 95% muy amplios.

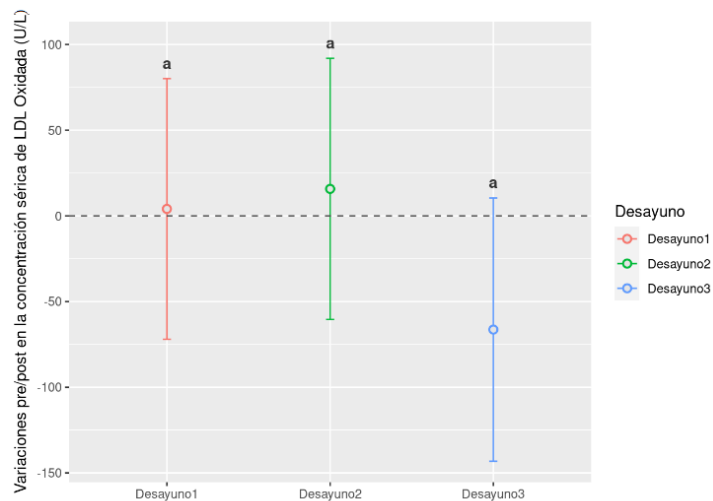


Figura 32. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de LDL oxidadas entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Tras el consumo de cada tipo de grasa en los desayunos de intervención, los niveles de LDL oxidada son 214,07 U/L, 211,08 U/L, 265,31 U/L, respectivamente, observándose superiores a la referencia 74 U/L indicadas en un estudio (355), tanto en condiciones basales como tras la intervención nutricional, aunque no se cuenta con una referencia precisa para adultas mayores con riesgo CV, ya que la relación de la LDL oxidada con los lípidos se ha investigado modestamente. Estos valores elevados se corresponden con una muestra poblacional con riesgo cardiovascular, como se plantea en el diseño del trabajo, pero que además de presentar los factores de riesgo cardiovascular descritos en los criterios de

inclusión del trabajo, con estos resultados de LDL ox, ponen de manifiesto el riesgo cardiovascular presente en los organismos de las voluntarias que fueron seleccionadas para el estudio.

Por otro lado, se sabe que el estrés oxidativo y las concentraciones elevadas de lipoproteínas de baja densidad oxidadas circulantes están relacionados con la enfermedad cardiovascular. Nuestros resultados han mostrado que algunos tipos de grasas incrementan el estado antioxidante total, lo cual resultaría beneficioso y podría atenuar la condición de daño oxidativo que se genera en el organismo que padece riesgo cardiovascular.

Los AGPI son más susceptibles de oxidación, ya que los radicales libres oxidan de preferencia los ácidos grasos poliinsaturados y, los productos oxidados de estos ácidos grasos reaccionarían con la proteína Apo B 100 presente en las LDL (415). Los resultados del estudio revelan que los desayunos con los tipos de grasa saturada y polinsaturada, no tuvieron efecto sobre los niveles de LDL oxidada, es decir la grasa ingerida en el desayuno no es suficiente para modificar los niveles de LDL oxidada, pero sí se ha observado que el desayuno con AGMI produce un descenso de los niveles de LDL-ox, coincidiendo con numerosos trabajos publicados, como los que se muestran a continuación.

Aguilera y colaboradores, indican que una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados previene la modificación oxidativa de las lipoproteínas, más que una rica en ácidos grasos poliinsaturados, y el consumo de aceite de oliva reduce la oxidación de las LDL mediada por los ácidos grasos n-3 en pacientes con patología vascular periférica (418). Por otro lado, Hargrove y colaboradores, indican que una dieta alta en AGMI tiene efectos sobre la resistencia oxidativa de LDL, además diferentes fuentes de AGMI que varían en la proporción de AGMI a AGPI se pueden incorporar a una dieta alta en AGMI sin aumentar la susceptibilidad de LDL a la oxidación (417). Sin embargo, existe una gran controversia en la literatura científica sobre el efecto de los distintos ácidos grasos insaturados en la enfermedad cardiovascular. El tipo de la grasa de la dieta puede afectar directa e indirectamente algunos de los factores mediadores de la respuesta inmune; los ácidos grasos n-3 son potentes agentes antiinflamatorios. Los ácidos grasos de la dieta ocasionan una menor o mayor susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas ejerciendo, por tanto, un gran efecto sobre la

activación de las moléculas de adhesión y otros factores inflamatorios, que estudiamos a continuación.

5.2.2.4 *Proteína C reactiva*

La PCR es inducida como respuesta al daño tisular por infecciones, inflamación o neoplasias. Es sintetizada por hepatocitos y células del endotelio vascular, y su expresión está regulada por citoquinas, particularmente por la IL-6, en menor grado por la IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF) (293). La PCR es un marcador sensible de inflamación de grado bajo, que se ha demostrado que mejora la predicción del riesgo futuro de ECV y diabetes tipo 2 (418). Es considerado un excelente marcador de predicción de SM, RCV y aterosclerosis, así también una estrecha relación con el estrés oxidativo (296).

El papel fundamental de las células inflamatorias, las proteínas y la respuesta inflamatorias a través de las diferentes etapas de la aterosclerosis, incluyendo la iniciación, la progresión y la ruptura de la placa, es bien conocido (298). Estudios epidemiológicos muestran que los niveles séricos de PCR tienen valor predictivo para el desarrollo de síndromes coronarios agudos, eventos vasculares cerebrales, enfermedad arterial periférica y muerte súbita cardíaca (294). Por otro lado, se ha reportado que la obesidad de distribución central parece incrementar aún más los niveles de PCR, debido a que la grasa intra-abdominal es capaz de generar tres veces más IL-6 que la grasa subcutánea, ya que el drenaje venoso de esta grasa fluye directamente hacia el hígado.

En la Figura 33, se muestra la comparación de la variación de la PCR entre los tres desayunos estudiados, y se observa en los desayunos ricos en AGS y AGPI una tendencia al incremento en los niveles séricos de PCR, mientras que el desayuno rico en AGMI muestra una tendencia a la disminución, aunque no muestran significancia estadística estos cambios con ningún tipo de grasas incluidas en los desayunos administrados.

Los niveles de PCR tanto en plasma como sérico, se considera un marcador importante para predecir y cuantificar el RCV, siendo por tanto de utilidad en la consulta de atención primaria, teniendo en cuenta el indicativo de riesgo bajo (< 1 mg/L), riesgo moderado (1-3 mg/L), riesgo alto (> 3 mg/L) (294). En el estudio, se puede observar que los datos tanto basales como tras la intervención de los tres desayunos, siempre se mantuvieron debajo de la referencia de riesgo bajo (<

1mg/L). Por lo que se puede decir que las grasas evaluadas no tuvieron efecto sobre la PCR, además al mantenerse debajo de los niveles de referencia, podríamos deducir que las grasas ingeridas en el desayuno no tienen efectos sobre este parámetro inflamatorio en la población de RCV estudiada. Lo cual podría sumarse a la conclusión de Mazidi y col, que indican que la PCR sérica varía con el colesterol de la dieta, pero no con la ingesta de ácidos grasos en la dieta, aunque precisa que esta conclusión se da en individuos sin antecedentes de ECV (419).

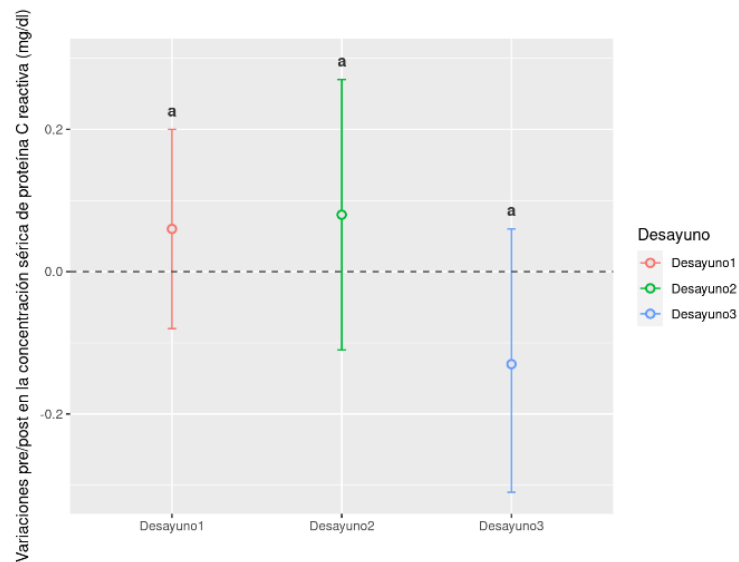


Figura 33. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de proteína C reactiva (PCR) entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Se ha indicado que los AGS son más propensos a almacenarse en el tejido adiposo que los AGMI y, por lo tanto, aumentan el medio inflamatorio de este tejido (420). Los estudios sobre la asociación de ácidos grasos saturados con PCR son contradictorios. Algunos han informado asociaciones positivas entre los ácidos grasos y la PCR (420), mientras que otros no han indicado una asociación significativa. (421). Aclarar esta relación tiene relevancia para las estrategias de salud pública para mejorar la estratificación y reducción del riesgo de ECV.

Un estudio que proporciona evidencia sobre la asociación entre la ingesta de ácidos grasos y los marcadores de inflamación subclínicos, indica que las concentraciones de PCR probablemente estén moduladas por la ingesta dietética de ácidos grasos. Sin embargo, precisa que la causalidad de esta asociación debe demostrarse en ensayos clínicos (422). En otro estudio, encontraron una asociación entre la disminución de los niveles séricos de PCR con la ingesta de AGPI (422). Una revisión sistemática y un metanálisis reciente encontraron que la suplementación con AGPI del tipo omega-3 de origen marino a corto plazo disminuye los biomarcadores inflamatorios sistémicos, entre ello se incluye a la PCR, en diferentes poblaciones (423). Sin embargo, otra revisión sistemática brindó un respaldo débil para la suplementación con ácidos grasos omega-3 para reducir la inflamación crónica, y no informó evidencia convincente que respalde que una baja ingesta de ácidos grasos omega-3 específicos se asocie con un aumento de la inflamación (424).

Las guías dietéticas recomiendan el consumo de AGPI n-3 y n-6, preferentemente ante ácidos grasos saturados y trans; sin embargo, se ha informado que una alta ingesta de AGPI n-6 puede aumentar la inflamación subclínica. Por tanto, la relación entre la PCR y los ácidos grasos n-6 de la dieta (AG n-6) sigue siendo controvertida. Las pautas dietéticas internacionales proporcionan diversas recomendaciones sobre las cantidades y tipos de ácidos grasos para disminuir los marcadores inflamatorios y mejorar la salud cardiovascular (425). Esta falta de consenso puede reflejar la falta de evidencia científica concluyente con respecto a los efectos de la ingesta de ácidos grasos en la dieta sobre los niveles de PCR.

5.2.2.5 *Citoquinas*

Las citoquinas al ser actores clave en el mecanismo inflamatorio y por su contribución a la progresión de varias enfermedades, como la obesidad y resultados relacionados con enfermedades cardiovasculares y daño isquémico (342), caracterizan una inflamación crónica de bajo grado alterada, que puede tener un efecto negativo o un papel específico en la patogenia. Por otro lado, el tejido adiposo tiene la capacidad de liberar, numerosas citoquinas, moléculas proinflamatorias como la interleuquina6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y éstas pueden ser la base de varios de los componentes de la resistencia

a la insulina, de una disfunción endotelial y de un potencial riesgo cardiovascular. Los pacientes obesos presentan infiltración por macrófagos en el tejido adiposo, lo cual puede contribuir al perfil proinflamatorio que presentan (340). Es decir, el incremento de las citoquinas en individuos obesos, están relacionados con la progresión de varios trastornos incluyendo enfermedad cardiovascular, hipertensión, y resistencia a la insulina (341).

Cuando se evaluaron las citoquinas, en situación basal (pre) y tras el periodo de intervención nutricional (post), en los tres desayunos (Tabla 37), se observa que el D1 tuvo la capacidad de reducir citoquinas proinflamatorias como son IL2 ($p=0.0077$), IL8 ($p=0.0086$) y TNFA ($p=0.0029$), citoquinas antiinflamatorias como son IL4($p=0.0000$) e IL10 ($p=0.0000$), y citoquinas inmunosupresoras, como el EGF ($p=0.0000$). Con el desayuno rico en AGPI(D2) disminuyen también citoquinas proinflamatorias como son IL2 ($p=0.0062$), IL6 ($p=0.0271$) e IL1B ($p=0.0195$), citoquinas antiinflamatorias como son IL4 ($p=0.0000$), IL10 ($p=0.0000$), sin que provoque alteración en los niveles de citoquinas inmunosupresoras. Por otro lado, con el desayuno rico en AGMI (D3) se incrementan los niveles de citoquinas proinflamatorias como son IL2 ($p=0.0000$), IL8 ($p=0.0003$) y TNFA ($p=0.0000$), de IL4 ($p=0.0000$) como citoquinas antiinflamatorias, y de las citoquinas inmunosupresoras EGF ($p=0.0000$). Las citoquinas IL1A, IFNG, VEGF y MCP1 no evidenciaron diferencias significativas con ninguna de las intervenciones.

Al comparar con los valores de referencia, se puede observar que algunas citoquinas proinflamatorias (IL2, IL6) se encontraban por debajo de las referencias, mientras que algunas inmunosupresoras (VEGF, MCP1, EGF) se encuentran por encima del rango de referencia. Todas las citoquinas antiinflamatorias se encontraban dentro de su rango en todas las intervenciones tanto pre como post.

En las Figuras 34, 35 y 36 se comparan las variaciones en los niveles de citoquinas, producidas por las diferentes intervenciones del estudio. Con el desayuno D3, rico en AGMI, se observan incrementos, de las citoquinas IL2, IL4, IL8, IL10, TNF y EGF. Estas variaciones son diferentes ($p<0.05$) respecto a las observadas con D1 y D2, que provocan bajadas en los niveles de ciertas citoquinas, no existiendo diferencia significativa entre las reducciones producidas por D1 y D2. Curiosamente, se observan diferencias significativas ($P=0.0041$) entre

D2 y D3, en los efectos de la citoquina IL6, que se reduce con D2 y muestra una tendencia al aumento con D3.

Tabla 37. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de citoquinas dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Citoquinas	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Proinflamatorias							
IL1A (pg/ml)	0,06 (0,03-0,10)	0,04 (-0,02-0,12)	0,06 (0,02-0,09)	0,08 (0,00-0,14)	0,17 (0,13-0,20)	0,19 (0,12-0,26)	1.4
IL1B (pg/ml)	0,51 (0,37-0,66)	0,47 (0,27-0,68)	0,44 (0,29-0,58)	0,36* (0,15-0,57)	0,61 (0,46-0,75)	0,63 (0,41-0,84)	3.2
IL2 (pg/ml)	0,65• (0,43-0,87)	0,43*• (0,05-0,81)	0,58• (0,36-0,80)	0,36*• (-0,03-0,74)	1,63 (1,41-1,86)	2,08* (1,67-2,51)	1.1-9.8
IL6 (pg/ml)	1,10• (0,71-1,50)	1,01• (0,27-1,75)	1,08• (0,68-1,47)	0,69*• (-0,05-1,43)	2,21 (1,80-2,62)	2,53 (1,73-3,33)	1.7-16.6
IL8 (pg/ml)	9,74 (7,26-12,21)	7,47* (3,30-11,63)	8,42 (5,93-10,91)	6,72 (2,50-10,93)	17,66 (15,11-20,20)	21,35* (16,79-25,90)	29,3 (24,4±35,9)
TNF α (pg/ml)	1,37 (1,12-1,62)	1,11* (0,69-1,53)	1,26 (1,01-1,51)	1,09 (0,67-1,52)	3,37 (3,11-3,63)	4,00* (3,50-4,50)	0.1-5.2
Antiinflamatoria							
IL4 (pg/ml)	0,73 (-0,32-1,78)	0,13* (-1,07-1,32)	0,59 (-0,46-1,65)	-0,02* (-1,22-1,19)	2,43 (1,34-3,53)	2,9* (1,64-4,16)	0.1-3.0
IL10(pg/ml)	0,40 (-0,11-0,91)	0,12* (-0,52-0,76)	0,79 (0,28-1,31)	0,49* (-0,15-1,14)	1,11 (0,57-1,64)	1,09 (0,41-1,77)	2.6-4.9
Inmunosupresoras							
IFNG (pg/ml)	1,43 (0,96-1,90)	1,14 (0,26-2,03)	1,06 (0,59-1,53)	0,94• (0,04-1,83)	2,61 (2,13-3,10)	3,00 (2,03-3,98)	1.6-17.3
VEGF (pg/ml)	102,36• (69,97-134,75)	95,38• (45,34-145,43)	96,88• (64,34-129,43)	95,06• (44,80-145,34)	176,63• (143,66-209,60)	175,24• (122,12-228,36)	61.6 (32±118.9)
MCP1 (pg/ml)	186,49• (152,79-220,20)	181,34• (130,54-232,16)	178,89• (145,01-212,77)	182,48• (131,40-233,56)	276,51• (242,16-310,85)	278,83• (224,80-332,84)	41,5 (20.1±78.9)
EGF (pg/ml)	35,11• (27,72-42,50)	16,22* (4,51-27,93)	26,69• (19,27-34,11)	24,19• (12,24-36,14)	47,23• (39,71-54,74)	67,56*• (54,99-80,11)	17.9

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{X} (IC 95%). *Diferencia significativa final vs basal ($p < 0,05$); •Diferencias significativa ($p < 0,05$) vs valor de referencia.

Respecto a los cambios que provocan los tres tipos de desayuno en los niveles de la citoquina inmunosupresora EGF, se aprecian diferencias significativas en estos cambios ya que con el desayuno rico en AGS bajan los niveles, con el desayuno rico en AGMI se incrementan los valores de EGF y con el D2 se muestra una tendencia a la bajada de esta citoquina, sin ser significativa.

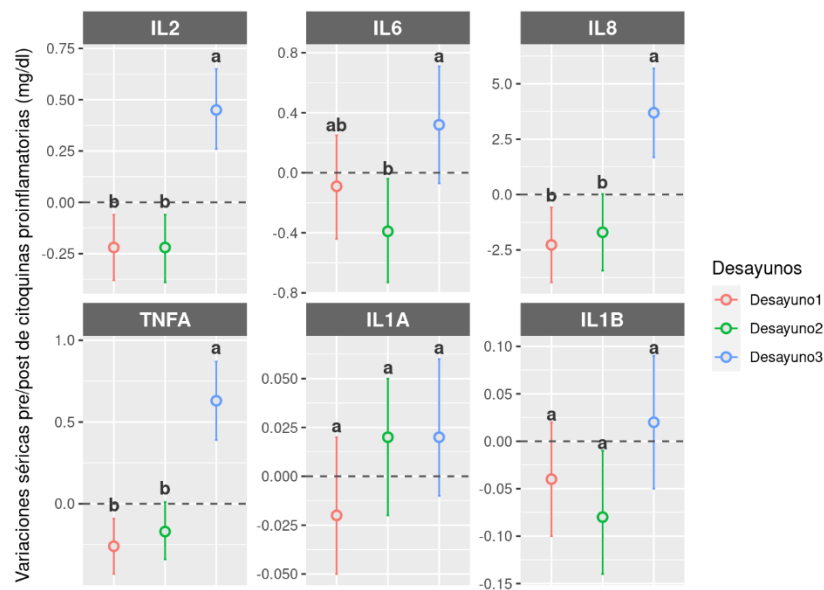


Figura 34. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de citoquinas proinflamatorias entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos

En el presente estudio si bien no todos los parámetros de inflamación se modificaron significativamente, ciertos cambios permitieron confirmar la capacidad de la intervención para modificar el perfil inflamatorio de la muestra poblacional. Como se ha indicado previamente, la inflamación puede ser fundamental en el origen de la aterosclerosis, y los marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR), la interleuquina (IL) -6 y el factor de necrosis tumoral (TNF- α) son factores de riesgo independientes de ECV (426). En nuestro estudio, el desayuno rico en AGPI tuvo la capacidad de reducir tres citoquinas proinflamatorias, dentro de estas las IL-6 y una tendencia a la reducción de TNF, pero también disminuyeron citoquinas antiinflamatorias como IL-4 e IL-10. Solo unos pocos estudios han investigado los efectos de la ingesta de AGPI,

especialmente n-3 sobre niveles plasmáticos de la IL-6 y el TNF α en humanos *in vivo*, pero estos han sido pequeños e inconsistentes (427). Una revisión sistemática y un metanálisis reciente encontraron que la suplementación con omega-3 de origen marino a corto plazo disminuye los biomarcadores inflamatorios sistémicos, incluidos la PCR, la IL-6 y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) en diferentes poblaciones (428). Como los AGPI contenidos en la margarina son de la serie n6, nuestros resultados no concuerdan totalmente con los estudios referidos anteriormente (429, 428)

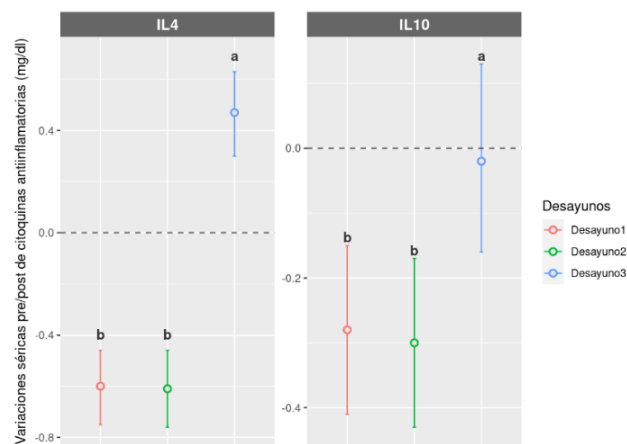


Figura 35. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de citoquinas antiinflamatorias entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Se sabe que los ácidos grasos poliinsaturados se asocian con niveles bajos de inflamación, por tanto, la inhibición de las citoquinas inflamatorias puede ser un posible mecanismo de los efectos beneficiosos observados de estos ácidos grasos en las enfermedades crónicas relacionadas con la inflamación (428). Los AGPI, concretamente la familia n-6, también se han relacionado con una disminución de marcadores proinflamatorios como IL-6, TNF α y VCAM-1 (428); sin embargo, existe cierta controversia al respecto, ya que otros estudios han encontrado lo contrario (429). Caiyan y colaboradores (430) observa que una proporción baja de AGPI n-6/n-3 mejora la inflamación y la lesión por reperfusión isquémica del miocardio. Algunas de ellas se han podido contrastar en el presente trabajo, respecto al efecto de los AGPI (Tabla 37).

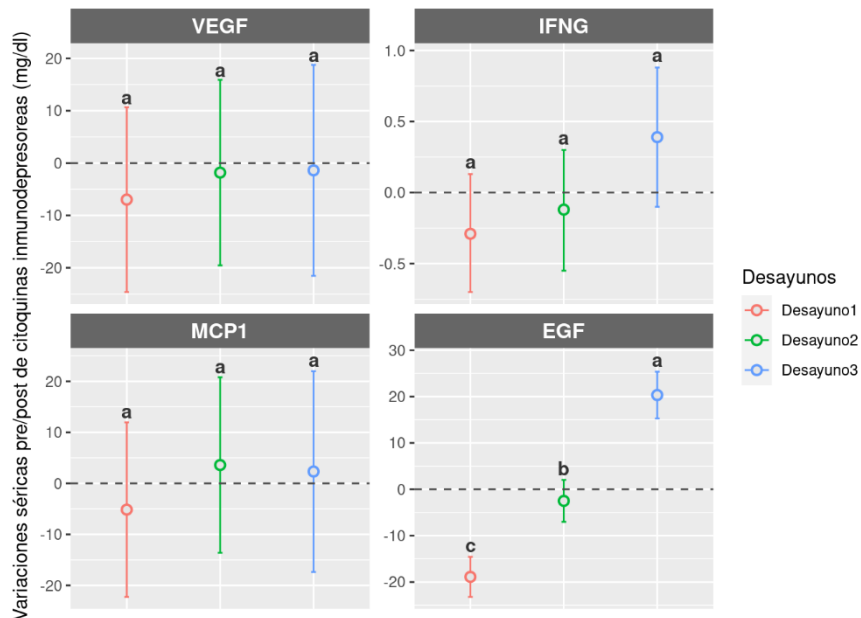


Figura 36. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de citoquinas inmunosupresoras entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Por otro lado, James y colaboradores (431) han descrito que el DHA tiene capacidad antiinflamatoria mediante inhibición de hasta el 90% de las citoquinas, principalmente $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, IL-1 β e IL-8. De forma similar, el ácido γ -linolénico (GLA) disminuye la cantidad de citoquinas proinflamatorias. Además, de la producción de citoquinas proinflamatorias hay otras vías de la inflamación que pueden ser modificadas por la dieta, como la sobreproducción de mensajeros proinflamatorios como la prostaglandina E2 y la infraproducción de mensajeros antiinflamatorios como las prostaglandinas E1 y E3. También, los AGPI ω -3 inhiben la formación de prostaglandina E2 y favorecen la síntesis de la prostaglandina E3. El GLA induce la síntesis de la prostaglandina E1 antiinflamatoria (432).

Otro estudio previo, similar al presente estudio, con un tiempo de intervención de un mes, muestra cómo una dieta rica en grasas no saludables (grasas *trans* y grasas saturadas) genera una significativamente mayor producción de IL-6 y $\text{TNF}\alpha$ que una dieta rica en grasas poliinsaturadas n-6 (433). Otro

estudio más reciente, observa que el consumo a largo plazo de una dieta saludable caracterizada por un alto contenido de AGMI se asocia con una reducción del ARNm de $\text{TFN}\alpha$ y metaloproteinasa-9, que se describió como una atenuación del estado inflamatorio posprandial (434). Por otro lado, se observan otros trabajos, en el que se evalúa una comida de prueba rica en grasas y no produjeron ningún cambio en la síntesis de PCR, IL6 o $\text{TNF}\alpha_{22}$, debido quizás al corto plazo de intervención (435). Asimismo, otro estudio con una intervención realizada durante 15 días con ácidos grasos tanto n-3 como n-6, tampoco observó ningún efecto sobre la síntesis de IL-8 o $\text{TNF}\alpha_{23}$ (436).

A diversos factores se pueden deber la falta de efecto de estos estudios. Por un lado, el tipo y cantidad de grasa es un factor que puede afectar, ya que estudios con dosis bajas de grasas, pueden no ser suficientes para producir un cambio en la respuesta inflamatoria. Por otro lado, la duración de la intervención también es clave ya que los estudios en los que se realizó una comida de prueba o estudios a corto plazo (menos de 30 días) tampoco podrían ser suficientes para producir un efecto estadísticamente significativo.

Respecto al desayuno rico en AGMI, se observa que incrementaron algunas citoquinas proinflamatorias como la IL2, IL8 y TNF, observándose también una tendencia al incremento de la IL6, sin embargo, se observa también un incremento de una citoquina antiinflamatoria, IL4, por lo que no sería posible argumentar que, enriquecer el desayuno con AGMI puede producir un perfil antiinflamatorio, ya que los resultados se contraponen. Estudios clínicos previos en los que la grasa de la dieta entera fue modificada por AGMI a base de aceite de oliva extra virgen, han mostrado resultados diferentes a los del presente trabajo, ya que los resultados muestran una reducción de IL6 y PCR, aunque en estos estudios una reducción de otros marcadores de inflamación, como VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina, también fueron observados (437). Estos efectos podrían estar mediados por una reducción de la actividad de $\text{NF}\kappa\text{B}$ posprandial, como describen Cruz-Teno et al. en una prueba de 12 semanas con una dieta alta en AGMI (434). Sin embargo, también es importante comentar que otros estudios no han observado ningún efecto significativo de los AGMI sobre los factores inflamatorios y trombogénicos en ayunas (438). Es importante recordar que la variabilidad intraindividual en la respuesta lipémica posprandial es baja y, además, que la situación clínica, por ejemplo, la presencia de síndrome metabólico determina la

respuesta posprandial de los marcadores inflamatorios en mayor medida que la calidad o cantidad. de grasas alimentarias (438).

El efecto de AGMI no fue beneficioso con respecto a los parámetros inflamatorios (Tabla 33). Sin embargo, mientras que los niveles de VEGF tuvieron tendencia a la reducción, los niveles de EGF en plasma también aumentaron significativamente al final de la intervención (Tabla 35). Ambos factores son importantes en la vasculogénesis y la angiogénesis y, además, se ha demostrado que son importantes para la patogenia vascular (439). Por lo tanto, el efecto general de este desayuno rico en AGMI sobre estos factores no está claro y se deben realizar más estudios para aclarar este problema. En la bibliografía revisada, hay datos limitados sobre estudios de intervención humana similares a los del presente trabajo; sin embargo, los estudios *in vitro* y en animales han observado una reducción tanto de los niveles de EGF (440) pero con AGPI.

En cuanto al efecto del desayuno rico en AGS sobre los marcadores inflamatorios, se observaron reducciones de tres citoquinas inflamatorias (IL2, IL8, TNF) y de las citoquinas antiinflamatorias, lo que se contradice parcialmente con estudios previos que han mostrado un aumento en la síntesis de factores proinflamatorios con este tipo de ácidos grasos (441). Quizás, el efecto de las grasas saturadas sobre el desarrollo de la obesidad y las enfermedades cardiovasculares esté relacionado en mayor medida con el metabolismo lipídico que con la respuesta inflamatoria, como ya describimos (391). A pesar de que las concentraciones séricas de PCR y citoquinas proinflamatorias, incluida la interleuquina 6 (IL-6), se relacionan con un mayor riesgo de ECV (135).

Existen varios informes de asociaciones entre factores dietéticos y el nivel de biomarcadores inflamatorios (421). El patrón dietético y el genotipo pueden interactuar para determinar la concentración plasmática de marcadores (442). Sin embargo, considerando el diseño del presente estudio, se puede excluir parcialmente la influencia de ambos factores, por lo que se puede afirmar que los datos obtenidos se obtienen como consecuencia de la intervención realizada.

Así mismo, en su conjunto, y teniendo en cuenta los datos expuestos aquí de parámetros inflamatorios y los parámetros relacionados con riesgo cardiovascular, aportados anteriormente, se sugiere que los AGPI administrados durante el desayuno podrían ser beneficiosos para reducir la incidencia de enfermedades cardiovasculares en mujeres adultas con riesgo cardiovascular.

5.2.3 Efecto en los parámetros bioquímicos relativos al metabolismo nitrogenado de los tres tipos de desayunos

Algunos autores indican que es poco probable que la función renal esté asociada con la ingesta de algunos lípidos, como los AGPI (443). Sin embargo, otros estudios indican que los AGPI, contribuyen a preservar la salud renal (444).

Tras un mes de intervención, se observan en la Tabla 38 los efectos de cada uno de los desayunos sobre marcadores bioquímicos del metabolismo nitrogenado. No existe diferencia en los niveles de urea y albumina con ninguna intervención realizada en nuestro trabajo. Sin embargo, se aprecia que D1 tuvo la capacidad de reducir el ácido úrico ($p=0,0047$) y la creatinina ($p=0,0000$), e incrementar la actividad de las proteínas enzimáticas GOT ($p=0.0142$) y GTP($p=0.0131$). Mientras que con D3 se observa un descenso ($p=0.0006$) de la concentración sérica de las proteínas totales. Con D2 no se observó ningún cambio significativo. Por otro lado, al comparar los valores basales y finales con las referencias, se observan que todos los marcadores se encuentran dentro del rango de normalidad.

Al evaluar el efecto de los desayunos de la intervención sobre el metabolismo nitrogenado, se observa en la Figura 37, que no hay diferencias significativas entre las variaciones de las medias de urea, ácido úrico, albúmina, GOT y GPT. Sin embargo, se observa un efecto sobre la creatinina y las proteínas totales. D1 muestra diferencia significativa ($P<0.05$) en los cambios observados de los niveles de creatinina respecto a D2 y D3, pero no se observa diferencia entre D2 y D3. Mientras que el D3 muestra diferencias ($p<0.05$) en los cambios observados en las concentraciones séricas de proteínas totales, respecto a D1 y D2, no habiendo diferencia entre D1 y D2.

Las investigaciones respecto a intervención dietética lipídica sobre los marcadores del metabolismo renal, son muy escasas, y los limitados estudios se han realizado en roedores, como uno en el que se investigaron los efectos de diferentes tipos de grasas dietéticas (mantequilla, manteca y margarina) sobre algunos parámetros bioquímicos (perfil lipídico, marcadores de función renal) e histológicos y se evaluó la expresión génica de genes relacionados con la lipogénesis en ratas, donde se observó que los cambios se dieron en dietas de fracción sólida de aceite y manteca, no evidenciando cambios en la mantequilla ni

margarina (445). En nuestro estudio, solo muestra efecto la mantequilla como fuente de grasa saturada, administrada durante el desayuno, sobre varios parámetros de función renal, mientras que la margarina no produjo ningún cambio en los niveles de estos parámetros y el efecto del aceite de oliva virgen extra se reduce al observado en un solo parámetro del metabolismo nitrogenado, la concentración sérica de proteínas totales.

Tabla 38. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo nitrogenado dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Urea (mg/dl)	35,96 (32,64-39,28)	34,76 (29,63-39,89)	36,75 (33,39-40,12)	35,24 (30,01-40,48)	35,91 (32,51-39,30)	37,06 (31,64-42,47)	10,00-50,00
Ácido úrico (mg/dl)	4,20 (3,92-4,49)	4,04* (3,64-4,44)	4,14 (3,85-4,43)	4,09 (3,68-4,49)	4,15 (3,85-4,44)	4,17 (3,74-4,59)	2,40-5,70
Creatinina (mg/dl)	0,77 (0,73-0,81)	0,73* (0,67-0,79)	0,75 (0,71-0,80)	0,74 (0,68-0,81)	0,77 (0,73-0,82)	0,76 (0,70-0,82)	0,50-1,10
Proteínas totales (g/dl)	7,42 (7,31-7,53)	7,37 (7,27-7,66)	7,40 (7,28-7,51)	7,42 (7,22-7,62)	7,51 (7,40-7,62)	7,34* (7,14-7,55)	6,60-8,70
Albúmina (g/dl)	4,50 (4,44-4,56)	4,51 (4,41-4,62)	4,52 (4,46-4,58)	4,52 (4,41-4,63)	4,49 (4,43-4,55)	4,46 (4,35-4,58)	3,50-5,00
GOT (U/L)	19,76 (18,45-21,07)	21,32* (18,66-23,87)	20,86 (19,53-22,18)	20,41 (18,69-23,92)	19,97 (18,63-21,31)	21,07 (18,34-23,08)	<31
GPT (U/L)	14,88 (13,00-16,76)	18,81* (13,83-23,79)	16,61 (14,69-18,53)	17,76 (12,64-22,88)	15,78 (13,83-17,72)	19,13 (13,72-24,53)	<31

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{X} (IC 95%). *Diferencia significativa final vs basal ($p < 0,05$); •Diferencias significativa ($p < 0,05$) vs valor de referencia.

Otras investigaciones basadas en la adherencia a la dieta mediterránea (frutas y frutos secos, verduras, legumbres, cereales, pescado, carne, productos lácteos y proporción de ácidos grasos monoinsaturados a saturados) observan que tiene efectos favorables en la prevención de la disfunción renal (446).

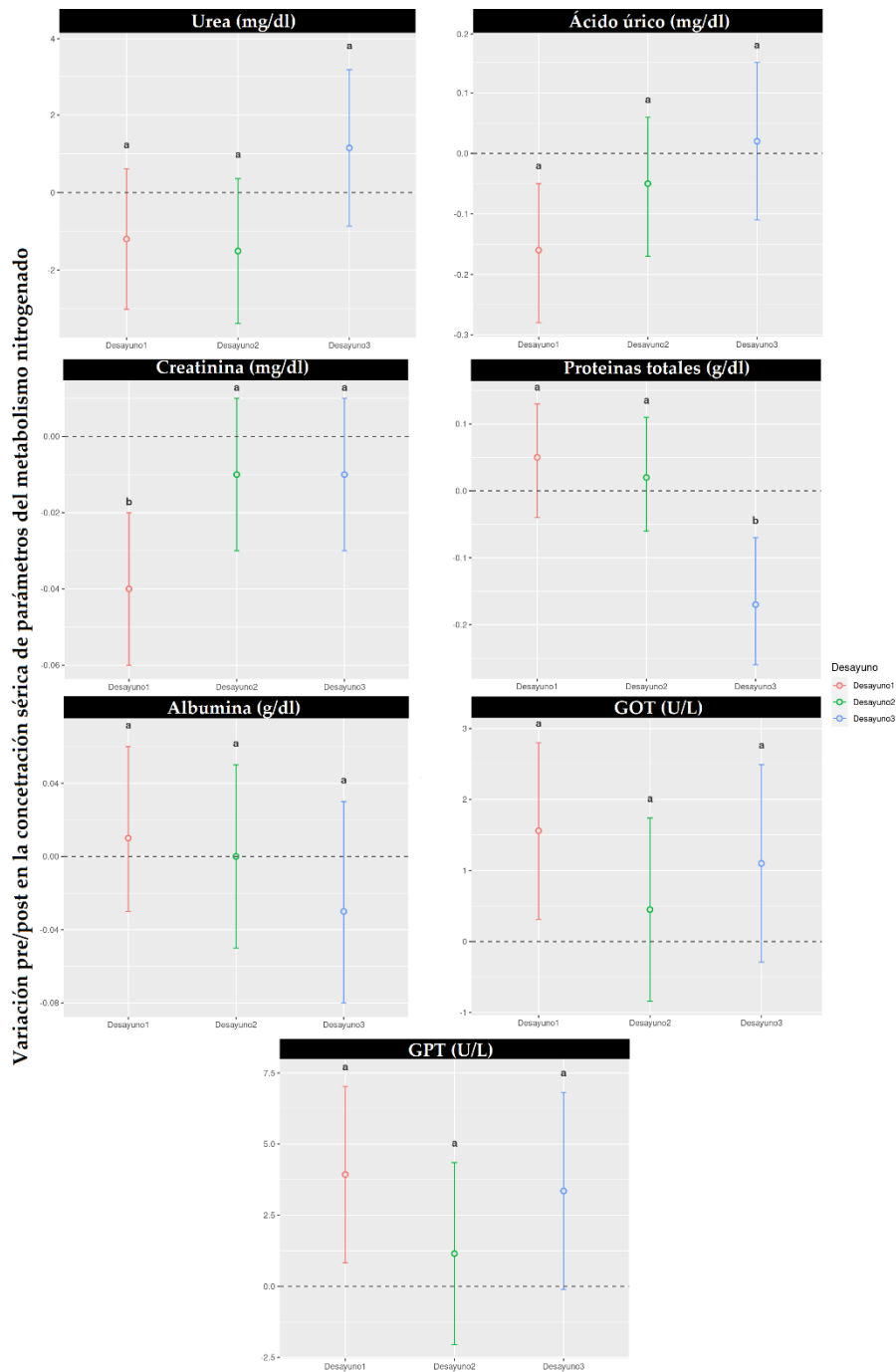


Figura 37. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo nitrogenado entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

Aunque otros estudios discrepan, ya que los resultados no apoyan la idea de que dieta mediterránea tenga un efecto beneficioso sobre la función renal más allá del consejo para una dieta baja en grasas en personas mayores con alto riesgo cardiovascular (447).

El ácido úrico se ha propuesto como factor de riesgo independiente de enfermedades cardiovasculares (448), además de su implicación en la oxidación de LDL y la generación de un estado oxidativo en condiciones de hiperuricemia (7 mg/dl (449,450)). Por otro lado, también se ha reportado que los niveles elevados de ácido úrico en suero se asocian con disfunción diastólica en pacientes con miocardiopatía dilatada (450). El ácido úrico es un predictor positivo de la aparición de LDL pequeñas y densas, más susceptibles a la oxidación (451). Además, la concentración de ácido úrico superior a 4 mg/dl parece tener un efecto redox pro-oxidante (452), además de su síntesis puede conducir a la generación de radicales aniónicos superóxido, hidroxilo y peróxido de hidrógeno (453). Los resultados reportados por otros autores sugieren el papel del ácido úrico en la relación entre el estrés oxidativo y las enfermedades cardiovasculares, mientras que el hallazgo de este estudio sólo ha reportado efecto por los AGS, disminuyendo los niveles de ácido úrico, sin embargo, todos los valores se encuentran por encima de 4 mg/dl, por lo que podrían ejercer un efecto prooxidante, coincidiendo así con el carácter prooxidante de las grasas saturadas, descrito en la literatura.

La presencia de enfermedad renal está incluida como un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular en el más reciente informe del Joint National Committee on Prevention, Detection and Treatment of High Blood pressure (JNC VII) (454) y en definiciones de la American Heart Association. De hecho, es muy superior el porcentaje de pacientes con enfermedad renal crónica que en el seguimiento fallecen de complicaciones cardiovasculares que los que progresan a tratamiento sustitutivo renal. Algunos estudios (455) demuestran que los pacientes con creatinina plasmática de 1,3 a 1,4mg/dl, respecto a los que tenían función renal normal, tienen una incidencia significativamente aumentada de eventos cardiovasculares primarios y mortalidad cardiovascular y total, lo que confiere a la insuficiencia renal crónica moderada la categoría de factor de riesgo cardiovascular. La relación entre enfermedad renal crónica y enfermedad vascular es patente y creciente a medida que progresa el deterioro de la función

renal, hasta el punto de que la mortalidad cardiovascular de los pacientes en diálisis es 500 veces superior a la de la población con función renal normal. Ya el estudio de Framingham demostró que la insuficiencia renal leve (creatinina: 1,4–3mg/dl) se asociaba a un mayor riesgo vascular (456). Las voluntarias del presente estudio no padecían de enfermedad renal crónica y sus niveles de creatinina se observaron dentro de su rango recomendado, a pesar de que con los AGS disminuyó.

Las transaminasas, GOT y GPT, son utilizadas como marcadores del daño renal. Son enzimas que catalizan reacciones de transaminación, siendo la más específica del hígado la GPT. Generalmente, los procesos inflamatorios y el aumento del remodelado hepático que se asocian a diversas patologías que pueden aumentar los valores de la GOT y GPT. Las voluntarias del presente estudio presentaron unos niveles de transaminasas que podemos considerar dentro de la normalidad, sin embargo, se pudo observar el efecto de un desayuno de intervención. Los AGS tuvieron la capacidad de reducir los niveles de las dos transaminasas, tras un mes de intervención. Por los resultados obtenidos se podría afirmar que la población de estudio no muestra daño renal asociado a los parámetros analizados.

5.2.4 Efecto en la glucemia y niveles sanguíneos de electrolitos de los tres tipos de desayunos

Las alteraciones de glucosa implican una mayor coexistencia de factores de riesgo de enfermedad coronaria y diabetes.

Respecto a los niveles de electrolitos en sangre, es ampliamente conocido que el exceso de sodio tiene un rol dañino y es determinante en el aumento progresivo de la incidencia de la hipertensión arterial y aumento de la misma, sin embargo, la disminución de sodio sérico en pacientes con insuficiencia cardíaca se asocia a mayor mortalidad, existiendo pocos datos acerca de si su corrección se traduce en mejoría de la supervivencia (457).

Por otro lado, el potasio, es un electrolito esencial para el organismo. De hecho, el funcionamiento de los músculos, incluido el corazón, depende de la concentración de potasio. Por eso, cualquier alteración puede dar lugar a complicaciones graves como cambios en el ritmo del corazón, pudiendo

desencadenar episodios de fibrilación auricular y, en los casos más graves, incluso causar la muerte súbita.

Tras un mes de intervención con cada uno de los tres tipos de desayuno, en la Tabla 39, se observan los resultados pre/post de los parámetros de la glucemia y electrolitos sanguíneos. Sólo se observa efecto sobre los niveles de glucosa, en los tres tipos de desayuno, con D1 aumenta ($p=0.0121$) y disminuye con D2 ($p=0.0410$) y D3 ($p=0.0005$). Mientras que el Sodio, Potasio y Cloro, no muestran diferencias con ninguno de los desayunos de intervención.

La relación entre la grasa en la dieta y el metabolismo de la glucosa se ha reconocido desde hace más de 60 años. La grasa dietética es de particular interés porque los ácidos grasos influyen en el metabolismo de la glucosa al alterar la función de la membrana celular, la actividad enzimática, la señalización de la insulina y la expresión génica. La evidencia sugiere que reemplazar las grasas saturadas y los ácidos grasos *trans* por grasas insaturadas (poliinsaturadas y / o monoinsaturadas) tiene efectos beneficiosos sobre la sensibilidad a la insulina y es probable que reduzca el riesgo de diabetes tipo 2 (82).

Tabla 39. Comparación de los valores basales y finales de las concentraciones séricas de glucosa y electrolitos dentro de cada tipo de desayuno y respecto a los valores de referencia

Parámetros	D1		D2		D3		Valor referencia
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final	
Glucosa (mg/dl)	93,84 (90,58-97,10)	96,24* (91,11-101,38)	97,25 (93,94-100,56)	95,25* (90,02-100,48)	97,28 (93,94-100,62)	93,61* (88,20-99,02)	60-110
Sodio (mEq/L)	141,64 (141,22-142,06)	141,35 (140,52-142,19)	140,99 (140,56-141,42)	140,75 (140,38-142,08)	141,14 (140,70-141,57)	141,11 (140,22-141,99)	135-150
Potasio (mEq/L)	4,53 (4,42-4,64)	4,48 (4,30-4,66)	4,46 (4,35-4,57)	4,44 (4,26-4,63)	4,48 (4,37-4,59)	4,41 (4,22-4,60)	3-5
Cloro (mEq/L)	104,14 (103,58-104,70)	103,83 (102,78-104,89)	104,03 (103,46-104,60)	104,43 (103,35-105,51)	103,58 (103,00-104,16)	103,76 (102,64-104,88)	90-120

Los valores se expresan como media y el intervalo de confianza al 95%: \bar{x} (IC 95%).

*Diferencia significativa final vs basal ($p<0,05$); •Diferencias significativa ($p<0,05$) vs valor de referencia.

Hay que tener en cuenta que, en pacientes obesos, con riesgo cardiovascular, los elevados niveles de glucosa se convierten en grasa, por lo cual no resulta favorable los incrementos de glucosa.

Al comparar las variaciones en los tres desayunos (Figura 38), se observa que D1, el desayuno que contiene AGS provoca un incremento de la glucosa ($P < 0.05$), siendo esta variación significativamente diferente respecto a las observadas con los tratamientos D2 y D3, desayunos que contiene AGPI y AGMI respectivamente. No se observan diferencias entre las variaciones de glucosa entre D2 y D3, desayunos que contienen AGPI y AGMI, respectivamente. Por otro, no se observó diferencia al comparar los incrementos de sodio y potasio. Sin embargo, se observó diferencias entre los incrementos de Cloro entre D1 y D2 ($p = 0.0406$) ya que con las grasas saturadas del desayuno se aprecia una tendencia a la disminución en los niveles de cloro, muy distinta a la tendencia a incrementar estos niveles séricos de cloro que se observa tras la administración del desayuno rico en grasas polinsaturadas a través de la margarina.

Un metaanálisis evidencia efectos favorables más consistentes con AGPI en comparación con los carbohidratos, AGS o AGMI, ya que se relacionó con una mejor glucemia, resistencia a la insulina y capacidad de secreción de insulina. El reemplazo de AGS con AGPI, se relacionó con una disminución en los niveles de glucosa en ayunas, una menor HbA1c (hemoglobina glicosilada), mejor HOMA-IR (resistencia a la insulina) y una mejor capacidad de secreción de insulina. Curiosamente, la capacidad de secreción de insulina también mejoró cuando el AGPI reemplazó al AGMI. En comparación, el consumo de AGMI no pareció influir significativamente en la glucosa en ayunas, en comparación con otros macronutrientes; pero se observó que reducía la HbA1c en comparación con los carbohidratos o el SFA (458). En el presente estudio, se observa un aumento significativo de los niveles de glucosa con AGS y se observa que disminuye con los AGPI y AGMI, siendo consistente en este parámetro con los resultados del metaanálisis.

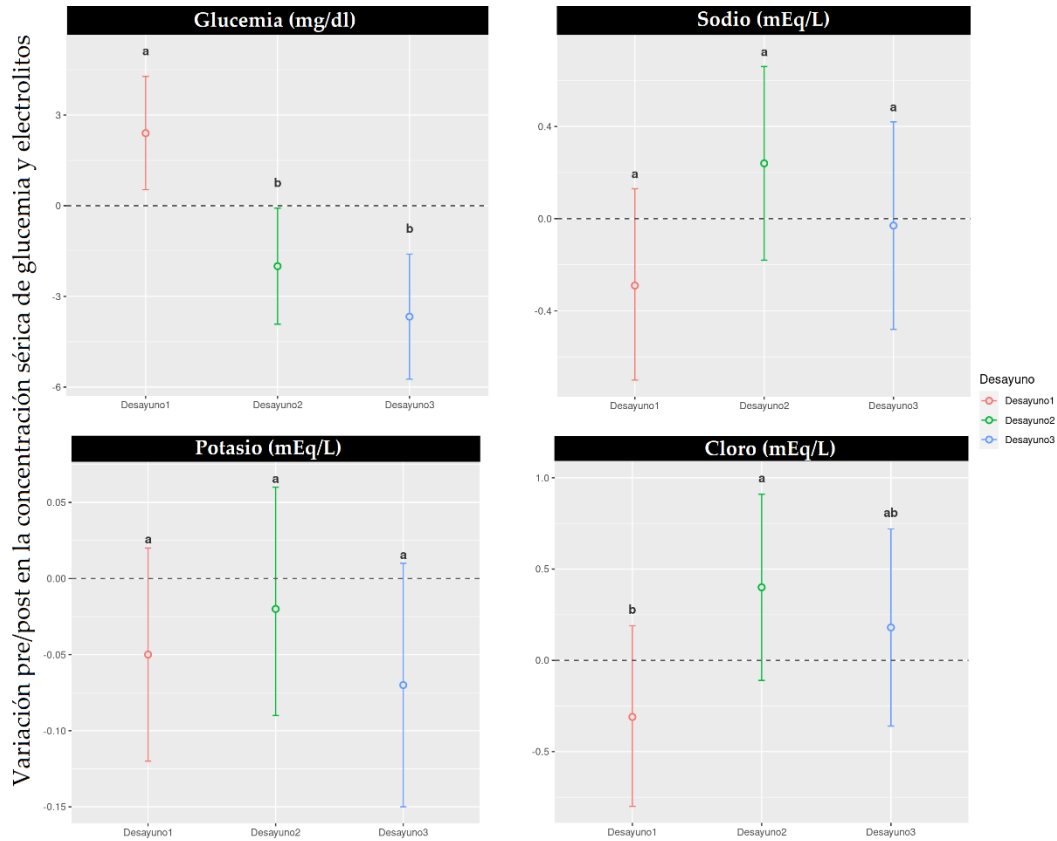


Figura 38. Comparación de las variaciones pre/post de las concentraciones séricas de glucosa y electrolitos entre los tres tipos de desayunos. Letras idénticas indican que no hay diferencia y letras diferentes indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los incrementos entre desayunos.

La investigación de ensayos con una duración promedio relativamente corta (28 d) sugiere que el consumo de más grasas insaturadas (AGMI, AGPI) en lugar de carbohidratos o AGS puede mejorar la HbA1C y HOMA-IR; y que centrarse en los AGPI en particular puede tener beneficios adicionales sobre la capacidad de secreción de insulina. Los efectos comparativamente similares de AGS versus carbohidratos en la homeostasis glucosa-insulina son consistentes con sus asociaciones generales similares tanto con la diabetes incidente como con los eventos cardiovasculares (459).

En conjunto, la evidencia sugiere que reemplazar las grasas saturadas y los ácidos grasos *trans* con grasas insaturadas (poliinsaturadas y/o monoinsaturadas) tiene efectos beneficiosos sobre la sensibilidad a la insulina y es probable que reduzca el riesgo de diabetes tipo 2 (76). Entre las grasas poliinsaturadas, el ácido linoleico de la serie n-6 mejora la sensibilidad a la insulina. Aunque, por otra parte, indican los ácidos grasos n-3 de cadena larga no parecen mejorar la sensibilidad a la insulina o el metabolismo de la glucosa (100).

Es escasa la información respecto a la influencia de la grasa dietética sobre los niveles de electrolitos. En el presente trabajo se observa que las diferentes intervenciones (pre/post) no suponían un efecto significativo sobre el nivel de Sodio, Potasio y Cloro y que, con los tres tipos de intervención realizados, los niveles de estos electrolitos se mantienen dentro del rango de normalidad.

5.2.5 Análisis de regresión lineal múltiple sobre variable dependiente

Tras evaluar el efecto del tipo de desayuno administrado a las participantes del estudio sobre los parámetros que se han venido analizando en los epígrafes anteriores, a partir de ahora la estadística inferencial basada en el análisis de regresión lineal múltiple sobre variable dependiente, pretende evaluar si además del tipo de desayuno pueden existir otros factores (edad de las participantes, si son o no diabéticas, hipertensas o hipercolesterolémicas, o si están en normopeso o con $IMC > 24,9 \text{ Kg/m}^2$) considerados en el diseño de este proyecto que también afecten a los mencionados parámetros.

Mediante un modelo de regresión lineal múltiple, se analiza el efecto de las variables categóricas independientes siguientes:

- desayuno (D1/D2/D3),
- grupo de edad (MAYORES o >65 años/ MENORES o < 65 años),
- sobrepeso (NORMOPESO/SOBREPESO U OBESIDAD),
- hipertensión (SI/NO),
- diabetes (SI/NO) y
- colesterol (SI/NO),

Sobre las variaciones de cada parámetro en estudio (bioquímicos, inflamatorios, estrés oxidativo), que constituyen las variables dependientes. Para la selección de

las variables a incluir en el modelo, se realizó el método paso a paso (stepwise) por “eliminación hacia atrás” (backward) para modelos lineales mixtos.

Para facilitar la comprensión de cada tabla obtenida del análisis de regresión lineal múltiple, se muestra a continuación una explicación común a todas ellas, con el significado de los componentes que las conforman:

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante (...-...)

Variable: Dentro de éstas, la constante es una combinación lineal del primer nivel de cada factor o variable categórica incluida en el modelo. En el ejemplo de la Tabla 40, constante es una combinación del nivel 1 del desayuno (o sea, el D1) y del nivel 1 del grupo de edad (o sea, las mayores de 65 años). El resto de variables son los restantes niveles de cada variable categórica (desayuno 2, desayuno 3 y grupo edad menores de 65), en concreto las diferencias con el nivel 1 (constante) de su propia variable.

La constante en una regresión lineal es la b_0 , o el punto donde la línea corta el eje de las Y. Como aquí, en vez de solo una variable independiente X (lo que sería regresión simple), tenemos más de una, en este caso en concreto tenemos dos (desayuno y grupo de edad), tenemos dos variables que afectan al comportamiento de Y (glucemia). Y solo puede ser un punto o valor, por eso la constante, intercep o b_0 , cuando hay más de una variable predictora (varias x, o mejor dicho x_1 , x_2 , etc) tienen que ser una combinación de todas éstas. Obviamente conforme vamos metiendo más variables predictoras (diabetes, hipertensión, etc), al ser la constante una combinación de todas ellas, su valor va a cambiar pudiendo empeorar todo el modelo predictivo, por eso en una regresión lineal múltiple es importante elegir solo aquellas variables que tienen un efecto importante sobre Y. Para esto usamos el método stepwise que va probando todas las variables predictoras y se queda solo con aquellas que dan el mejor modelo posible (en cuanto a p valor, R², AIC, etc.).

Esperado: Es la media, aunque no es la media de los datos (de las 56 participantes), sino que es la media que el modelo predice para la población general. Nosotros usamos un modelo de regresión lineal que se ajuste lo máximo posible a los datos de las 56 participantes, con lo que inferenciamos los resultados

a la población general (mujeres postmenopáusicas con más de un factor de riesgo cardiovascular). La media que se tiene aquí (esperado o estimado) es la media, que el modelo creado a través de los resultados, estima que tendría la población general. Lo mismo pasa con el intervalo de confianza, no es una medida de dispersión de las 56 participantes, si no una medida de dispersión de la población general, estimado a través del modelo matemático que hemos obtenido de los resultados.

P valor: En cada fila, el P valor nos indica si la diferencia del respectivo valor de esperado es significativamente diferente de 0. En el caso de constante da igual que sea o no diferente de 0, pero para el resto de filas, son las diferencias con la constante, que sí aportan información valiosa. En el ejemplo de la Tabla 39, nos dice que los valores de glucemia en los desayunos dos y tres son diferentes y menores del D1 (constante), y que la glucemia en el grupo edad (menores de 65 años) es mayor y diferente que la glucemia en el grupo de edad, mayores de 65 años.

R²: Es la proporción de la varianza de Y (glucemia) que explica el modelo creado. En el caso de la tabla 39 esa proporción es del 0.21 o 21%. Esto significa que la variación (o comportamiento) de la glucemia en este estudio, viene explicada (o es debida) en un 21% por el tipo de desayuno y por el grupo de edad. Sin embargo, hay otros factores que desconocemos y que afectan en un 79% el comportamiento de la glucemia.

En este ejemplo de la tabla 39, se puede resumir que el comportamiento observado de la glucemia en este estudio, se ve afectado o modificado de forma significativa por el tipo de desayuno y por la edad, y que estos dos factores afectan en un 21% a dicho comportamiento de la glucemia, quedando un 79% de ese comportamiento que no sabemos a qué se debe (por ejemplo, podrían ser factores como nivel de resistencia a insulina, nivel de ejercicio físico, etc.).

A continuación, se muestran los resultados de las variables dependientes que tienen efecto por algunas de las variables independientes analizadas, no se incluyen las que sólo evidencian el efecto del tipo de desayuno, ya que previamente se ha mostrado en apartados anteriores.

5.2.5.1 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre glucemia*

En la tabla 40, se muestra las variables independientes (tipos de desayuno y grupo de edad) que mostraron efecto sobre la variable dependiente, **glucemia**. El tipo de desayuno y grupo de edad explica un 21% de varianza en la variable glucosa, que explica el modelo creado. Además del efecto que tienen los tipos de desayuno sobre la glucemia (que previamente se ha visto en apartados anteriores), se observa también que el grupo de edad menores de 65 años incrementa ($P=0,02$; $R^2=0,21$) más la glucemia.

Tabla 40. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: Glucemia

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	1,96 (-0,4-4,33)	0,11	0,21
D2	-5,80 (-8,78 --2,83)	0,00	0,21
D3	-7,50 (-10,61- -4,39)	0,00	0,21
Grupo edad	3,35 (0,75-5,97)	0,02	0,21

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La tolerancia a la glucosa disminuye con la edad, resultando en una alta prevalencia de intolerancia a la glucosa y diabetes en la población mayor de 60 años. La DM en la población geriátrica es una afección crónica muy prevalente. La prevalencia de diabetes en mayores de 65 años es del 20% de la población, y aumenta con la edad al producirse cambios en la tolerancia a la glucosa; la más frecuente es la DM de tipo 2 (159). La incidencia de diabetes es de dos a cuatro veces más frecuente que en población adulta, aunque debe tenerse en cuenta los criterios operativos establecidos, que generan gran variabilidad en la cuantificación y la medición del problema. La población de estudio como antes se describe, se trata de adultas mayores (63.5 ± 18.3 años), de la cuales el 57% son mayores de 65 años y 12.5% de la población tiene diabetes.

La patogénesis de la intolerancia a la glucosa en este grupo de edad es multifactorial involucrando la interacción de factores asociados al envejecimiento como son un incremento relativo en la adiposidad visceral, disminución en la masa muscular y en la actividad física, el uso de medicamentos, enfermedades

coexistentes y defectos en la secreción y sensibilidad a la insulina asociados a la edad, aunque este último es controversial (152). No obstante, en el presente trabajo se corrobora que el grupo de edad influye en los incrementos de glucosa (IC 95%, $P=0.02$, $R=0.2$).

Existe una disminución progresiva en la tolerancia a la glucosa oral de la tercera década a la novena década de vida. Estudios poblacionales indican que los niveles de glucosa postcarga de glucosa se incrementan con la edad de 6-9 mg/dL por década, mientras que la glucosa en ayuno se incrementa con la edad de 1-2 mg/dL por década (460). Asimismo, varios estudios han encontrado elevaciones discretas y progresivas en los niveles de hemoglobina glucosilada asociados a la edad, independientemente de otros efectos confusores en la tolerancia a la glucosa, encontrándose tanto en sujetos obesos como delgados (460). Contrariamente, en el presente estudio se observa un mayor incremento de glucosa en las menores de 65 años respecto a incremento de las mayores de 65, lo cual podría deberse a que el grupo de menores de 65 años, al estar en estadios iniciales de postmenopausia, tienen una alteración más notoria, por los cambios que se suscitan al inicio de ésta etapa, sabiendo que la ausencia del estrógeno y progesterona afectan la respuesta de las células a la insulina, lo cual se va siendo menor en el tiempo. Además, las mayores de 65 al tener mayor prevalencia de diabéticas, podrían controlar dichos incrementos, al controlar más el nivel azúcar y/o administrarse insulina para corregirla

El grado de resistencia a la insulina tiende a incrementarse con la edad y el anciano en general tienen mayor riesgo de desarrollar los factores de riesgo cardiometabólicos que componen al síndrome metabólico (460). La masa muscular disminuye cerca de 40% de los 20 a los 70 años de edad y la masa grasa se incrementa con predominio en la grasa abdominal. La disminución en la sensibilidad a la insulina afecta en diferentes grados el metabolismo de la glucosa y los lípidos, sobre todo en los tejidos muscular, hepático y adiposo (460). Como ocurre con la prevalencia de diabetes, la prevalencia del síndrome metabólico se incrementa con la edad y tiene una mayor prevalencia en las personas de 60-69 años (461). Además de la edad, varios factores tienen influencia en la sensibilidad a la insulina y cuando éstos son tomados en cuenta, es incierto si la edad por sí misma tiene aún un efecto en la captura de glucosa (460).

5.2.5.2 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre la uremia*

En la tabla 41, se observa que la diabetes explica un 3% de la varianza en la variable niveles séricos de urea. Aunque en ambos grupos (diabéticas y no diabéticas) se observa que influyen en la reducción de la urea, se puede ver también que en el grupo de diabéticas lo hacen en mayor medida ($P=0,03$; $R^2=0,03$).

Tabla 41. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: Niveles séricos de Urea

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	-0,28 (-1,51-0,96)	0,66	0,03
Diabetes	-5,03 (-9,59--0,48)	0,03	0,03

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La diabetes mellitus es una enfermedad endocrina con importantes implicaciones a nivel sistémico, como: angiopatía, neuropatía, retinopatía y nefropatía, entre otras. Estas complicaciones tienen su origen en eventos biomoleculares desencadenados por la hiperglicemia (128,136). La diabetes, por tanto, constituye una causa principal de las enfermedades de los riñones como nefropatía diabética y enfermedad renal crónica (ERC). La enfermedad de los riñones implica que los riñones están dañados y no pueden filtrar la sangre como deberían. Uno de cada cuatro adultos con diabetes tiene la enfermedad de los riñones (462). Los riñones dañados, no pueden filtrar la sangre como deberían. Esto hace que los desechos se acumulen en el cuerpo. El daño de los riñones causado por la diabetes generalmente se va produciendo lentamente con los años. El daño a los riñones también puede causar otros problemas de salud.

El mecanismo por el cual la diabetes causa enfermedades renales, es porque un nivel alto de glucosa en la sangre, puede dañar los vasos sanguíneos de los riñones. Cuando los vasos sanguíneos se dañan, no funcionan tan bien. Además, muchas personas con diabetes tienen presión arterial alta, que también puede dañar los riñones. Así también, tener diabetes por mucho tiempo aumenta el riesgo de tener daño a los riñones (462).

En base a ello, dentro de los estudios al diabético, la determinación de urea tiene especial interés, como uno de los primeros indicios de una enfermedad renal crónica. Dentro de toda esta amplia gama de estudios al diabético, cobra un especial interés la determinación de urea como uno de los primeros indicios de una enfermedad renal crónica, teniendo en cuenta que al dar inicio un daño o fallo renal, comienzan a aumentar los niveles en sangre de los compuestos nitrogenados no proteicos y que por orden de aparición serían: ácido úrico, urea, y en último lugar la creatinina.

En el presente estudio se puede corroborar que, los niveles de urea se ven afectado por las personas diabéticas, observándose una disminución de los niveles de urea. Lo cual podría deberse a reacciones catalíticas producidas en contexto de la diabetes tipo 1, la ausencia de insulina disminuye la entrada de los aminoácidos a las células musculares, lo que incrementa el catabolismo de sus proteínas. Los aminoácidos glucogénicos liberados por la proteólisis quedan disponibles para la gluconeogénesis hepática lo que genera un balance negativo del nitrógeno, que conduce al agotamiento de las proteínas y al desgaste tisular (463).

5.2.5.3 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de lipoproteínas HDL*

Las variables independientes (tipo de desayuno y grupo de edad) mostraron efecto sobre la variable HDL (Tabla 42). Los tipos de desayuno y grupo de edad explica un 17% de varianza en la variable HDL, que explica el modelo creado. Además del efecto que tienen los tipos de desayuno sobre la HDL, lo cual previamente se ha visto en apartados anteriores, se observa también que el grupo de edad mayores o iguales 65 años incrementa más la HDL ($P=0,05$; $R^2=0,17$).

Previamente se ha podido observar que las intervenciones dietéticas del presente estudio, han tenido efecto en diversos parámetros, dentro de ellos en los niveles séricos de HDL, pero a través de la regresión múltiple realizada se puede observar que la variable edad influye también en los niveles de HDL.

Los datos sobre el efecto del envejecimiento en la composición y función de las HDL son limitados. Se documentan asociaciones de inflamación con patologías relacionadas con la edad; sin embargo, hay poca información disponible sobre cómo el envejecimiento afecta la composición y función de las

HDL. Los estudios iniciales informaron que las HDL de sujetos de edad avanzada tiene una potencia reducida para promover la salida de colesterol e inhibir la oxidación de LDL (464).

Tabla 42. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de HDL

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	4,26 (2,06-6,46)	0,00	0,17
D2	-1,78 (-4,47 -0,92)	0,20	0,17
D3	-5,34 (-8,15- -2,51)	0,00	0,17
Grupo edad	2,62 (0,12-5,09)	0,05	0,17

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

Estudios proteómicos recientes proporcionaron pruebas convincentes de que la inflamación altera la composición proteica de las HDL, generando así formas disfuncionales o incluso proaterogénicas de HDL (465). Además, la inflamación conduce a marcadas alteraciones en la fracción lipídica de las HDL, destacadas por una reducción significativa de los fosfolípidos (466).

Algunos estudios, sugieren que el envejecimiento altera la composición de HDL, lo que resulta en un deterioro funcional que puede contribuir al inicio/progresión de la enfermedad cardiovascular (467). Las alteraciones asociadas con la edad en la composición y función de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) pueden contribuir a la mortalidad cardiovascular. Aunque aún el efecto de la edad avanzada sobre la composición y función de HDL no se comprende bien. Sin embargo, la mayoría de las muertes coronarias, ocurren en pacientes mayores de 65 años.

5.2.5.4 Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de Quilomicrones

En la tabla 43, se observa que las variables hipertensión muestra un efecto sobre la variable quilomicrones. La hipertensión explica un 3% de varianza en la variable concentración sérica de quilomicrones, que explica el modelo creado. Se

observa también que el grupo de hipertensos se incrementan más los quilomicrones ($P=0,04$; $R^2=0.03$).

Tabla 43. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de quilomicrones

Variable	Esperado (IC95)	P valor	R ²
Constante	-0,29 (-0,44--0,15)	0,00	0,03
Hipertensión	0,28 (0,01-0,55)	0,04	0,03

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

En nuestro estudio se observaron diferencias significativas en las variaciones de los niveles de quilomicrones, lo cual nos sorprendió ya que las muestras sanguíneas se extrajeron en condiciones de ayuno (horario previo al desayuno), razón por la que los quilomicrones, según la bibliografía, no debían estar presentes en cantidades significativas, aunque se observaron cambios significativos, estos niveles tanto pre como post se mantuvieron dentro del rango de referencia. Sin embargo, en este análisis se observa que la variación de los quilomicrones está influenciada por la hipertensión, ya que se observa un incremento de quilomicrones en las personas hipertensas. Corroborando así, los estudios de Bernales-Silva y colaboradores (468), que han estudiado la hipertensión y la alteración del metabolismo de los quilomicrones, aunque a la fecha por varias razones, el metabolismo de los quilomicrones y sus remanentes es difícil de evaluar en seres humanos, debido a algunas características físicas y metabólicas de esas lipoproteínas y al proceso de absorción de lípidos en el intestino.

5.2.5.5 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica IDL-C*

Las variables independientes (tipo de desayuno e hipertensión) mostraron efecto sobre la variable niveles séricos de IDL-C (Tabla 44). El tipo de desayuno y grupo de edad explica un 36% de las variaciones en la variable niveles séricos de IDL-C, que explica el modelo creado. Además del efecto que tienen los tipos de

desayuno sobre la IDL-C (que previamente se ha visto en apartados anteriores), se observa también que en el grupo de personas con hipertensión disminuye más la concentración sérica de IDL-C ($P=0,03$; $R^2=0,36$).

Tabla 44. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de IDL- C

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	6,71 (4,68-8,74)	0,00	0,36
D2	-9,96 (-12,55- -7,36)	0,00	0,36
D3	-6,24 (-9,44- -3,12)	0,00	0,36
Hipertensión	-3,02 (-5,73- -0,30)	0,03	0,36

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La infiltración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el espacio subendotelial es un paso temprano en la aterosclerosis. Además de las partículas de LDL, las partículas pequeñas de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) también pueden ingresar a la íntima arterial y retenerse dentro de la matriz extracelular subendotelial (469).

La concentración de lipoproteínas dentro de la íntima arterial depende de su retención selectiva en la íntima (470). Por lo tanto, en comparación con las lipoproteínas de alta densidad u otras proteínas plasmáticas, como las partículas de lipoproteínas que contienen apoB-100 (VLDL, IDL, y LDL) se retienen selectivamente en la íntima, y sus concentraciones locales son relativamente altas (469). Además, se sugiere que las partículas VLDL e IDL quedan atrapadas en mayor medida que las partículas LDL por la densa matriz extracelular rica en proteoglicanos de la íntima arterial. Quizás esto explique que los hipertensos disminuyan la cantidad de IDL, quizás se debe a una retención selectiva, además las IDL al tener menor densidad podría ser que la mayor presión o fuerza de la sangre, realice el efecto contrario a la infiltración.

En estudios en los que se han realizado mediciones de subfracciones de lipoproteínas, los niveles plasmáticos de IDL han sido más predictivos de la progresión de la aterosclerosis que los niveles plasmáticos de LDL, según lo

evaluado por angiografía de la arteria coronaria o ultrasonografía de la arteria carótida (470). Por otro lado, se conoce que la rigidez arterial aumenta con la edad y está estrechamente relacionada con factores de riesgo de ECV como la hipertensión y la enfermedad de las arterias coronarias (469). La asociación de la rigidez arterial con los lípidos tradicionales, como el colesterol total, los triglicéridos, el LDL-c y el HDL-c, se ha descrito en estudios cruzados, estudios seccionales entre la población de alto riesgo (469). Sin embargo, la relación entre la rigidez arterial y las partículas de las subclases de lipoproteínas rara vez se ha estudiado. Un estudio muestra que las medidas de las subclases de lipoproteínas se asocian con una mayor rigidez arterial periférica en una población de alto riesgo metabólico (469).

5.2.5.6 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-1*

En la tabla 45, se observa que la variable hipercolesterolemia muestra un efecto sobre la variable LDL1. La hipercolesterolemia explica un 4% de varianza en la variable LDL1, que explica el modelo creado. Se observa también que el grupo de personas con concentraciones elevadas de colesterol incrementan más las LDL1 ($P=0,04$, $R^2=0,04$).

Tabla 45. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de IDL- C

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	-4,29 (-7,85--0,73)	0,02	0,04
Hipercolesterolemia	6,49 (0,40-12,57)	0,04	0,04

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La hipercolesterolemia es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular modificables, por determinantes alimentarios, en especial la ingestión de grasas saturadas y en menor medida del colesterol ingerido con la dieta (236). La reducción de la colesterolemia produce una disminución de la incidencia y mortalidad por cardiopatía isquémica y enfermedad cardiovascular

en general (236). La reducción del nivel de LDL-c se asocia a una disminución de la morbilidad y la mortalidad cardiovascular. Sin embargo, no se encuentra información suficiente sobre incrementos de subfracciones lipoproteicas asociados a la hipercolesterolemia. En nuestro estudio, se observa que la colesterolemia implica un incremento de la subfracción lipoproteica del patrón A, es decir la LDL1, una partícula grande y menos densa, la cual tiene menor aterogenicidad que las del patrón B, pequeñas y densas.

5.2.5.7 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-2*

En la tabla 46, se observa que la variable edad muestra un efecto sobre la variable LDL2. El grupo de edad explica un 7% de varianza en la variable LDL2, que explica el modelo creado. Se observa también que en el grupo de personas menores de 65 años incrementan más los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL2 ($P=0,02$, $R^2=0,07$).

Tabla 46. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-2

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	-0,75 (-3,31-1,78)	0,57	0,07
Grupo edad	4,76 (0,80-8,79)	0,02	0,07

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95% Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La subfracción LDL2 es una partícula LDL grande y flotante del patrón A de las subfracciones de LDL, es menos aterogénica que las del patrón B. Las subclases pequeñas y densas de LDL son un factor de riesgo cardiovascular emergente, sin embargo, los mecanismos biológicos y genéticos que controlan la distribución de las subclases de lipoproteínas no están claros (471). En nuestro estudio se observa que la edad, resulta ser la única variable que influye significativamente sobre la LDL2 de forma independiente en la regresión múltiple. No hay estudios que evidencien la vinculación entre la edad y los

valores de LDL2, aunque resulta interesante ver que la edad influye en esta subfracción, lo cual puede ser un aporte para futuras investigaciones.

5.2.5.8 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-3*

En la tabla 47, se observa que la variable hipercolesterolemia muestra un efecto sobre la variable LDL3. El grupo de edad explica un 6% de varianza en la variable LDL3, que explica el modelo creado. Se observa también que el grupo de personas con hipercolesterolemia disminuyen las LDL3 ($P=0,01$; $R^2=0,06$).

Tabla 47. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-3

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	1,16 (-0,20-2,53)	0,10	0,06
Hipercolesterolemia	-3,34 (-5,67- -1,00)	0,01	0,06

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95% Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

Un estudio indica que elevados niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-3 es un factor de riesgo independiente para enfermedad cerebrovascular. El modelo de predicción basado en LDL-3 y LDL-4 puede ayudar a los médicos a identificar enfermedad cerebrovascular de alto riesgo, incluso en personas con niveles normales de LDL-C. Los niveles de LDL deben ser considerados en la evaluación y manejo de enfermedad cerebrovascular (472). Sin embargo, el perfil de subclases de LDL es un factor de riesgo cardiovascular emergente, y, los mecanismos biológicos y genéticos que controlan la distribución de las subclases de lipoproteínas no están claros (472).

En otro estudio se revela que la hipercolesterolemia familiar se relaciona con un mayor contenido de LDL de mayor tamaño y menor densidad, respecto a la normolipemia (473). Curiosamente en nuestro estudio, se observa que la hipercolesterolemia se asocia con la disminución la LDL-3, fracción de menor tamaño y mayor densidad.

5.2.5.9 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-4*

Las variables independientes (tipo de desayuno y sobrepeso u obesidad) mostraron efecto sobre los niveles séricos de la variable subfracción lipoproteica LDL-4 (Tabla 48). El tipo de desayuno y sobrepeso/obesidad explica un 18% de varianza en la variable LDL4, que explica el modelo creado. Además del efecto que tienen los tipos de desayuno sobre la LDL4, lo cual previamente se ha visto en apartados anteriores, se observa también que el grupo de personas que tienen sobrepeso/obesidad disminuye más la LDL4 ($P=0,02$; $R^2=0,18$).

Tabla 48. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de la subfracción lipoproteica LDL-4

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	1,39 (0,62-2,17)	0,00	0,18
D2	-1,16 (-1,87- -0,44)	0,00	0,18
D3	-0,85 (-1,71-0,03)	0,06	0,18
Sobrepeso/obesidad	-0,95 (-1,73- -0,17)	0,02	0,18

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95% Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

Las LDL pequeña y densa es un subcomponente del LDL con partículas pequeñas y de alta densidad que incluye LDL-3 a LDL-7 (234). Las LDL pequeñas y densas también son más susceptibles a la peroxidación de lípidos debido a cambios en la composición de lípidos, lo que las hace más aterogénicas (236). Las LDL pequeñas y densas carecen de vitamina E y se oxidan más rápidamente in vitro, características que podrían hacer que las LDL pequeñas sean más aterogénicas (237).

Un estudio concluye que la población de obesos, sin otro factor de riesgo presentan mayor subfracciones de LDL de un diámetro medio que cualquier otro grupo de riesgo y comparable a población sin ningún factor de RCV (474). En nuestro estudio se observa que la obesidad /sobrepeso disminuye la LD4, siendo ésta una subfracción pequeña y densa, del patrón B. Pero como se indica previamente, los mecanismos biológicos y genéticos que controlan la distribución

de las subclases de lipoproteínas no están claros. Además, el predominio de subfracciones LDL (patrón B) está determinado por factores genéticos, y no genéticos, entre los que cabe citar la obesidad abdominal, los hormonales y nutricionales, que pueden influir en la expresión de este fenotipo (475).

5.2.5.10 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de LDL-oxidadas*

Las variables independientes (tipo de desayuno y diabetes) mostraron efecto sobre la variable **niveles séricos de LDL oxidada** (Tabla 49). El tipo de desayuno y diabetes explica un 9% de varianza en las variaciones de los niveles séricos de LDL oxidada, que explica el modelo creado. Además del efecto que tienen los tipos de desayuno sobre la LDL oxidada, se observa también que en el grupo de personas que tienen diabetes disminuye la LDL oxidada ($P=0,02$; $R^2=0,09$).

Tabla 49. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de LDL oxidada

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	31,16 (-49,93-112,25)	0,46	0,09
D2	17,48 (-96,18- 131,14)	0,77	0,09
D3	-118,51 (-232,17- -4,85)	0,05	0,09
Diabetes	-253,57 (-463,94- -43,20)	0,02	0,09

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL-ox) es un potente prooxidante natural derivado de la LDL nativa por oxidación mediada por células. Tal oxidación ocurre más fácilmente en las LDL glicosiladas como se observa en la diabetes mellitus (476). En un análisis de regresión lineal múltiple, se encontró que la diabetes estaba significativamente asociada con el LDL-ox (477). Otro estudio observó que los pacientes con DM2 tenían niveles más altos de LDL oxidada (475). En nuestro estudio se observa que la diabetes, además de la intervención dietética, resultó ser la variable que influye sobre la LDL-ox y resulta que se asocia significativamente ($P=0.02$, $R^2=0.09$) de forma independiente en la

regresión múltiple, aunque nuestros resultados no se corresponden con los de los estudios anteriores, tal vez porque el tamaño muestral de las participantes diabéticas de nuestro estudio fue muy pequeño.

5.2.5.11 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de citoquina IFNG*

En la tabla 50, se observa que la variable edad muestra un efecto sobre la variable **niveles séricos de** citoquina IFNG. El grupo de edad explica un 3% de varianza en la variable citoquina IFNG, que explica el modelo creado. Se observa también que en el grupo de personas menores de 65 años disminuyen los **niveles séricos de** la citoquina IFNG ($P=0,04$; $R^2=0,03$).

Tabla 50. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de citoquina IFNG

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	0,21 (-0,14-0,55)	0,24	0,03
Grupo edad	-0,57 (-1,11- -0,04)	0,04	0,03

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

Los interferones (IFN) son una familia de citoquinas pleiotrópicas, cuyo nombre se les asignó porque inhiben la replicación viral. Se destaca el IFN- γ o IFNG porque posee actividad antiviral, de la misma manera que IFN- α e IFN- β . IFN- γ es también un activador de la vía que afecta a las células T citotóxicas. Debido a esto, el IFN γ tiene un papel clave en el control de infecciones bacterianas, fúngicas, virales y parasitarias. El IFN γ tiene un papel dual, es pro y antiinflamatorio, lo cual lo convierte en una proteína singular debido a que su comportamiento depende del medio en el que se encuentre (478). El IFN γ potencia la transcripción de varios genes involucrados en actividades inmunomoduladoras, antivirales y antiproliferativas (apoptosis) (478).

El IFN se produce en grandes cantidades bajo ciertas circunstancias patológicas tales como trauma, inflamación crónica, infección, cáncer y autoinmunidad. La producción del IFN como resultado de la activación de la

respuesta inmune puede inhibir o potenciar la inflamación y causar daño tisular; sin embargo, cuando hay una producción masiva de IFN (síndrome de liberación citocínica aguda) se presentan manifestaciones sistémicas graves, tales como sangrados generalizados y choque letal (478). Y este no fue el caso en nuestro estudio, que se observa que la edad, resultó ser la única variable que influye sobre la citoquina IFNG y resulta que se asocia significativamente ($P=0.04$, $R^2=0.03$) de forma independiente en la regresión múltiple. No hay estudios que evidencien la vinculación entre la edad y los valores de la citoquina IFN, aunque resulta interesante ver que la edad influye en la citoquina IFN que las patologías de riesgo CV.

5.2.5.12 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de citoquina IL1A*

En la tabla 51, se observa que la variable diabetes muestra un efecto sobre la variable niveles séricos de citoquina IL1A. El grupo diabetes explica un 6% de varianza en la variable niveles séricos de citoquina IL1A, que explica el modelo creado. Se observa también que en el grupo de personas con diabetes aumenta más la citoquina IL1A ($P=0,04$; $R^2=0.03$).

Tabla 51. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de citoquina IL1A

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	0,00 (-0,02-0,02)	0,94	0,06
Diabetes	0,08 (0,00-0,17)	0,06	0,06

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La IL-1A es una citoquina involucrada en enfermedades inflamatorias. Las citoquinas derivadas de macrófagos como IL-1 e IL-6, son las principales responsables de la respuesta de fase aguda, una variación protectora en la producción de proteínas plasmáticas por los hepatocitos. La familia de citoquinas que incluye interleucina-2 (IL-2), IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21, exhibe amplias acciones pleiotrópicas en el sistema inmune, incluyendo tanto el sistema inmune

innato como adaptativo, con estas citoquinas contribuyendo colectivamente al desarrollo de T, B, asesino natural (AN) y células linfoides innatas (ILCs) (278).

Un estudio revela que, durante la diabetes tipo I, las citoquinas inflamatorias inducen la expresión de iNOS en los islotes pancreáticos produciendo óxido nítrico que contribuye a la destrucción de las células beta (479). En nuestro estudio, se observa que la diabetes es la única variable que influye sobre la citoquina IL-1A, asociada significativamente ($P=0.06$, $R^2=0.06$) de forma independiente en la regresión múltiple. Algunos estudios describen la vinculación entre la diabetes tipo I con tres citoquinas ampliamente descritas en la patogenia de la enfermedad (IL-1B, IL-2 e IL-4 (480), que curiosamente no se ha evidenciado dicha asociación en nuestro estudio.

Existe una clara evidencia que demuestra una alteración en el patrón de distribución de ciertas citoquinas en los pacientes diabéticos, sin embargo, no hay un consenso absoluto respecto a cuáles citoquinas representan el mejor indicador que se correlacione con el daño pancreático o agresividad pancreática (481).

5.2.5.13 *Análisis de regresión lineal múltiple sobre los niveles séricos de citoquina EGF*

En la tabla 52, se observa que las variables, tipo de desayuno e hipertensión muestran un efecto sobre la variable **niveles séricos de** citoquina EGF. Ya se estudió en epígrafes anteriores el efecto del tipo de desayuno sobre esta citoquina, pero aquí observamos que la presencia de hipertensión explica un 49% de varianza en la variable citoquina EGF, que explica el modelo creado. Se observa así que en el grupo de personas con hipertensión aumenta más la citoquina EGF ($P=0,01$; $R^2=0.49$).

El EGF también es conocido como factor de crecimiento epitelial (o epidérmico) y es sintetizado como un precursor aminoácidos, incluye secuencias cortas de aminoácidos. El EGF actúa sobre células epiteliales y no epiteliales, entre sus acciones biológicas destacan efectos mitogénicos y quimiotácticos en fibroblastos y células epiteliales. Los fibroblastos del ligamento periodontal, los preosteoblastos y precondrocitos expresan un alto número de receptores para el EGF (482).

El endotelio es un tipo de epitelio compuesto por una única capa de células planas, se encarga de revestir todo el sistema vascular. La disfunción endotelial

está asociada con muchas formas de hipertensión y está mediada, en parte, por citoquinas proinflamatorias (483).

Tabla 52. Análisis de regresión múltiple para la variable dependiente: niveles séricos de citoquina EGF

Variable	Esperado (IC95%)	P valor	R ²
Constante	-20,66 (-25,43--15,89)	0,00	0,49
D2	19,04 (12,93-25,15)	0,00	0,49
D3	34,10 (27,62-40,57)	0,00	0,49
Hipertensión	8,85 (2,72-14,97)	0,01	0,49

Esperado: Media estimada por el modelo. IC95%: Intervalo de confianza al 95%. P valor y R² del modelo.

La hipertensión es una enfermedad inflamatoria crónica, relacionada a elevados niveles de citoquinas proinflamatorias como la IL-1B, de mediadores proinflamatorios circulantes como la angiotensina II y de especies reactivas de oxígeno, así como alteraciones en la actividad de factores de transcripción redox-sensibles como el factor nuclear activador de la transcripción de la cadena ligera de linfocitos B, implicados en la expresión de citoquinas y de enzimas proinflamatorias como la isoforma inducible de la ciclooxigenasa (COX-2) (484). Todo ello podría estar implicado en las alteraciones vasculares, tanto funcionales como estructurales, que acompañan a esta enfermedad.

Un estudio mostró asociación entre hipertensión y el aumento de TNF- α , IL-6 y la reducción en TGF β 1 (factor de crecimiento transformante b1) (485), pero no evaluaron el EGF. En nuestro estudio se observa que la hipertensión resultó ser la única variable que influye sobre la citoquina EGF y se asocia significativamente (P=0.01, R²=0.49) de forma independiente en la regresión múltiple. Esta vinculación entre la hipertensión y el incremento de los valores de la citoquina EGF, resulta un interesante aporte, ya que implica un 49% de implicación de la hipertensión en la elevación de los niveles de esta citoquina.

VI - CONCLUSIONES

VI - CONCLUSIONES

Respondiendo a los objetivos planteados en este proyecto, los resultados obtenidos han permitido extraer las siguientes conclusiones:

1. En la muestra poblacional analizada constituida por mujeres adultas postmenopáusicas con al menos dos factores de riesgo cardiovascular, la introducción de diferentes tipos de grasas en el desayuno (manteniendo constante el resto de la composición nutricional de la dieta) es un cambio, que por sí solo, tiene la capacidad de modificar el riesgo cardiovascular, aumentándolo cuando se incorporan grasas saturadas y disminuyéndolo en el caso aportar en el desayuno alimentos fuentes de grasas insaturadas.

2. En la valoración nutricional de la dieta habitual del colectivo analizado, se observan desequilibrios tanto energéticos como en nutrientes. La ingesta energética es inferior a la recomendada para la muestra poblacional, si bien los datos muestran un elevado porcentaje de participantes con sobrepeso/obesidad, probablemente por la ausencia de actividad física en este colectivo. Respecto al desequilibrio en nutrientes se aprecia un excesivo consumo de grasas saturadas, junto a un déficit en grasas mono y poliinsaturadas. También existe una ingesta de fibra inferior a la recomendada, así como de calcio, yodo, zinc, vitaminas D, E y ácido fólico. Estos desajustes, requieren una intervención nutricional ya que por ser población de riesgo cardiovascular los excesos y deficiencias detectados, agravan más aun este tipo de riesgo.

3. Los tres tipos de grasa (saturada, mono y poliinsaturada) consideradas en el desayuno (aportadas a través de mantequilla, aceite de oliva virgen y margarina, respectivamente), afectan al perfil lipídico sérico en las participantes, siendo las grasas poliinsaturadas las únicas que incrementan el porcentaje de participantes con un perfil lipídico óptimo, que se refleja en una disminución de los valores de colesterol LDL y un aumento en la concentración de colesterol HDL. La ingesta de grasa monoinsaturada no puso de manifiesto estos cambios significativos estadísticamente, aunque sí se aprecia una tendencia en el mismo sentido que la grasa poliinsaturada.

4. La influencia de los tres tipos de grasas ingeridas en los desayunos sobre el perfil de lipoproteínas, subfracciones lipoproteicas y apolipoproteínas pone de manifiesto que la grasa polinsaturada disminuye las concentraciones séricas de parámetros proaterogénicos (lipoproteínas LDL (específicamente la subfracción LDL-5), subfracción IDL-C, apoproteína B, Lp(a)) e incrementa la concentración de lipoproteínas HDL (y de apo AI), y en las subfracciones lipoproteicas LDL se aprecia un aumento de las LDL₂, que son de las menos aterogénicas. La grasa monoinsaturada sorprende a los investigadores en su ausencia de efecto sobre estos parámetros, probablemente porque el tiempo de un mes considerado en el diseño no fue suficiente para que se manifestaran los cambios publicados en otros estudios. La grasa saturada administrada en el desayuno sí muestra el efecto proaterogénico (conocido en la composición total de la dieta, si bien no evaluado antes cuando solo se incorpora esta grasa en el desayuno) que se expresa en nuestras participantes con una disminución de las apoproteínas AI y AII (que forman parte exclusivamente de la composición de las HDL), y un incremento de la concentración de partículas LDL y de subfracciones muy aterogénicas (IDL-C e IDL-B).

5. En relación a la capacidad de los tres tipos de grasas ingeridas en el desayuno para modificar parámetros relacionados con el estrés inflamatorio, ninguna de las grasas modifica los valores de proteína C reactiva. Es llamativo el comportamiento de la grasa monoinsaturada en su tendencia a elevar tanto citoquinas proinflamatorias como antiinflamatorias e inmunosupresoras, a diferencia de las grasas saturadas y polinsaturadas que muestran un comportamiento totalmente distinto, ya que se observan las tendencias con ambos tipos de grasas a disminuir citoquinas tanto pro como antiinflamatorias e inmunosupresoras.

6. Al evaluar el comportamiento de los tres tipos de grasas administradas en el desayuno sobre biomarcadores de estrés oxidativo y riesgo cardiovascular, destaca la grasa monoinsaturada que, a través del aceite de oliva virgen extra, provocó una disminución en los niveles de homocisteína, del estado antioxidante total y de la concentración de LDL oxidadas, que en la muestra poblacional analizada estaban en valores muy elevados, como corresponde a este colectivo de riesgo cardiovascular.

7. Para descartar sesgos en la interpretación de resultados y obtención de estas conclusiones, se analizaron otros factores de la muestra poblacional (edad, hipertensión, sobrepeso, obesidad, hipercolesterolemia, diabetes) a través del análisis de regresión lineal múltiple sobre variable dependiente, concluyendo que los efectos observados sobre riesgo cardiovascular en las participantes, obedecen al tipo de grasa del desayuno como variable independiente, sin que estos otros factores pudieran afectar a estos resultados.

VII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

- El presente estudio no contempla cantidades equitativas de las grasas utilizadas, ya que el propósito fue evaluar la influencia de monodosis comercializadas y de consumo habitual. Por lo que, resultaría interesante realizar estudios con cantidades o energía equivalente entre los tres tipos de grasa evaluados, a fin de evaluar su influencia.
- Estudios posteriores con un diseño similar al actual es necesario trabajar para evaluar si estas intervenciones reducen eficazmente el riesgo cardiovascular y / o aumentar la esperanza de vida de los pacientes con ECV, tanto masculino como femenino, en distintas etapas de vida.
- Nuestro estudio proporciona la justificación para una reevaluación de las guías que recomiendan el control de ingestas de ciertos tipos de grasas en adultos mayores y/o personas con patologías, como un componente de las estrategias de prevención de ECV.

VIII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. The Top 10 Causes of Death. World Health Organization. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed on 13 March 2020).
2. Ravera A, Carubelli V, Sciatti E, Bonadei I, Gorga E, Cani D, *et al.* Nutrition and cardiovascular disease: Finding the perfect recipe for cardiovascular health. *Nutrients*. 2016; 8:363.
3. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, *et al.* Heart disease and stroke statistics-2016 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016; 133: e38–e360.
4. Lairon D. Intervention Studies on Mediterranean Diet and Cardiovascular Risk. *Mol Nutr Food Res*. 2007; 51(10): 1209-14.
5. IHME, Global Burden of Disease, Johns Hopkins University <http://www.healthdata.org/news-release/lancet-latest-global-disease-estimates-reveal-perfect-storm-rising-chronic-diseases-and> (accessed on 15 March 2020).
6. Lacroix S, Cantin J, Nigam A. Contemporary issues regarding nutrition in cardiovascular rehabilitation. *Ann. Phys. Rehabil. Med*. 2017; 60: 36–42.
7. Anand SS, Hawkes C, de Souza RJ, Mentz A, Dehghan M, Nugent R, *et al.* Food consumption and its impact on cardiovascular disease: Importance of solutions focused on the globalized food system: A report from the workshop convened by the world heart federation. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2015; 66: 1590–1614.
8. Martínez-González MA, Fernández-Jarne E, Serrano-Martínez M, Martí A, Martínez JA, Martín-Moreno JM. Mediterranean diet and reduction in the risk of a first acute myocardial infarction: an operational healthy dietary score. *Eur J Nutr*. 2002; 41(4):153-60.
9. DiNicolantonio JJ, O’Keefe JH. Effects of dietary fats on blood lipids: a review of direct comparison trials. *Open Heart*. 2018; 5 (2): e000871
10. Hennig B, Reiterer G, Toborek M, Matveev SV, Daugherty A, Smart E, *et al.* Dietary fat interacts with PCBs to induce changes in lipid metabolism in mice

- deficient in low-density lipoprotein receptor. *Environ. Health Perspect.* 2005; 113: 83–87.
11. Fernandez M, West K. Mechanisms by which Dietary Fatty Acids Modulate Plasma Lipids. *J Nutr.* 2005; 135: 2075–2078.
 12. Ruiz-Pons M, Gómez-López L, Sanchez-Valverde VF, Dalmau-Serra J, Martínez-Pardo M. Manejo de las alteraciones del metabolismo de los carbohidratos. AEP.
<https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/carbohidratos.pdf>.
 13. Esquivel Solis V. Dietas modificadas en carbohidratos: implicaciones fisiológicas. *Rev Costarrica salud pública.* 2005; 14 (26).
 14. OMS/FAO. World Health Organization and Food and Agriculture Organization. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2003, 916: i-vii;1-149.
 15. Mc Devitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM. De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. *Am J Clin Nutr.* 2001; 76 (6): 737-46.
 16. Hellerstein MK. De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects. *Eur J Clin Nutr.* 1999: S53-65.
 17. Ameer F, Scandiuzzi L, Hasnain S, Kalbacher H, Zaidi N. De novo lipogenesis in health and disease. *Metabolism.* 2014; 63(7): 895-902.
 18. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger's principles of biochemistry.* 5th ed. New York: MacMillan; 2015.
 19. Ponzzone A, Spada M, Roasio L, Porta F, Mussa A, Ferraris S. Impact of Neonatal Protein Metabolism and Nutrition on Screening for Phenylketonuria. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2008; 46(5): 561-569.
 20. Román L, Jáuregui IO. Enfermedad de jarabe de arce: una entidad rara que debemos recordar. A propósito de su manejo dietético. *An. Med. Interna (Madrid).* 2005; 22 (10): 493-497.
 21. Magnoni AA, Jackson SHD. Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. *Am J Med.* 2002; 112: 556-65.
 22. Vockley J, Burton B, Berry G T, Longo N, Phillips J, Sanchez-Valle A, *et al.* Results from a 78-week, single-arm, open-label phase 2 study to evaluate UX007 in pediatric and adult patients with severe long-chain fatty acid oxidation disorders (LC-FAOD). *J Inherit Metab Dis.* 2019; 42: 169–177.

23. Anderson JW, Deakins DA, Floore TL, Smith BM, Whitis SE. Dietary fiber and coronary heart disease. *Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009; 29: 95-147.
24. Sastre Gallego A, Morejón Bootello E, Entrala Bueno A. Alteraciones metabólicas. Soporte nutricional en el paciente oncológico. Capítulo VI. http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/infopublico/publicaciones/soporteNutricional/pdf/cap_06.pdf.
25. Gerhäuser C. Cancer cell metabolism, epigenetics and the potential influence of dietary components – A perspective. *Biomedical Research*. 2012; 23 (1).
26. Jae-HoPark, Soon-Hee Kim, Myeong Soo Lee, Myung-Sunny Kim. Epigenetic modification by dietary factors: Implications in metabolic syndrome. *Molecular Aspects of Medicine*. 2017; 54: 58-70.
27. Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Timing of Breakfast, Lunch, and Dinner. Effects on Obesity and Metabolic Risk. *Nutrients*. 2019; 11(11): 2624.
28. Garaulet M, Gomez-Abellan P, Alburquerque-Bejar JJ, Lee Y-C, Ordovas JM, Scheer FAJL. Timing of food intake predicts weight loss effectiveness. *Int. J. Obes*. 2013; 37: 604–611.
29. Spence C. Breakfast: The most important meal of the day? *Int. J. Gastron Food Sci*. 2017; 8: 1–6.
30. Gibney MJ, Barr SI, Bellisle F, Drewnowski A, Fagt S, Livingstone B, *et al*. Breakfast in human nutrition: The international breakfast research initiative. *Nutrients*. 2018; 10: 559.
31. Marangoni F, Poli A, Agostoni C, Di Pietro P, Cricelli C, Brignoli O, *et al*. A consensus document on the role of breakfast in the attainment and maintenance of health and wellness. *Acta Biomed*. 2009; 80: 166–71.
32. Rea-Jeng Y, Edward W, Yeu-Sheng H, Mei-Yen C. Irregular breakfast eating and health status among adolescents in Taiwan. *BMC Public Health*. 2006; 6: 295–302.
33. Widenhorn-Muller K, Hille K, Klenk J, Weiland U. Influence of having breakfast on cognitive performance and mood in 13-to 20-year-old high school students: results of a crossover trial. *Pediatrics*. 2008; 122: 279–84.
34. Timlin MT, Pereira MA. Breakfast frequency and quality in the etiology of adult obesity and chronic diseases. *Nutr Rev*. 2007; 65: 268–81.

35. Kevin C Maki, Alyssa K. Phillips-Eakley, Kristen N Smith. The effects of breakfast consumption and composition on metabolic wellness with a focus on carbohydrate metabolism. *Advances in Nutrition*. 2016; 7 (3): 613S – 621S.
36. Cho S, Dietrich M, Brown CJP, Clark CA, Block G. The effect of breakfast type on total daily energy intake and body mass index: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Journal of the American College of Nutrition*. 2003; 22 (4): 296–302.
37. González-Ortiz M, Balcazar-Muñoz B, Mora-Martínez JM, Martínez-Abundis E. Efecto de un desayuno con alto contenido en grasa o en carbohidratos sobre el perfil de lípidos posprandial en individuos sanos con y sin antecedente familiar de diabetes mellitus tipo 2. *ALAN*. 2004; 54 (3).
38. Pasma WJ, Blokdiik VM, Bertina FM, Hopman WPM, Hendriks HFJ. Effect of two breakfasts, different in carbohydrate composition, on hunger and satiety and mood in healthy men. *International Journal of Obesity*. 2003; 27 (6): 663–668.
39. Frape DL, Williams NR, Rajput-Williams J, Maitland BW, Scriven AJ, Palmer CR, *et al.* Effect of breakfast fat content on glucose tolerance and risk factors of atherosclerosis and thrombosis. *Br J Nutr* 1998; 80:323–31.
40. Appel LJ, Sacks FM, Carey VJ, Obarzanek E, Swain JF, Miller, *et al.* Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the Omni Heart randomized trial. *JAMA*. 2005; 294: 2455–64.
41. Deshmukh-Taskar PR, Nicklas TA, O’Neil CE, Keast DR, Radcliffe JD, Cho S. The relationship of breakfast skipping and type of breakfast consumption with nutrient intake and weight status in children and adolescents: The National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2006. *J Am Diet Assoc*. 2010; 110: 869–878.
42. Odegaard AO, Jacobs DRJr, Steffen LM, Van Horn L, Ludwig DS, Pereira MA. Breakfast frequency and development of metabolic risk. *Diabetes care*. 2013; 36: 3100-6.
43. Mekary RA, Giovannucci E, Willett WC, van Dam RM, Hu FB. Eating patterns and type 2 diabetes risk in men: breakfast omission, eating frequency, and snacking. *Am J Clin Nutr*. 2012; 95: 1182–9.
44. Kobayashi F, Ogata H, Omi N, Nagasaka S, Yamaguchi S, Hibi M, *et al.* Effect of breakfast skipping on diurnal variation of energy metabolism and blood glucose. *Obes Res Clin Pract*. 2014; 8: e201-98.

45. Ogata H, Hatamoto Y, Goto Y, Tajiti E, Yoshimura E, Kiyono K, *et al.* Association between breakfast skipping and postprandial hyperglycaemia after lunch in healthy young individuals. *British Journal of Nutrition*. 2019; 122 (4): 431-440.
46. Deshmukh-Taskar P, Nicklas TA, Radcliffe JD, O'Neil CE, Liu Y. The relationship of breakfast skipping and type of breakfast consumed with overweight/obesity, abdominal obesity, other cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in young adults. *The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 1999-2006. Public Health Nutr.* 2013; 16 (11): 2073-82.
47. Monzani A, Ricotti R, Caputo M, Solito A, Archero F, Bellone S, *et al.* A Systematic Review of the Association of Skipping Breakfast with Weight and Cardiometabolic Risk Factors in Children and Adolescents. What Should We Better Investigate in the Future?. *Nutrients*. 2019; 11 (2):387.
48. FAO. Chapter 9: Coronary heart disease and lipoproteins. Disponible online: <http://www.fao.org/3/v4700e/V4700E0e.htm>
49. World Health Organization WHO. Effects of saturated fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a systematic review and regression analysis. Available online: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246104/9789241565349-eng.pdf;jsessionid=7633E1B8AF173C6E8D126D780E174DC9?sequence=1> (accessed on 02 October 2020).
50. Phan CT, Tso P. Intestinal lipid absorption and transport. *Frontiers in bioscience*. 2001: D299-319.
51. Kowdley KV. Lipids and lipid-activated vitamins in chronic cholestatic diseases. *Clin Liver Dis*. 1998; 2: 373-389.
52. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res*. 2008; 47: 348-380.
53. FAO/WHO. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. FAO food and nutrition paper 91. 2010. Disponible: <http://www.fao.org/docrep/013/i1953e/i1953e00.pdf>.
54. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, U.S.D.O.H.a.H.S., Washington, DC. Oficina de Impresión del Gobierno de los Estados Unidos. *Dietary Guidelines for Americans*, 2010.

55. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, Franklin B, Kris-Etherton P, Harris WS, Howard B, et al., Diet and lifestyle recommendations revision: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*. 2006; 114(1): 82-96.
56. Siri-Tarino PW, Sun Q, Hu FB, Krauss RM. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91(3): 535-46.
57. Seitz J, Ojima I. *Drug Conjugates with Polyunsaturated Fatty Acids*. Drug Delivery in Oncology Wiley-VCH. 2011; 3 (9).
58. Caballero R, Gómez, R, Núñez L, Vaquero M, Tamargo J, Delpón E. Farmacología de los ácidos grasos omega-3. *Revista Española de Cardiología*. 2006; 6: 3D-19D.
59. Valenzuela A, Morgado N. Trans fatty acid isomers in human health and in the food industry. *Biol Res*. 1999; 32: 273-87.
60. Koppe SWP, Elias M, Moseley RH, Green RM. Trans fat feeding results in higher serum alanine aminotransferase and increased insulin resistance compared with a standard murine high-fat diet. *Am J Physiol Gastrointest liver Physiol* 297. 2009: G378-G384.
61. Turley ML, Skeaff CM, Mann JI, Cox B. The effect of a low-fat, high-carbohydrate diet on serum high density lipoprotein cholesterol and triglyceride. *Eur J Clin Nutr*. 1998; 52: 728-32.
62. Mozaffarian D, Micha R, Wallace S. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS Med*. 2010; 7(3): e1000252.
63. Ramsden CE, Hibbeln JR, Majchrzak SF, Davis JM. n-6 fatty acid-specific and mixed polyunsaturate dietary interventions have different effects on CHD risk: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr*. 2010; 104: 1586-600.
64. Strayer D, Belcher M, Dawson T, Delaney B, Fine J, Flickinger B, et al. *Food fats and oils*. Washington, DC: Institute of Shortening and Edible Oils, Inc, 2006; 44.
65. Mente A, de Koning L, Shannon HS, Anand SS. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med*. 2009; 169: 659-69.

66. Wang DD, Li Y, Chiuve SE, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm EB, *et al.* Association of specific dietary fats with total and cause specific mortality. *JAMA Intern Med.* 2016; 176 (8): 1134-1145.
67. Li Y, Hruby A, Bernstein AM, Ley SH, Wang DD, Chiuve SE, *et al.* Saturated fats compared with unsaturated fats and Sources of Carbohydrates in Relation to Risk of Coronary Heart Disease: A Prospective Cohort Study. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 66 (14): 1538–1548.
68. Vetrivel U, Ravichandran SB, Kuppan K, Mohanlal J, Das UN, Narayanasamy A. Agonistic effect of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and its metabolites on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) through molecular docking simulation. *Lipids in health and disease* 11. 2012. 109.
69. Lawrence GD. Dietary fats and health: dietary recommendations in the context of scientific evidence. *Advances in nutrition.* 2013; 4(3): 294-302.
70. Zock PL, Katan MB. Linoleic acid intake and cancer risk: a review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68: 142–53.
71. Williams CD, Whitley BM, Hoyo C, Grant DJ, Iraggi JD, Newman KA, *et al.* A high ratio of dietary n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids is associated with increased risk of prostate cancer. *Nutr Res.* 2011; 31: 1–8.
72. Wirfält E, Mattisson I, Gullberg B, Olsson H, Berglund G. Fat from different foods show diverging relations with breast cancer risk in postmenopausal women. *Nutr Cancer.* 2005; 53: 135–43.
73. Wang D, Dubois RN. Eicosanoids and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2010; 10(1): 81–93.
74. Bougnoux P, Giraudeau B, Couet C. Diet, cancer, and the lipidome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15: 416–21.
75. Steinberg D. Thematic review series: the pathogenesis of atherosclerosis: an interpretive history of the cholesterol controversy, part III: mechanistically defining the role of hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2005; 46: 2037–51.
76. Mensink RP, Zock PL, Kester ADM, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2003; 77 (5): 1146– 1155.
77. Erkkila A, de Mello VD, Risérus U, Laaksonen DE. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: An epidemiological approach. *Prog Lipid Res.* 2008; 47: 172–187.

78. Feigin VL, Anderson CS, Mhurchu CN. Systemic inflammation, endothelial dysfunction, dietary fatty acids and micronutrients as risk factors for stroke: A selective review. *Cerebrovasc Dis.* 2002; 13: 219–224.
79. Iso H, Sato S, Umemura U, Kudo M, Koike K, Kitamura A, *et al.* Linoleic acid, other fatty acids, and the risk of stroke. *Stroke.* 2002; 33: 2086–2093.
80. Wiberg B, Sundström J, Ärnlöv J, Terént A, Vessby B, Zethelius B, *et al.* Metabolic risk factors for stroke and transient ischemic attacks in middle-aged men: A community-based study with long-term follow-up. *Stroke.* 2006; 37: 2898–2903.
81. Yamagashi K, Folsom AR, Steffen LM. Plasma fatty acid composition and incident ischemic stroke in middle-aged adults: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Cerebrovasc Dis.* 2013; 36(1): 38-46.
82. Risérus U, Willett WC, Hu FB. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res.* 2009; 48(1): 44-51.
83. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* 9. 2011; 48.
84. The EGIR-RISC STUDY (The European group for the study of insulin resistance: relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk): I. Methodology and Objectives. *Diabetology* 2004; 47 (3): 566-70.
85. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001; 285(19): 2486-97.
86. International Diabetes Federation (IDF). The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome, 2005. Disponible en: http://www.idf.org/webdata/docs/Metac_syndrome_def.pdf
87. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, *et al.* The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA.* 2002; 288: 2709–2716.
88. Ärnlöv J, Ingelsson E, Sundström J, Lind L. Impact of body mass index and the metabolic syndrome on the risk of cardiovascular disease and death in middle-aged men. *Circulation.* 2010; 121(2): 230-6.
89. Suzuki T, Hirata K, Elkind MS, Jin Z, Rundek T, Miyake Y, *et al.* Metabolic syndrome, endothelial dysfunction, and risk of cardiovascular events: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Am Heart J.* 2008; 156(2): 405-10.

90. Noda H, Iso H, Saito I, Konishi M, Inoue M, Tsugane S. JPHC Study Group. The impact of the metabolic syndrome and its components on the incidence of ischemic heart disease and stroke: the Japan public health center-based study. *Hypertens Res.* 2009; 32(4): 289-98.
91. Hutcheson R, Rocic P. The metabolic syndrome, oxidative stress, environment, and cardiovascular disease: the great exploration. *Exp Diabetes Res.* 2012; 2012: 271028.
92. Santaniemi M, Ukkola O, Malo E, Bloigu R, Kesäniemi YA. Metabolic syndrome in the prediction of cardiovascular events: The potential additive role of hsCRP and adiponectin. *Eur J Prev Cardiol.* 2014; 21 (10): 1242-8.
93. Reaven GM. Insulin resistance: the link between obesity and cardiovascular disease. *Med Clin North Am.* 2011; 95(5): 875-92.
94. Van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB: Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care.* 2002; 25: 417-424.
95. Feskens EJ, Virtanen SM, Rasanen L, Tuomilehto J, Stengard J, Pekkanen J, *et al.* Dietary factors determining diabetes and impaired glucose tolerance: a 20-year follow-up of the Finnish and Dutch cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetes Care.* 1995; 18: 1104-1112.
96. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *JAMA.* 2002; 287: 356-359.
97. Kasim-Karakas SE. Ethnic differences in the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71: 670-671.
98. Gimeno SGA, Ferreira SRG, Cardoso MA, Franco LJ, Hirai AT, Matsumura L, *et al.* Prevalence and 7-year incidence of Type II diabetes mellitus in a Japanese-Brazilian population: an alarming public health problem. *Diabetología.* 2002; 45: 1635-1638.
99. Ferreira SRG, Lerario DDG, Gimeno SGA, Sanudo A, Franco LJ. Obesity and central adiposity in Japanese immigrants: role of the Western dietary pattern. *J Epidemiol.* 2002; 12: 431-438.
100. Freire RD, Cardoso MA, Shinzato AR, Ferreira SRG. Nutritional status of Japanese-Brazilian subjects: comparison across gender and generation. *Br J Nutr.* 2003; 89:705-712.
101. Costa MB, Ferreira SRS, Franco LJ, Gimeno SGA, Iunes M. Dietary patterns in a high-risk population for glucose intolerance. *J Epidemiol.* 2000; 10: 111-117.

102. Marshall JA, Bessesen DH, Hamman RF. High saturated fat and low starch and fiber are associated with hyperinsulinemia in a non-diabetic population: the San Luis Valley Diabetes Study. *Diabetologia*. 2007; 40: 430–438.
103. Freire RD, Cardoso MA, Gimeno SGA, Ferreira SRG. Dietary fat is associated with metabolic syndrome in Japanese Brazilians. *Diabetes Care*. 2005. 28 (7): 1779-1785.
104. Van Deventer HE, Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP, *et al.* Non-HDL cholesterol shows improved accuracy for cardiovascular risk score classification compared to direct or calculated LDL cholesterol in a dyslipidemic population. *Clin. Chem* 2011; 57: 490–501.
105. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, *et al.* Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update from the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020; 76(25): 2982–3021.
106. Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring E. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B 100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA*. 2005; 294: 326–333.
107. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, Pedersen TR, LaRosa C, Nestel PJ, *et al.* Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: A meta-analysis. *JAMA*. 2012; 307: 1302–1309.
108. Parish S, Peto R, Palmer A, Clarke R, Lewington S, Ofori A, *et al.* The point effects of apolipoprotein B, apolipoprotein A1, LDL cholesterol, and HDL cholesterol on risk: 3510 cases of acute myocardial infarction and 9805 controls. *Eur hearth J*. 2009; 30: 2137–2146.
109. Chapman MJ, Orsoni A, Tan R, Mellett NA, Nguyen A, Robillard P, *et al.* LDL subclass lipidomics in atherogenic dyslipidemia: Effect of statin therapy on ioactive lipids and dense LDL. *J. Lipid Res*. 2020; 61: 911–932.
110. Albers J, Slee A, Fleg L, O'Brien KD, Marcovina SM. Relationship of baseline HDL subclasses, small dense LDL and LDL triglyceride to cardiovascular events in the AIM-HIGH clinical trial. *Atherosclerosis*. 2016; 251: 454–459.
111. Krauss RM. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol*. 2010; 21: 305–311.
112. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén, Andreotti F, Watts GF, *et al.* Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: Current status. *Eur Heart J*. 2010; 31: 2844–2853.

113. Ramsden CE, Zamora D, Majchrzak-Hong S, Faurot KR, Broste SK, Frantz RP, *et al.* Re-evaluation of the traditional diet-heart: analysis of recovered data from Minnesota Coronary experiment (1968–73). *BMJ*. 2016; 353: i1246.
114. Foster-Schubert KE, Alfano CM, Duggan CR, Xiao L, Campbell KL, Kong A, *et al.* Effect of diet and exercise, alone or combined, on weight and body composition in overweight-to-obese postmenopausal women. *Obesity* 2012; 20 (8): 1628–1638.
115. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005; 366: 1197–1209.
116. Krause RM, Winston M, Fletcher BJ, Grundy SM. Obesity. Impact on cardiovascular disease. *Circulation*. 1998; 98: 1472–1476.
117. de Jong PE, Verhave JC, Pinto-Sietsma SJ, Hillege HL. Prevent study group. Obesity and target organ damage: the kidney. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26 (4): S21–S24.
118. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and coronary atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105:2696–2698.
119. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006; 444: 875-880.
120. Zalesim KC, Franklin BA, Miller WM, Petersen ED, McCullough PA. Impact of obesity on cardiovascular disease. *Current atherosclerosis reports*. 2002; 37 (3): 663-684.
121. Pourier P, Eckel R. Obesity and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports*. 2002; 4: 448-453.
122. Wild SG, Roglic A, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004; 27 (5): 1047–1053.
123. Negrato CA, Dias JP, Teixeira MF, Días A, Salgado MH, Lauris JR, *et al.* Temporal trends in incidence of Type 1 diabetes between 1986 and 2006 in Brazil. *Journal of Endocrinology Investigation*. 2010; 33: 373–377.
124. Leon BM, Maddox TM. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World J Diabetes*. 2015; 6(13): 1246-1258.
125. Muhlestein JB, Anderson JL, Horne BD, Lavasani F, Allen-Maycock CA, Bair TL, *et al.* Effect of fasting glucose levels on mortality rate in patients with and without diabetes mellitus and coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J*. 2006; 146: 351–358.

126. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR, *et al.* Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*. 2003; 46(6): 760–765.
127. Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes statistics report: Estimates of diabetes and its burden in the United States, 2014. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; 2014.
128. Rivellese AA, Riccardi G, Vaccaro O. Cardiovascular risk in women with diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010; 20: 474–480.
129. Bulugahapitiya U, Siyambalapitiya S, Sithole J, Idris I. Is diabetes a coronary risk equivalent? Systematic review and meta-analysis. *Diabetic Medicine*. 2009; 26 (2): 142–148.
130. Matheus AS, Tannus LR, Cobas RA, Palma CC, Negrato CA, Gomes MB. Impact of diabetes on cardiovascular disease: an update. *Int J Hypertens*. 2013; 2013: 653-789.
131. Li YW, Aronow WS. Diabetes mellitus and cardiovascular disease. *J Clinic Experiment Cardiol*. 2011; 2: 2.
132. Desouza CV, Bolli GB, Fonseca V. Hypoglycemia, diabetes and cardiovascular events. *Diabetes care*. 2010; 33 (6): 1389-1394.
133. Fagot-Campagna A, Rolka DB, Beckles GL, Gregg EW, Narayan KM. Prevalence of lipid abnormalities, awareness, and treatment in US adults with diabetes [Abstract]. *Diabetes*. 2000; 49 (1): A78.
134. Rosenson RS. Clinical role of LDL and HDL subclasses and apolipoprotein measurement. *ACC Curr J Rev*. 2004: 33–37.
135. Dokken BB. The Pathophysiology of Cardiovascular Disease and Diabetes: Beyond Blood Pressure and Lipids. *Diabetes spectrum*. 2008; 21 (3): 160-165.
136. Shen GX. Lipid disorders in diabetes mellitus and current management. *Curr Pharm Analysis*. 2007; 3: 17 –24.
137. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Whelton PK, He J. Worldwide prevalence of hypertension a systematic review. *Journal of hypertension*. 2004; 22 (1): 11-19.
138. Tanira MOM, Balushi KAA. Genetic variations related to hypertension: a review. *Journal of human hypertension*. 2005; 19: 7-19.
139. Schiffrin E. SP 02-5 Do we need a new definition of hypertension? [Abstract]. *Journal of hypertension*. 2016; 34: e194.
140. Mackay J, Mensah G. High cardiac diseases and brain vascular accidents. Ginebra: WHO; 2004.

141. Van der Linden EL, Couwenhoven BN, Beune EJAJ, Daams JG, Van den Born BJH, Agyemang C. Hypertension awareness, treatment and control among ethnic minority populations in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hypertension*. 2021; 39 (2): 202-2013.
142. Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, *et al*. Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. *Circulation*. 2016; 134: 441-450.
143. Nguyen H, Odelola OA, Rangaswami J, Amanullah A. A Review of Nutritional Factors in Hypertension Management. *Int J of Hypertension*. 2013; 2013: 1-12.
144. Deibert P, König D, Vitolins MZ, Landmann U, Frey I, Zahradnik HP, *et al*. Effect of a weight loss intervention on anthropometric measures and metabolic risk factors in pre- versus postmenopausal women. *Nutr J*. 2007; 6: 31.
145. Caballero Sánchez M. Novo García E. Nadal Blanco MJ. Tratamiento hormonal sustitutivo en la prevención de cardiopatía isquémica en la menopausia. *Semergen*. 2004; 30: 391-6.
146. Lwow F, Jedrzejuk D, Dunajska K, Milewicz A, Szmigiero L. Cardiovascular disease risk factors associated with low level of physical activity in postmenopausal Polish women. *Gynecol Endocrinol*. 2013; 29(7): 683-6.
147. Santisteban Alba S. Atención integral a las mujeres de edad mediana. *Rev Cubana Obstet Ginecol*. 2011; 37: 251-70.
148. Arteaga U. Menopause and cardiovascular risk. *Rev Med Chile* 2016; 144: 1375-1376.
149. Sutton-Tyrrell K, Lassila, HC, Meilahn E, Bunker C, Matthews KA, Kuller LH. Carotid atherosclerosis in premenopausal and postmenopausal women and its association with risk factors measured after menopause. *Stroke*. 1998; 29:1116-21.
150. Lock M. Symptom reporting at menopause: a review of cross-cultural findings. *J Br Menopause Soc*. 2002; 8(4): 132-6.
151. Sumino H, Murakami M. Investigation of atherosclerosis in postmenopausal women: alteration of atherosclerosis-associated factors and vascular atherosclerosis by oral and transdermal estrogen replacement. *Rinsho Byori*. 2013; 61(3): 256-62.

152. Ross LA, Polotsky AJ. Metabolic correlates of menopause: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2012; 24(6): 402-7.
153. Van der Leeuw J, Wassink AM, Van der Graaf Y, Westerveld HE, Visseren FL. Age-related differences in abdominal fat distribution in premenopausal and postmenopausal women with cardiovascular disease. *Menopause.* 2013; 20(4): 409-17.
154. Gudmundsdottir SL, Flanders WD, Augestad LB. Physical activity and cardiovascular risk factors at menopause: The Nord-Trøndelag health study. *Climacteric.* 2013; 16(4): 438-46.
155. Jouyandeh Z, Nayebzadeh F, Qorbani M, Asadi M. Metabolic syndrome and menopause. *J Diabetes Metab Disord [abstract].* 2013; 12(1): 1.
156. Rosano GMC, Vitale C, Marazzi G, Volterrani M. Menopause and cardiovascular disease: the evidence, *Climacteric [abstract].* 2007; 10 (1): 19-24.
157. Cagnacci A, Cannoletta M, Palma F, Zanin R, Xholli A, Volpe A. Menopausal symptoms and risk factors for cardiovascular disease in postmenopause. *Climacteric.* 2011; 15 (2); 157-162.
158. Ambikairajah A, Walsh E, Cherbuin N. Lipid profile differences during menopause: a review with meta-analysis. *The Journal of the North American Menopause Society [abstract].* 2019; 26 (11): 1327-1333.
159. Gorodeski GI. Update on cardiovascular disease in post-menopausal women. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynecology.* 2002; 16 (3): 329-355.
160. Hayward RA, Krumholz HM, Zulman DM, Timbie JW, Vijan S. Optimizing statin treatment for primary prevention of coronary artery disease. *Ann Intern Med.* 2010; 152(2): 69-7720083825.
161. Corrales LC, Muñoz Ariza MM. Oxidative Stress: origin, evolution and consequences of oxygen toxicity. *Scielo.* 2012; 10 (18): 2013-225.
162. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews.* 2002; 82: 47-95.
163. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2007; 39: 44-84.
164. Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense system, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.* 2013; 46: 200-206.

165. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature. *Hypertension*. 2003; 42: 1075–1081.
166. Al-Gubory KH, Garrel C, Faure P, Sugino N. Roles of antioxidant enzymes in corpus luteum rescue from reactive oxygen species-induced oxidative stress. *Reproductive Biomedicine O*. 2012; 25: 551–560.
167. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanism of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1830; 2013: 3217–3266.
168. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*. 2007; 87: 315–424.
169. Bajorun T, Soobrattee MA, Luximon-Ramma V, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet Journal of Medical Update*. 2006; 1: 1–17.
170. Lobo V, Patil A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010; 4(8): 118–126.
171. Senoner T, Dichtl W. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Still a Therapeutic Target? *Nutrients*. 2019; 11 (9): 2090.
172. Korantzopoulos P, Kolettis TM, Galaris D, Goudevenos JA. The role of oxidative stress in the pathogenesis and perpetuation of atrial fibrillation. *Int. J Cardiol*. 2007; 115: 135–143.
173. Kalra EK. Nutraceutical-definition and introduction. *AAPS Pharm Sci*. 2003; 5: 27–28.
174. Biesalski HK, Grune T, Tinz J, Zöllner I, Blumberg JB. Reexamination of a meta-analysis of the effect of antioxidant supplementation on mortality and health in randomized trials. *Nutrients*. 2010; 2: 929–949.
175. Moldovan L, Moldovan NI. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and Cell Biology*. 2004; 122(4): 395–412.
176. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 360438.
177. Ostrea EM, Cepeda EE, Fleury, Cheryl A, Balun JE. Red Cell Membrane Lipid Peroxidation and Hemolysis Secondary to Phototherapy. *Acta Paediatrica*. 1985; 74 (3): 378–381.
178. Spitteller P, Kern W, Reiner J, Spitteller G. Aldehydic lipid peroxidation products derived from linoleic acid. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2001; 1531 (3): 188–208.

179. Rahul Saxena. Arthritis as a Disease of Aging and Changes in Antioxidant Status. *Aging: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. 2014: 49-59.
180. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, *et al.* Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometal*. 2010; 23: 927-940.
181. Bertin G, Averbeck D. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (review). *Biochimie*. 2006; 88 (11): 1549-59.
182. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 2002; 82 (1): 47-95.
183. Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, Tuteja R, Tuteja N. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Medical Science Monitor*. 2009; 15 (10): RA209-RA219.
184. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Free radical research*. 2006; 40 (12): 1250-1258.
185. Cecarini V, Gee J, Fioretti E, Amici M, Angeletti M, Eleuteri Am, *et al.* Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2007. 1773 (2): 93-104.
186. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*. 2003; 25: 207-218.
187. Calabrese V, Butterfield DA, Scapagnini G, Stella AM, Maines MD. Redox regulation of heat shock protein expression by signaling involving nitric oxide and carbon monoxide: relevance to brain aging, neurodegenerative disorders, and longevity. *Antioxid redox signal*. 2006; 8: 444-477.
188. Sohal RS. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free radical biology and medicine*. 2002; 33 (19): 37-44.
189. Alexander RW. Hypertension and the Pathogenesis of Atherosclerosis: Oxidative Stress and the Mediation of Arterial Inflammatory Response: A New Perspective. *Hypertension*. 1995; 25: 155-161.
190. Dreher D, Junod A. Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development. *European Journal of Cancer*. 1996; 32A: 30-38.
191. Harman D. The Aging Process. *Proc Natl Acad Sci*. 1981; 78: 7124-7128.
192. D'Autreaux B, Toledano MB. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007; 8: 813-824.

193. Salmon TB, Evert BA, Song B, Doetsch PW. Biological consequences of oxidative stress-induced DNA damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Research*. 2004; 32: 3712–3723.
194. Begley TJ, Samson LD. Network responses to DNA damaging agents. *DNA Repair*. 2004; 3:1123–1132.
195. Rodrigues-Pousada CA, Nevitt T, Menezes R, Azevedo D, Pereira J, Amaral C. Yeast activator proteins and stress response: an overview. *FEBS Letters*. 2004; 567:80–85.
196. Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*. 2010; 40 (2): 179-204.
197. Aguiar PH, Furtado C, Repoles BM, Ribeiro GA, Mendes IC, Peloso EF, *et al.* Oxidative stress and DNA lesions: the role of 8-oxoguanine lesions in *Trypanosoma cruzi* cell viability *PLoS Negl. Trop Dis*. 2013; 7(6): e2279.
198. Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*. 2012; 481(7381): 287-294.
199. Salehi F, Behboudi H, Kavooosi G, Ardestani SK. Oxidative DNA damage induced by ROS-modulating agents with the ability to target DNA: a comparison of the biological characteristics of citrus pectin and apple pectin. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 13902.
200. Shokolenko I, Venediktova N, Bochkareva A, Wilson GL, Alexeyev MF. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Research*. 2009; 37 (8): 2539-2548.
201. Nawrot B, Sochacka E, Döchler M. tRNA structural and functional changes induced by oxidative stress. *Cellular and molecular life Sci*. 2011. 68: 4023-4032.
202. Shan X, Chang Y, Lin CL. Messenger RNA oxidation is an early event preceding cell death and causes reduced protein expression. *FASEB J*. 2007; 21: 2753–2764.
203. Kong Q, Lin CL. Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2010; 67: 1817–1829.
204. Honda K, Smith MA, Zhu X, Baus D, Merrick WC, Tartakoff AM, *et al.* Ribosomal RNA in Alzheimer disease is oxidized by bound redox active iron. *J Biol Chem*. 2005; 280: 20978–20986.
205. Aas PA, Otterlei M, Falnes PO, Vagbo CB, Skorpen F, Akbari M, *et al.* Human and bacterial oxidative demethylases repair alkylation damage in both RNA and DNA. *Nature*. 2003; 421: 859–863.

206. WHO International Programme on Chemical Safety Biomarkers in Risk Assessment: Validity and Validation. 2001. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc222.htm>
207. Scola L, Giarratana RM, Torre S, Argano V, Lio D, Balistreri CR. On the Road to Accurate Biomarkers for Cardiometabolic Diseases by Integrating Precision and Gender Medicine Approaches. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (23): 6015.
208. Klop B, Elte JWF, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients.* 2013; 5: 1218–40.
209. Nelson RH. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Prim Care.* 2013; 40: 195–211.
210. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Merz CNB, Blum CB, Eckel RH, *et al.* ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2014; (63): 2889–934.
211. Jacobson TA, Ito MK, Maki KC, Orringer CE, Bays HE, Jones PH, *et al.* National Lipid Association recommendations for patient-centered management of dyslipidemia: part 1—full report. *J Clin Lipidol.* 2015; 9: 129–69.
212. Grundy SM, Arai H, Barter P, Bersot TP, Betteridge DJ, Carmena R, *et al.* An international atherosclerosis society position paper: global recommendations for the management of dyslipidemia-full report. *J Clin Lipidol.* 2014; 8: 29–60.
213. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, *et al.* Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J.* 2011; 32: 1345–61.
214. Tran-Dinh A, Diallo D, Delbosc S, Varela-Perez LM, Dang QB, Lapergue B, *et al.* Protección HDL y endotelial. *Br J Pharmacol.* 2013; 169: 493–511.
215. Tanaka S, Couret D, Tran-Dinh A, Duranteau J, Montravers P, Schwendeman A, *et al.* High-density lipoproteins during sepsis: from bench to bedside. *Crit Care.* 2020; 24: 134.
216. Madsen CM, Varbo A, Tybjaerg-Hansen A, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. U-shaped relationship of HDL and risk of infectious disease: two prospective population-based cohort studies. *Eur Heart J.* 2018; 39: 1181–90.

217. Canturk NZ, Canturk Z, Okay E, Yirmibesoglu O, Eraldemir B. Risk of nosocomial infections and effects of total cholesterol, HDL cholesterol in surgical patients. *Clin Nutr.* 2002; 21: 431–6.
218. Wang G, Zhang Q, Zhao X, Dong H, Wu Ch, Wu F, *et al.* Low high-density lipoprotein level is correlated with the severity of COVID-19 patients: an observational study. *Lipid and health disease.* 2020; 19(204).
219. Feingold KR. Introduction to lipids and lipoproteins. *Endotext* [Internet]. Última actualización 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>
220. Buttet M, Traynard V, Trang Tan TT, Besnard P, Poirier H, Niot I. From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: Role of intestinal lipid-binding proteins. *Biochimie.* 2014; 96: 37-47.
221. Cohn JS. Are we ready for a prospective study to investigate the role of chylomicrons in cardiovascular disease? *Atherosclerosis supplements.* 2008; 9 (2):15-18.
222. Packard C, Caslake M, Shepherd J. The role of small, dense low-density lipoprotein (LDL): a new look. *International Journal of cardiology.* 2000; 74 (1): S17-S22.
223. Burchardt P, Zurawski J, Zuchowski B, Kubacki T, Murawa D, Wiktorowicz K, *et al.* Low-density lipoprotein, its susceptibility to oxidation and the role of lipoprotein-associated phospholipases A2 and carboxyl ester lipase lipases in atherosclerotic plaque formation. *Arch Med Sci.* 2013; 9 (1): 151-158.
224. Dadvisson P, Hulthe J, Fagerberg B, Olsson BM, Hallberg C, Dahllof B, *et al.* A proteomic study of the apolipoproteins in LDL subclasses in patients with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: *J lipid Res.* 2005; 46 (9): 1999-2006.
225. Kontush A, Chapman M. Antiatherogenic small, dense HDL guardian angel of the arterial wall? *Cardiovascular Medicine.* 2006; 3: 144-153.
226. Yetukuri L, Söderlund S, Koivuniemi A, Seppänen-Laakso T, Niemelä PS, Hyvönen M, *et al.* Composition and lipid spatial distribution of HDL particles in subjects with low and high HDL-cholesterol. *J Lipid Res.* 2010; 51 (8): 2341–2351.
227. Gordon SM, Hofmann S, Askew DS, Davidson WS. High density lipoprotein: it's not just about lipid transport anymore. *Trends Endocrinol Metabolism.* 2011; 22(1): 9-15.

228. Peng YS, Chen YC, Tian YC, Yang CW, Lien M, Fang T, *et al.* Serum levels of apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein can predict organ failure in acute pancreatitis. *Crit. Care.* 2015; 19.
229. Yan G, Li L, Zhu B, Li Y. Lipidome in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2016; 7: 33429.
230. Klupczynska A, Plewa S, Kasprzyk M, Dyszkiewicz W, Kokot ZJ, Matysiak J. Serum lipidome screening in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Clin. Exp. Med.* 2019; 19, 505–513.
231. Gonzalo H, Brieva L, Tatzber F, Jové M, Cacabelos D, Cassanyé A, *et al.* Lipidome analysis in multiple sclerosis reveals protein lipoxidative damage as a potential pathogenic mechanism. *J Neurochem.* 2012; 123: 622–634.
232. Souto-Carneiro M, Tóth L, Behnisch R, Urbach K, Klika KD, Carvalho RA, *et al.* Differences in the serum metabolome and lipidome identify potential biomarkers for seronegative rheumatoid arthritis versus psoriatic arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2020; 79: 499–506.
233. Muggleton E, Muggleton T. LDL cholesterol consists of different subclasses, more precise diagnostics are required. *Heart.* 2019; 105: 1290.
234. Parra Pallarés S, Albaladejo Otón MD, Martínez Hernández P. Modificaciones cualitativas de las lipoproteínas. Implicaciones fisiopatológicas. *An Med Interna.* 2000; 17: 317-23.
235. Lamarche B, Lemieux I, Despres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab.* 1999; 25: 199–211.
236. Ohmura H, Mokuno H, Sawano M, Hatsumi C, Mitsugi Y, Watanabe Y, *et al.* Lipid compositional differences of small, dense low-density lipoprotein particle influence its oxidative susceptibility: possible implication of increased risk of coronary artery disease in subjects with phenotype B. *Metabolism.* 2002; 51: 1081–7.
237. Tribble DL, Rizzo M, Chait A, Lewis DM, Blanche PJ, Krauss RM. Enhanced oxidative susceptibility and reduced antioxidant content of metabolic precursors of small, dense low-density lipoproteins. *Am J Med.* 2001; 110:103–110.
238. Sancho-Rodríguez N, Avilés-Plaza F, Granero-Fernández E, Hernández-Martínez AM, Albaladejo-Otón MA, Martínez-Hernández PM, *et al.* Observational study of lipid profile and LDL particle size in patients with metabolic syndrome. *Lipid salud di.* 2011; 10:162.

239. Carmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation*. 2004; 109:23 Suppl 1: III2-7.
240. Berneis K, Rizzo M. LDL size: does it matter? *Swiss Med Week*. 2004; 134:720-4.
241. Berneis K, Krauss RM. Metabolic origins, and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 2002; 43: 1363-79.
242. Rizzo M, Barbagallo CM, Severino M, Polizzi F, Onorato F, Noto D, *et al*. Low-density-lipoprotein peak particle size in a Mediterranean population. *Eur J Clin Invest*. 2003; 33: 126-33.
243. Movva R, Rader D. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clinical Chemistry*. 2008; 54: 788-800.
244. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. High-density lipoprotein subfractions-What the clinicians need to know. *Cardiology*. 2013; 124: 116-125.
245. Camont L, Chapman MJ, Kontush A. Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. *Trends Mol Med*. 2011; 17: 594-603.
246. Norata GD, Pirillo A, Ammirati E, Catapano AL. Emerging role of high-density lipoproteins as a player in the immune system. *Atherosclerosis*. 2012; 220: 11-21.
247. Drew BG, Rye KA, Duffy SJ, Barter P, King-well BA. The emerging role of HDL in glucose metabolism. *Nat Rev Endocrinol*. 2012; 8: 237-245.
248. Superko HR, Pendyala L, Williams PT, Momary KM, King SB, Garret BC. High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease. *Journal of clinical lipidology*. 2012; 6 (6):496-523.
249. Nordestgaard BG, Langsted A. Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *J Lipid Res*. 2016; 57 (11): 1953-1975.
250. Fepreva.org [internet]. Buenos Aires: Fepreva; 2012. Disponible en: http://www.fepreva.org/curso/5to_curso/bibliografia/volumen3/vol3_6.pdf
251. Haghikia A, Landmesser U. Effects of apolipoprotein A-I/High-density lipoprotein cholesterol on atherosclerotic vascular disease. *JACC Basic Transl Sci*. 2018; 3 (2): 210-212.
252. Florvall G, Basu S, Larsson A. Apolipoprotein A1 Is a Stronger Prognostic Marker Than Are HDL and LDL Cholesterol for Cardiovascular Disease and Mortality in Elderly Men. *The Journal of gerontology*. 2006; 61(12): 1262-1266.

253. Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R. Estimación del riesgo coronario en España mediante la ecuación de Framingham calibrada. *Rev Esp Cardiol.* 2003; 56(03): 253-61.
254. Maiga SF, Kalopissis AD, Chabert M. Apolipoprotein A-II is a key regulatory factor of HDL metabolism as appears from studies with transgenic animal and clinical outcomes. *Biochemie.* 2014; 96: 56-66.
255. Chan DC, NG TWK, Watts GF. Apolipoprotein A-II: Evaluating its significance in dyslipidemia, insulin resistance, and atherosclerosis. *Annals of medicine.* 2012; 4: 313-324.
256. Olsen T, Vinknes KJ, Svingen GFT, Pedersen ER, Tell Gs, Blomhoff R, *et al.* Cardiovascular disease risk associated with serum apolipoprotein B is modified by serum vitamin A. *Atherosclerosis.* 2017; 265, 325–330.
257. Birjmohun RS, Dallinga-Thie GM, Kuivenhoven JA, Stroes ESG, Otvos JD, Wareham NJ, *et al.* Apolipoprotein A-II Is Inversely Associated with Risk of Future Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2007; 116: 2029-2035.
258. Wang F, Kohan AB, Lo CM, Liu M, Howles P, Tso P. Apolipoprotein A-IV: a protein intimately involved in metabolism. *J Lipid Res.* 2015; 56: 1403-1418.
259. Hubacek JA. Apolipoprotein A5 fifteen years anniversary: lessons from genetic epidemiology. *Gene.* 2016; 592: 193-199.
260. Mangat R, Su J, Russell JC, Vine DF, Proctor SD. Chylomicron and apoB48 metabolism in the JCR:LA corpulent rat, a model for the metabolic syndrome. *Biochem Soc Trans.* 2007; 35 (3): 477-481.
261. Borén J, Williams KJ: The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein B containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity. *Curr Opin Lipidol.* 2016; 27 (5): 473–83.
262. Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO, *et al.* Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis.* 2017; 267: 49–60.
263. Ramms B, Gordts P. Apolipoprotein C-III in triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2018; 29: 171-179.
264. Okubo M, Toromanovic A, Ebara T, Murase T. Apolipoprotein C-II Tuzla: A novel large deletion in APOC2 caused by Alu-Alu homologous recombination in an infant with apolipoprotein C-II deficiency. *Clinica Chimia Acta.* 2015; 1(438): 148-153.

265. Taskinen MR, Boren J. Why is apolipoprotein CIII emerging as a novel therapeutic target to reduce the burden of cardiovascular disease? *Curr Atheroscler Rep.* 2016; 18: 59.
266. Ooi EMM, Barrett PHR, Chan DC, Watts GF. Apolipoprotein C-III: understanding an emerging cardiovascular risk factor. *Clin Sci.* 2008; 114, 611–624.
267. Mahley RW. Apolipoproteína E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders. *J Mol Med (Berl).* 2016; 94: 739–746.
268. Erqou S, Thompson A, Di AE, Saleheen D, Kaptoge S, Marcovina S, *et al.* Apolipoprotein (a) isoforms and the risk of vascular disease: systematic review of 40 studies involving 58.000 participants. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 55: 2160–2167.
269. Lind L. Apolipoprotein B/A1 and risk of cardiovascular disease. *Lancet.* 2008; 372(9634): 185-6.
270. Reynoso-Villalpando GL, Sevillano-Collantes C, Vallea Y, Moreno-Ruiz I, Padilla-Gutiérrez JR, del Cañizo-Gómez FJ. ApoB/ApoA1 ratio and non-HDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio are associated to metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus subjects and to ischemic cardiomyopathy in diabetic women. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2019; 66(8): 502-511.
271. Xu W, Li R, Zhang S, Gong L, Wang Z, Ren W. The relationship between high-sensitivity C-reactive protein and ApoB, ApoB/ApoA1 ratio in general population of China. *Endocrine.* 2012; 42: 132-138.
272. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy – a review of the evidence. *J Intern Med.* 2006; 259: 493-519.
273. Paoletti R, Gotto AM Jr, Hajjar DP: Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. *Circulation.* 2004; 15:20-26.
274. Posnett DN, Yarilin D: Amplification of autoimmune disease by infection. *Arthritis Res Ther.* 2005; 7:74-84.
275. Wong SH, Lord JM: Factors underlying chronic inflammation in rheumatoid arthritis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2004; 52: 379-388.
276. Carroll MC: A protective role for innate immunity in systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Immunol.* 2004; 4: 825-831.
277. Danese S, Sans M, Fiocchi C: Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. *Autoimmun Rev.* 2004; 3: 394-400.

278. Campos FG, Waitzberg DL, Teixeira MG, Mucerino DR, Kiss DR, Habr-Gama A: Pharmacological nutrition in inflammatory bowel diseases. *Nutr Hosp.* 2003; 18:57-64.
279. Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in Inflammatory Disease. *International Journal Molecular Science.* 2019; 20 (23): 6008.
280. Leonard WJ, Lin J-X, O'Shea JJ. The γ c Family of Cytokines: Basic Biology to Therapeutic Ramifications. *Immunity.* 2019; 50(4): 832-850.
281. Liao W, Lin JX, Leonard WJ. Interleukin-2 at the crossroads of effect or responses, tolerance, and immunotherapy *Immunity.* 2013; 38: 13-25.
282. Harrison OJ, Linehan JL, Shih HY, Bouladoux N, Han SJ, Smelkinson M, *et al.* Commensal-specific T cell plasticity promotes rapid tissue adaptation to injury *Science.* 2019; 363: eaat6280.
283. Mazzucchelli R, Hixon JA, Spolski R, Chen X, Li WQ, Hall VL, *et al.* Development of regulatory T cells requires IL-7/Ralpha stimulation by IL-7 or TSLP. *Blood.* 2008; 112: 3283-3292.
284. Maes M, Kubera M, Leunis JC, Berk M. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: Further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *Journal of Affective Disorders.* 2012; 141: 55-62.
285. Lu Y, Hong S, Li H, Park J, Hong B, Wang L, *et al.* Th9 cells promote antitumor immune responses in vivo *J. Clin. Invest.* 2012; 122: 4160-4171.
286. Townsend JM, Fallon GP, Matthews JD, Smith P, Jolin EH, McKenzie NA. IL-9-deficient mice establish fundamental roles for IL-9 in pulmonary mastocytosis and goblet cell hyperplasia but not T cell development *Immunity.* 2000; 13: 573-583.
287. Jordan SC, Choi J, Kim I, Wu G, Toyoda M, Shin B, *et al.* Interleukin-6, A Cytokine Critical to Mediation of Inflammation, Autoimmunity and Allograft Rejection. *Transplantation.* 2017; 101 (1): 32-44.
288. Weisberg SP. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112: 1796-1808.
289. Moghbeli M, Khedmatgozarb H, Yadegarib M, Avanbc A, Gordon A, Majid F, *et al.* Chapter Five - Cytokines and the immune response in obesity-related disorders. *Advances in Clinical Chemistry.* 2021; 101: 135-168.
290. Doll DN, Barr TL, Simpkins JW. Cytokines: Their Role in Stroke and Potential Use as Biomarkers and Therapeutic Targets. *Aging Dis.* 2014; 5(5): 294-306.

291. Pawluk H, Woźniak A, Grzešk G, Kołodziejska R, Kozakiewicz M, Kopkowska E, *et al.* The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke. *Clin Interv Aging*. 2020; 15:469-484.
292. Uelandad T, Gullestad L, Nymo SH, Yndestad A, Aukrust P, Askevold ET. Inflammatory cytokines as biomarkers in heart failure. *Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemist*. 2014; 443 (30): 71-77.
293. Armstrong E, Morrow D, Sabatine M. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes. I: Introduction and cytokines. *Circulation*. 2006; 113: e72-e75.
294. Ridker PM. Clinical application of C-Reactive Protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003; 107: 363-369.
295. Folsom AR, Chambless LE, Ballantyne CM, Coresh J, Heiss G, Wu KK, *et al.* An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the atherosclerosis risk in communities study. *Arch Intern Med*. 2006; 166: 1368–1373.
296. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003; 111: 1805-1812.
297. Chang MK, Binder CJ, Torzewski M, Witztum JL. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 13043-13048.
298. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32:2045–51.
299. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, *et al.* Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*. 2003; 107: 671-677.
300. Prieto MF, Kilstein J, Bagilet D, Pezzottob SM. C-Reactive protein as a marker of mortality in intensive care unit. *Med Intensive*. 2008; 32(9):424-30.
301. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003; 111: 1805-1812.
302. de Lemos JA, Lloyd-Jones DM. Multiple biomarker panels for cardiovascular risk assessment. *N Engl J Med*. 2008; 358: 2172–2174.
303. Ho E, Galougahi KK, Liu CH, Bhindi R, Figtree G. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox biology*. 2013; 1 (1): 483-491.

304. Lowe F. Biomarkers of oxidative stress. *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Berlin: Springer-Verlag Heidelberg. 2014; 65-87.
305. Milne GL, Dai Q, Roberts LJ. The isoprostanes--25 years later. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1851: 433-445.
306. Mañon Rossi W, Garrido G, Núñez Sellés AJ. Biomarkers of oxidative stress in antioxidant therapy. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. 2016; 4(2): 62-83.
307. Morillas-Ruiz JM, Villegas García JA, López FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clin Nutr*. 2006;25(3):444-53.
308. Puchades Montesa MJ, González Rico MA, Solís Salguero MA, Torregrosa Maicas I, Tormos Muñoz MC, Sáez Tormo G, *et al*. Estudio del estrés oxidativo en enfermedad renal avanzada. *Nefrología*. 2009; 29 (5): :464-473.
309. Rubio-Perez JM, Albaladejo MD, Zafrilla P, Vidal-Guevara ML, Morillas-Ruiz JM. Effects of an antioxidant beverage on biomarkers of oxidative stress in Alzheimer's patients. *Eur J Nutr*. 2016; 55, 2105-2116.
310. Bauer J, Ripperger A, Frantz S, Ergün S, Schwedhelm E, Benndorf RA. Pathophysiology of isoprostanes in the cardiovascular system: Implications of isoprostane-mediated thromboxane A2 receptor activation. *Br J Pharmacol*. 2014; 171: 3115-3131.
311. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000; 28: 1685-1696.
312. Slatter DA, Bolton CH, Bailey AJ. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases *Free Radical Biology and Medicine*. 2000; 28: 1685-1696.
313. Duncan MW. A review of approaches to the analysis of 3-nitrotyrosine. *Amino Acids*. 2003; 25: 351-361.
314. Winczura A, Zdżalik D, Tudek B. Damage of DNA and proteins by major lipid peroxidation products in genome stability. *Free Radic Res*. 2012; 46: 442-459.
315. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Europe PMC*. 2004; 57 (9-10): 453-455.
316. Schopfer FJ, Baker PR, Freeman BA. NO-dependent protein nitration: a cell signaling event or an oxidative inflammatory response? *Trends in Biochemical Sciences*. 2003; 28: 646-654.
317. Peluffo G, Radi R. Biochemistry of protein tyrosine nitration in cardiovascular pathology. *Cardiovascular Research*. 2007; 75: 291-302.

318. Lokuta AJ, Maertz NA, Meethal SV, Potter KT, Kamp TJ, Valdivia HH, *et al.* Increased nitration of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in human heart failure. *Circulation*. 2005; 111: 988-995.
319. Pennathur S, Bergt C, Shao B, Byun J, Kassim SY, Singh P, *et al.* Human atherosclerotic intima and blood of patients with established coronary artery disease contain high density lipoprotein damaged by reactive nitrogen species. *Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279: 42977-42983.
320. Tetik S, Kiliç A, Aksoy H, Rizaner N, Ahmad S, Yardimci T. Oxidative stress causes plasma protein modification. *Indian J Exp Biol*. 2015; 53(1): 25-30.
321. Levine RL, Wehr N, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Determination of carbonyl groups in oxidized proteins. *Stress Response*. Humana Press. 2000; 15-24.
322. Adachi T, Weisbrod RM, Pimentel DR, Ying J, Sharov V.S, Schoneich C, *et al.* S-Glutathiolation by peroxynitrite activates SERCA during arterial relaxation by nitric oxide *Nature Medicine*. 2004; 10: 1200-1207.
323. Chen CA, Wang TY, Varadharaj S, Reyes LA, Hemann C, Talukder MA, *et al.* S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function *Nature*. 2010; 468: 1115-1118.
324. Aracena-Parks P, Goonasekera SA, Gilman CP, Dirksen RT, Hidalgo C, Hamilton SL. Identification of cysteines involved in S-nitrosylation, S-glutathionylation, and oxidation to disulfides in ryanodine receptor type 1. *Journal of Biological Chemistry*. 2006; 281: 40354-40368.
325. Figtree GA, Keyvan KG, Liu CC, Rasmussen HH. Oxidative regulation of the Na(+)-K(+) pump in the cardiovascular system *Free Radical Biology and Medicine*. 2012; 53: 2263-2268.
326. Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47:1329-1338.
327. Turell L, Zeida A, Trujillo M. Mechanisms and consequences of protein cysteine oxidation: the role of the initial short-lived intermediates. *Essays Biochem*. 2020; 64 (1): 55–66.
328. Moran LK, Gutteridge J, Quinlan GJ. Thiols in cellular redox signalling and control. *Curr Med Chem*. 2001; 8:763-772.
329. Ballatori N, Krance SM, Notenboom S, Shi S, Tieu K, Hammond CL. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol Chem*. 2009; 390: 191-214.

330. Montezano AC, Dulak-Lis M, Tsiropoulou S, Harvey A, Briones AM, Touyz RM. Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. *Can J Cardiol*. 2015; 31(5): 631-641.
331. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*. 2003;17(10): 1195-214.
332. Kroese LJ, Scheffer PG. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and cardiovascular disease: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep*. 2014; 16: 452.
333. Mariani E, Polidori MC, Cherubini A, Mecocci, P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005; 827: 65-75.
334. Ramirez DC, Gomez-Mejiba SE, Mason RP. Immuno-spin trapping analyses of DNA radicals. *Nat Protoc*. 2007; 2(3):512-522.
335. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. *Alexandria Journal of medicine*. 2018; 54 (4): 287-293.
336. Dringen R, Pawlowski PG, Hirrlinger J. Peroxide detoxification by brain cells. *J Neurosci Res*. 2005; 79: 157-165.
337. Karuppanapandian T, Moon JC, Kim C, Manoharan K, Kim W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms *Aust J Crop Sci*. 2011; 5: 709.
338. Aliciguzel Y, Ozen I, Aslan M, Karayalcin U. Activities of xanthine oxidoreductase and antioxidant enzymes in different tissues of diabetic rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2003; 142 (3): 172-177.
339. Góth L, Rass P, Páy A. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Mol Diagn*. 2004; 8: 141-149.
340. Fredenburgh LE, Merz AA, Cheng S. Haeme oxygenase signalling pathway: implications for cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2015; 36(24): 1512-1518.
341. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification [Review]. *Clin Chim Acta*. 2003; 333: 19-39.
342. Radi R, Denicola A, Alvarez B, Ferrer-Sueta G, Rubbo H. The biological chemistry of peroxynitrite. *Nitric oxide*. 2000: 57-82.
343. Fitzpatrick FA. Cyclooxygenase enzymes: regulation and function. *Curr Pharm Des*. 2004; 10(6): 577-88.

344. Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meetsubiquitination: The control of NF- κ B activity. *Ann Rev Immunol*. 2000; 18: 621–663.
345. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *J Indian Med Assoc*. 2000;107(6):403-5.
346. Lower Hutt. International standards for anthropometric assessment, ISAK manual. international society for the advancement of kinanthropometry (ISAK). 2011.
347. Stewart A, Marfell-Jones M, Olds T, de Ridder H. Protocolo internacional para la valoración antropométrica. United Kingdom: Sociedad internacional para el avance de la cineantropometría; 2011. 116 p.
348. Sociedad española para el estudio de la obesidad. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Rev Esp Obes*. 2007; 7-48.
349. Lenfant C, Chobanian AV, Jones DW, Roccella EJ. Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Seventh report of the Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7): resetting the hypertension sails. *Hypertens Dallas Tex*. 2003; 41(6): 1178-9.
350. Consenso SEEDO para la evaluación del sobrepeso y la obesidad. Sociedad Española para el estudio de la obesidad (SEEDO). *Med Clin. (Barcel)* 2000; 115: 587-597.
351. Despres JP, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, *et al*. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28 (6): 1039-49.
352. Fogelholm M, Malmberg J, Suni J, Santtila M, Kyrolainen H, Mantysaari M. Waist circumference and BMI are independently associated with the variation of cardio-respiratory and neuromuscular fitness in young adult men. *Int J Obes (Lond)*. 2006; 30 (6): 962-9.
353. Han TS, Lean MEJ. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM Cardiovasc Dis*. 2016; 5: 1-13.
354. Servicio Murciano de Salud de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (SMS CARM). Valores referencia de parámetros bioquímicos sanguíneos.

355. Gómez M, Valle V, Arós F, Sanz G, Sala J, Fiol M, *et al.* LDL oxidada, lipoproteína (a) y otros factores de riesgo emergentes en el infarto agudo de miocardio (estudio FORTIAM). *Rev Esp Cardiol.* 2009; 62 (4): 373-382.
356. Vidal B, Roig E, Pérez-Villa F, Orús J, Pérez J, Leivas A, *et al.* Prognostic value of cytokines and neurohormones in severe heart failure. *Rev Esp Cardiol.* 2002; 55(5): 481-486.
357. Martí L, Gatell-Artigas JM, Filella X, Marín JL, Moreno Camacho A, Sánchez Sánchez M. Valor de las citoquinas proinflamatorias como factor de predicción de sepsis y mortalidad en el anciano con fiebre. *Medicina clínica* ISSN. 2003. 121(10): 361-366.
358. Yuan-Jian S, Shan-Shan X, Xue-Jing L, Jin-Ling L, Xue-Feng X. Low birth weight contributed to increased serum IL-6 levels in infantile respiratory syncytial virus infection. *BMC pediatrics.* 2017; 17: 205.
359. Kleiner G, Marcuzzi A, Zanin V, Monasta L, Zauli G. Cytokine Levels in the Serum of Healthy Subjects. *Mediators of inflammation.* 2013; 2013: 6p.
360. Gonzalez I, Casanova C, Escobar C, García A, Peraira JR, Prieto E, *et al.* Enfermedad cardiovascular y función renal. Mecanismos patogénicos. *Revista española de cardiología.* 2008; 8 (E): 10e-21e.
361. Gonzalez-Juanatey JR. Riñón y enfermedad cardiaca. *SESCA.* 2007.
362. AESAN 2019. INR. Disponible en:
https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/INR.pdf
363. WHO Regional Office for Europe. Health-for-All Database (HFA-DB). Copenhagen, WHO Regional Office for Europe 2007. Disponible en:
<http://www.euro.who.int/hfad>
364. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal.* 2010; (8): 1462.
365. Merchant AT, Vatanparast H, Barlas S, Dehghan M, Mahboob S, de Koning L, Steck SE. Carbohydrate Intake and Overweight and Obesity among Healthy Adults. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109(7): 1165-1172.
366. Aranda P, Aparicio VA. Proteins in: Libro Blanco de la Nutrición en España. Fundación Española de Nutrición (FEN). 2013: 125-34.
367. Recomendaciones nutricionales basadas en la evidencia para la prevención y el tratamiento del sobrepeso y la obesidad en adultos (Consenso FESNAD SEEDO). *Revista Española de Obesidad,* 2011; 9 (1): 1-78.

368. Pérez-Llamas F, Carbajal A, Martínez C, Zamora S. Concepto de dieta prudente. Dieta mediterránea. Ingestas recomendadas. Objetivos nutricionales. Guías alimentarias. En Manual práctico de Nutrición y Salud. Carbajal A & Martínez C, eds. Madrid: Exlibris Ediciones S.L. 2012: 65-81.
369. Beltrán B, Carbajal A, Moreiras O. Cambios en la ingesta de energía, macronutrientes, fibra y alcohol asociados al envejecimiento. Estudio longitudinal SENECA en España. *Rev Esp Geriatria y Gerontología*. 1999; 34(2): 78-85.
370. WHO/FAO. Vitamins and mineral requirements in human nutrition. Disponible en:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42716/9241546123.pdf;jsessionid=7889181F6E4186C0F35EED94BE377FCB?sequence=1>
371. FAO/WHO: Human vitamin and mineral requirements. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Bangkok, Thailand. Rome. Disponible: <http://www.fao.org/docrep/004/y2809e/y2809e00.htm>, 2002
372. Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B, Pogue J, Qilong Y, Zinman B, *et al*. Effects of Vitamin E on Cardiovascular and Microvascular Outcomes in High-Risk Patients With Diabetes. *Diabetes care*. 2002; 25 (11): 1919-1927.
373. Lenighan YM, McNulty BA, Roche HM. Dietary fat composition: replacement of saturated fatty acids with PUFA as a public health strategy, with an emphasis on α -linolenic acid. *Proc Nutr Soc*. 2019; 78(2):234-245.
374. Mattson FH, Grundy SM. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal of lipid research*. 1985; 26(2): 194-202.
375. Pelkman CI, Fishel VK, Maddox DH, Pearson TA, Mauger DT, Kris-Etherton PM. Effects of moderate-fat (from monounsaturated fat) and low-fat weight-loss diets on the serum lipid profile in overweight and obese men and women. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79(2): 202-12.
376. SEA. Guía clínica para la detección, diagnóstico y tratamiento de la DISLIPEMIA ATEROGÉNICA. Disponible en: https://irp-cdn.multiscreensite.com/789c52f8/files/uploaded/dislipemia_v3_aaff_baja.pdf
377. Bray MS, Tsai JY, Villegas-Montoya C, Boland BB, Blasier Z, Egbejimi O, *et al*. Time-of-day-dependent dietary fat consumption influences multiple cardiometabolic syndrome parameters in mice. *Int J Obesity*. 2010; 34(11): 1589–1598.

378. Chen M, Li Y, Sun Q, Pan A, Manson E, Rexrode KM, *et al.* Dairy fat and risk of cardiovascular disease in 3 cohorts of US adults. *Am. Clin. Nutr.* 2016; 104: 1209–1217.
379. Mensink RP. Effects of Saturated Fatty acids on Serum Lipids and Lipoproteins: Systematic review and regression analysis; World Health Organization: Maastricht, The Netherlands. 2016: 1–63. ISBN 978-92-4-156534-9.
380. Yao Y, Pek SX, Toh DWK, Xia X, Kim E. Effects of fatty acids composition in a breakfast meal on the postprandial lipid responses: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int Food Sci Nutr.* 2020; 71(7): 793-803.
381. Vinagre Cg, Freitas FR, de Mesquita CH, Vinagre JC, Mariani AC, Kalil-Filho R, *et al.* Removal of chylomicron remnants from the bloodstream is delayed in aged subjects. *Aging and disease.* 2018; 9(4): 748-754.
382. Milan AM, Nuora A, Pundir S, Pileggi CA, Markworth F, Linderborg, KM, *et al.* Older adults have an altered chylomicron response to a high-fat meal. *British Journal of Nutrition.* 2016. 115 (5): 791-799
383. Aneni EC, Osondu CU, De La Cruz J, Martin SS, Blaha MJ, Younus A, *et al.* Lipoprotein sub-fractions by ion-mobility analysis and its association with subclinical coronary atherosclerosis in high-risk individuals. *J atheroscler. Thromb.* 2019; 26: 50–63.
384. Gagliardi ACM, Maranhão RC, Sousa HPD, Schaefer EJ, Santos RD. Effects of margarines and butter consumption on lipid profiles, inflammation markers and lipid transfer to HDL particles in free-living subjects with the metabolic syndrome. *Eur Clin Nutr.* 2010; 64: 1141–1149.
385. Walldius G, Ungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): A prospective study. *Lancet.* 2001, 358, 2026–2033.
386. Maïga SF, Kalopissis AD, Chabert M. Apolipoprotein A-II is a key regulatory factor of HDL metabolism as appears from studies with transgenic animals and clinical outcomes. *Biochimie.* 2014; 96: 56–66.
387. Julve J, Escolà-Gil C, Rotllan N, Fiévet C, Vallez E, De La Torre C, *et al.* Human apolipoprotein A-II determines plasma triglycerides by regulating lipoprotein lipase activity and high-density lipoprotein proteome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30: 232–238.

388. Morillas-Ruiz M, Delgado-Alarcon M, Rubio-Perez M, Albaladejo-Otón MD. The type of fat ingested at breakfast influences the plasma lipid profile of postmenopausal women. *Biomed Res Int*. 2014; 2014:815915.
389. Delgado-Alarcón JM, Hernandez-Morante JJ, Avilés FV, Albaladejo-Otón MD, Morillas-Ruiz JM. Effect of the Fat Eaten at Breakfast on Lipid Metabolism: A Crossover Trial in Women with Cardiovascular Risk. *Nutrients*. 2020; 12 (6): 1695.
390. Packard CJ. Small dense low-density lipoprotein and its role as an independent predictor of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2006; 17: 412–417.
391. Merkel M, Velez-Carrasco W, Hudgins LC, Breslow L. Compared with saturated fatty acids, dietary monounsaturated fatty acids and carbohydrates increase atherosclerosis and VLDL cholesterol levels in LDL receptor-deficient, but not apolipoprotein E-deficient, mice. *Proc Natl Acad Sci*. 2001; 98: 13294–13299.
392. Ito K, Yoshida H, Yanai H, Kurosawa H, Sato R, Manita D, *et al*. Relevance of intermediate-density lipoprotein cholesterol to Framingham risk score of coronary heart disease in middle-aged men with increased non-HDL cholesterol. *Int Cardiol*. 2013; 168: 3853–3858.
393. Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *QJM*. 2006; 99: 1–14.
394. Vecka M, Dušejovská M, Stankova B, Zeman M, Vavrova L, Kodydkova J, *et al*. N-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. *Neuro Endocrinol*. 2012; 33: 87–92.
395. Guay V, Lamarche B, Charest A, Tremblay AJ, Couture P. Effect of short-term low- and high-fat diets on low-density lipoprotein particle size in normolipidemic subjects. *Metab Clin Exp*. 2012; 61: 76–83.
396. Vessby B, Gustafsson IB, Tengblad S, Boberg M, Andersson A. Desaturation and elongation of Fatty acids and insulin action. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 967: 183–195.
397. Micallef MA, Garg ML. Anti-inflammatory and cardioprotective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids and plant sterols in hyperlipidemic individuals. *Atherosclerosis*. 2009; 204: 476–482.
398. DeBoer MD. Obesity, systemic inflammation, and increased risk for cardiovascular disease and diabetes among adolescents: a need for screening tools to target interventions. *Nutrition*. 2013; 29: 379–386.

399. Santos S, Oliveira A, Casal S, Lopes C. Saturated fatty acids intake in relation to C-reactive protein, adiponectin, and leptin: A population-based study. *Nutrition*. 2013; 29: 892–897.
400. Marcus J, Sarnak MJ, Menon V. Homocysteine lowering and cardiovascular disease risk: lost in translation. *Can J Cardiol*. 2007; 23: 707-710.
401. Berstad P, Konstantinova SV, Refsum H, Nurk E, Vollset SE, Tell GS, *et al*. Dietary fat and plasma total homocysteine concentrations in 2 adult age groups: the Hordalan Homocysteine Study. *Am J Clin Nutrition*. 2007; 85 (6): 1598-1605.
402. de Bree A, Mennen LI, Hercberg S, Galan P. Evidence for a protective (synergistic?) effect of B-vitamins and omega-3 fatty acids on cardiovascular diseases. *Eur J Clin Nutr*. 2004; 58: 732–44.
403. Oshaug A, Bugge KH, Refsum H. Diet, an independent determinant for plasma total homocysteine. A cross sectional study of Norwegian workers on platforms in the North Sea. *Eur J Clin Nutr*. 1998; 52: 7–11.
404. Villegas R, Salim A, Collins MM, Flynn A, Perry IJ. Dietary patterns in middle-aged Irish men and women defined by cluster analysis. *Public Health Nutr*. 2004; 7: 1017–24.
405. Noga AA, Stead LM, Zhao Y, Brosnan ME, Brosnan JT, Vance DE. Plasma homocysteine is regulated by phospholipid methylation. *J Biol Chem*. 2003; 278: 5952–5.
406. De BA, Verschuren Wm, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev*. 2002; 54: 599-618.
407. Perna AF, Ingrosso D, De Santo NG. Homocysteine and oxidative stress. *Amino acids*. 2003; 25: 409-417.
408. Ruiz-Gutierrez V, Pérez-Espinosa A, Vázquez CM, Santa-Marí C. Effects of dietary fats (fish, olive and high-oleic-acid sunflower oils) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver. *British Journal of Nutrition*. 1999; 82(3): 233-241.
409. Nunzio MD, Valli V, Bordoni A. PUFA and oxidative stress. Differential modulation of the cell response by DHA. *Int J Food Sci Nutr*. 2016; 67(7): 834-43.
410. Morris MC, Evans DA, Bienias JL. Dietary fats and the risk of incident alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2003; 60(2): 194-200.

411. Schwenke DC. Antioxidants and atherogenesis. *The Journal of nutritional biochemistry*. 1998; 9(8): 424-445.
412. Pritsa A, Tsamesidis L, Samara D, Papadopoulou KS, Parpori M, Gkinoudis A, *et al*. Relationship between dietary fats and serum antioxidants with atheromatic index in regular blood donors. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2020; 39: 114-118.
413. Holvoet P, De Keyzer D, Jacobs DR. Oxidized LDL and the metabolic syndrome. *Future Lipidol*. 2008; 3: 637-649.
414. Trpkovic A, Resanovic I, Stanimirovic J, Radak D. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Critical Rev Clin Lab Sci*. 2014; 52 (2):1-16.
415. Carvajal C. LDL oxidada y aterosclerosis. *Scielo Med Leg Costa Rica*. 2015; 32: 1409-15.
416. Aguilera CM, Mesa MD, Ramírez-Tortosa MC, Nestares MT, Ros E, Gil A. Sunflower oil does not protect against LDL oxidation as virgin olive oil does in patients with peripheral vascular disease. *Clin Nutr*. 2004; 23:673-681.
417. Hargrove RL, Etherton TD, Pearson TA, Harrison EH, Kris-Etherton PM. Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human low density lipoprotein oxidative susceptibility in vitro. *J Nutr*. 2001; 131 (6): 1758-63.
418. Bian F, Yang X, Zhou F, Wu PH, Xing S, Xu G, *et al*. C-reactive protein promotes atherosclerosis by increasing LDL transcytosis across endothelial cells. *Br J Pharmacol*. 2014; 171: 2671-2684.
419. Mazidi M, Heidari-Bakavoli A, Khayyatzadeh SS, Azarpazhooh S, Nematy M, Safarian M, *et al*. Serum hs-CRP varies with dietary cholesterol, but not dietary fatty acid intake in individuals free of any history of cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutrition*. 2016; 70: 1454-1457.
420. Kalogeropoulos N, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Rousinou G, Toutouza M, *et al*. Unsaturated fatty acids are inversely associated, and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. *Clin Chim Acta*. 2010; 411: 584-591.
421. Petersson H, Lind L, Hulthe J, Elmgren A, Cederholm T, Riserus U. Relationships between serum fatty acid composition and multiple markers of inflammation and endothelial function in an elderly population. *Atherosclerosis*. 2009; 203: 298-303.

422. Mazidi M, Hong-Kai G, Vatanparast H, Pascla-Kengne A. Impact of the dietary fatty acid intake on C-reactive protein levels in US adults. *Medicine*. 2017; 96 (7): e5736.
423. Li K, Huang T, Zheng J, Wu K, Li D. Effect of marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids on C-reactive protein, interleukin 6 and tumor necrosis factor α : a meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9(2): e88103.
424. Atlantis E, Cochrane B. The association of dietary intake and supplementation of specific polyunsaturated fatty acids with inflammation and functional capacity in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Int J Evid Based Healthc*. 2016; 14(2): 53-63.
425. Hammad S, Pu S, Jones PJ. Current Evidence Supporting the Link Between Dietary Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *Lipids*. 2016 May; 51(5):507-17.
426. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor- α and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*. 2000; 101: 2149–2153.
427. Holm T, Berge RK, Andreassen AK, Ueland T, Kjekshus J, Simonsen S, *et al*. Omega-3 fatty acids enhance tumor necrosis factor-alpha levels in heart transplant recipients. *Transplantation*. 2001; 72: 706–711.
428. Masson CJ, Mensink RP. Exchanging saturated fatty acids for (n-6) polyunsaturated fatty acids in a mixed meal may decrease postprandial lipemia and markers of inflammation and endothelial activity in overweight men. *J Nutr*. 2011;141(5):816-821.
429. Tortosa-Caparrós E, Navas-Carrillo D, Marín F, Orenes-Piñero E. Anti-inflammatory effects of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease and metabolic syndrome. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017; 57(16): 3421-3429.
430. Caiyan M, Zehang X, Heng L. Low n-6/n-3 PUFA ratio improves inflammation and myocardial ischemic reperfusion injury. *Biochemistry and cell Biology*. 2019; 95 (5): Abstract.
431. James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(1): 343S-8S.
432. Sijtsma L, de Swaaf ME. Biotechnological production and applications of the omega-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2004; 64: 146-53.

433. Han SN, Leka LS, Lichtenstein AH, Ausman LM, Schaefer EJ, Meydani SN. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 2002; 43(3): 445-452.
434. Cruz-Teno C, Pérez-Martínez P, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano EM, García-Ríos A, Marín C, *et al.* Dietary fat modifies the postprandial inflammatory state in subjects with metabolic syndrome: The LIPGENE study. *Mol Nutr Food Res.* 2012; 56(6): 854-865.
435. Poppitt SD, Keogh GF, Lithander FE, *et al.* Postprandial response of adiponectin, interleukin-6, tumor necrosis factor- α , and C-reactive protein to a high-fat dietary load. *Nutrition.* 2008; 24(4): 322-329.
436. Schubert R, Kitz R, Beermann C, *et al.* Influence of low-dose polyunsaturated fatty acids supplementation on the inflammatory response of healthy adults. *Nutrition.* 2007; 23(10): 724-730.
437. Dell'Agli M, Fagnani R, Mitro N, Scurati S, Masciadri M, Mussoni L, *et al.* Minor components of olive oil modulate proatherogenic adhesion molecules involved in endothelial activation. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(9): 3259-3264.
438. Teng KT, Chang LF, Vethakkan SR, Nesaretnam K, Sanders TAB. Effects of exchanging carbohydrate or monounsaturated fat with saturated fat on inflammatory and thrombogenic responses in subjects with abdominal obesity: A randomized controlled trial. *Clin Nutr.* 2017; 36(5): 1250-1258.
439. Meneses ME, Camargo A, Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, Cruz-Teno C, Jimenez-Gomez Y, *et al.* Postprandial inflammatory response in adipose tissue of patients with metabolic syndrome after the intake of different dietary models. *Mol Nutr Food Res.* 2011; 55(12): 1759-1770.
440. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell.* 2019;176(6):1248-1264.
441. Ramadeen A, Laurent G, dos Santos CC, Hu X, Connelly KA, Holub BJ, *et al.* n-3 Polyunsaturated fatty acids alter expression of fibrotic and hypertrophic genes in a dog model of atrial cardiomyopathy. *Hear Rhythm.* 2010;7(4):520-528.
442. Berg J, Seyedsadjadi N, Grant R. Saturated Fatty Acid Intake Is Associated With Increased Inflammation, Conversion of Kynurenine to Tryptophan, and Delta-9 Desaturase Activity in Healthy Humans. *Int J Tryptophan Res.* 2020;13.

443. Schüler R, Seebeck N, Osterhoff MA, Witte V, Flöel A, Busjahn A, et al. VEGF and GLUT1 are highly heritable, inversely correlated and affected by dietary fat intake: Consequences for cognitive function in humans. *Mol Metab.* 2018; 11: 129-136.
444. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Willett WC, Rimm EB. Habitual Dietary Intake of n-3 and n-6 Fatty Acids in Relation to Inflammatory Markers Among US Men and Women. *Circulation.* 2003; 108:155-160.
445. Syren ML, Turolo S, Marangoni F, Milani GP, Edefonti A, Montini G, et al. The polyunsaturated fatty acid balance in kidney health and disease: A review. *Clinical nutrition.* 2018; 37 (6): 1829-1839.
446. ABD-RaboFHR, Elshagabee FMF, Sakr SS, El-Arabi NI, El- Maaty SA. Different dietary fats impact on biochemical and histological parameters and gene expression of lipogenesis-related genes in rats. *Food bioscience.* 2020; 34: 100540.
447. Asghari G, Farhadnejad H, Mirmiran P, Dizavi A, Yuzbashian, Azizi F. Adherence to the Mediterranean diet is associated with reduced risk of incident chronic kidney diseases among Tehranian adults. *Hypertens Res.* 2017; 40: 96–102.
448. Díaz-López A, Bulló M, González MA, Guasch-Ferré M, Ros E, Basora J, et al. Effects of Mediterranean Diets on Kidney Function: A Report From the PREDIMED Trial. *Am J Kidney diseases.* 2012; 60(3): 380-389.
449. Fang J, Alderman MH. Serum uric acid and cardiovascular mortality the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992. *National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA.* 2000; 283(18): 2404-10.
450. Hayden MR, Tyagi SC. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle. *Nutr Metab (Lond).* 2004; 1(1): 10.
451. Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyyssönen K, Alfthan G, Lakka HM, Lakka TA, et al. Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men: a prospective cohort study. *Arch Intern Med.* 2004; 164(14): 1546-51.
452. Vekic J, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V, Memon L, Zeljkovic A, Bogavac-Stanojevic N, et al. High serum uric acid and low-grade inflammation are associated with smaller LDL and HDL particles. *Atherosclerosis.* 2009; 203(1): 236-42.

453. Cicoira M, Zanolla L, Rossi A, Golia G, Franceschini L, Brighetti G, *et al.* Elevated serum uric acid levels are associated with diastolic dysfunction in patients with dilated cardiomyopathy. *Am Heart J.* 2002; 143(6): 1107-11.
454. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, *et al.* The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003; 289: 2560-2572.
455. Mann JF, Gerstein HC, Yi QL, Franke J, Lonn EM, Hoogwerf BJ, *et al.* HOPE Investigators. Progression of renal insufficiency in type 2 diabetes with and without microalbuminuria: results of the Heart Outcomes and Prevention Evaluation (HOPE) randomized study. *Am J Kidney Dis.* 2003; 42: 936-942.
456. Parikh NI, Hwang SJ, Larson MG, Levy D, Fox CS. Chronic kidney disease as a predictor of cardiovascular disease (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 2008; 102: 47-53.
457. Rusinaru D, Tribouilloy C, Berry CA, Richards M, Whalley GA. Relationship of Serum Sodium Concentration to Mortality in a Wide Spectrum of Heart Failure Patients with Preserved and With Reduced Ejection Fraction: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *Meta-Analysis Global Group in Chronic Heart Failure (MAGGIC).* *Eur J Heart Fail.* 2012; 14 (10): 1139-1146.
458. Imamura F, Micha R, Wu JHY, Otto MC, Otite F, Abioye AI. Effects of Saturated Fat, Polyunsaturated Fat, Monounsaturated Fat, and Carbohydrate on Glucose-Insulin Homeostasis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Feeding Trials. *PloS Med.* 2016; 13(7): e1002087.
459. Mozaffarian D. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. *Circulation.* 2016; 115.018585.
460. Elahi D, Muller DC. Carbohydrate metabolism in the elderly. *European Journal of Clinical Nutrition.* 2000; 54: S112-S120.
461. Morley JE. Diabetes and Aging: Epidemiologic Overview. *Clin Geriatr Med.* 2008; 24: 395-405.
462. Afkarian M, Zelnick LR, Hall YN, Heagerty PJ, Tuttle K, Weiss NS, *et al.* Clinical manifestations of kidney disease among US adults with diabetes. *Journal of the American Medical Association.* 2016; 316(6): 602-610.
463. Mendoza K, Marqués R, Donado A, Echenique O, Mendoza DL, Pérez M, *et al.* Fundamentos biomoleculares de la diabetes mellitus. *Rev Ciencias de la Salud.* 2005; 2 (2): 135-142.

464. Jaouad L, de Guise C, Berrougui H, Cloutier M, Isabelle M, Fulop T, *et al.* Age-related decrease in high-density lipoproteins antioxidant activity is due to an alteration in the PON1's free sulfhydryl groups. *Atherosclerosis*. 2006; 185: 191–200.
465. Marsche G, Saemann MD, Heinemann A, Holzer M. Inflammation alters HDL composition and function: Implications for HDL-raising therapies. *Pharmacol. Ther.* 2013; 137: 341–351.
466. Kontush A, Lhomme M, Chapman MJ. Unravelling the complexities of the HDL lipidome. *J. Lipid Res.* 2013.
467. Landmesser U, Von Eckardstein A, Kastelein J, Deanfield J, Luscher TF. Increasing high-density lipoprotein cholesterol by cholesteryl ester transfer protein-inhibition: a rocky road and lessons learned? The early demise of the dal-HEART programme. *Eur Heart J.* 2012; 33: 1712–1715.
468. Bernales-Silva H, Toffoletto O, Bartolotto LA, Latrilha MCM, Krieger EM, Pileggi F, *et al.* Malignant Hypertension Is Accompanied by Marked Alterations in Chylomicron Metabolism. *Hypertension*. 1995; 26 (6): 1207-1210.
469. Smith JD. Apolipoproteins and aging: emerging mechanisms. *Ageing Res Rev.* 2002; 1(3): 345-65.
470. Öörni K, Posio P, Ala-Korpela M, Jauhiainen M, Kovanen PT. Sphingomyelinase Induces Aggregation and Fusion of Small Very Low-Density Lipoprotein and Intermediate-Density Lipoprotein Particles and Increases Their Retention to Human Arterial Proteoglycans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005; 25: 1678–1683.
471. Kaess BM, Fischer M, Baessler A. The lipoprotein subtraction profile: Heritability and identification of quantitative trait loci. *Journal of Lipid Research*. 2008; 49(4): 715-23.
472. Yu X, Yu Y, Wei C, Wang L, Jiang J, Zhang R, *et al.* Association between small dense low-density lipoprotein cholesterol and neuroimaging markers of cerebral small vessel disease in middle-aged and elderly Chinese populations. *BMC Neurol.* 2021; 21: 436.
473. Benites S, Sanchez-Queesada JL. Characterization of electronegative LDL subfraction in familiar hypercholesterolemic subjects. *Clin Inv Arteriosclerosis*. 2002; 14 (2): 57-66.

474. Granero EJ, Hernandez AM, Tebar FJ. Estudio de las subfracciones del colesterol LDL en personas sanas y con diversos factores de riesgo cardiovascular en atención primaria. Teseo. 2008.
475. Austin MA, Newman B, Selby JV, Edwards K, Mayer EJ, Krauss RM. Genetics of LDL subclass phenotypes in women twins. *Arterioscler. Thromb.* 1993; 13: 687–695.
476. Kiranmayi PV, Vivekanand N, Pandit VL. The study of lipid profile and oxidized LDL in type 2 diabetes mellitus. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences.* 2014; 2(3): 1119–1122.
477. Ganjifrockwala F, Joseph, J, George G. Serum Oxidized LDL Levels in Type 2 Diabetic Patients with Retinopathy in Mthatha Region of the Eastern Cape Province of South Africa. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 2016; 2063103.
478. Mata-Espinosa DA, Hernández-Pando R. Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica. *Rev Invest Clin.* 2008; 60 (5): 421-431.
479. Hahm E, Lee YS, Jun HS. Suppressive effects of glucagon like peptide-1 on interferon-gamma-induced nitric oxide production in insulin-producing cells is mediated by inhibition of tumor necrosis alpha production. *J Endocrinol Invest.* 2008; 31: 334-40.
480. Hanifi-Moghaddam P, Schloot NC, Kappler S, Seissler J, Kolb H. An association of autoantibody status and serum cytokine levels in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2003; 52: 1137-42.
481. Kukreja A, Cost G, Marker J, Zhang C, Sun Z, Lin-Su K *et al.* Multiple immunoregulatory defects in type 1 diabetes. *J Clin Invest.* 2002; 109: 131-40.
482. Astelum FJ, Sandoval-Rodriguez AS, Armendariz-Borunda J. El factor de crecimiento transformante b como blanco terapéutico. *Salud pública Méx.* 2004; 46 (4): 341-350.
483. La Marca BB, Cockrell K, Sullivan E, Bennett W, Granger JP. Role of endothelin in mediating tumor necrosis factor-induced hypertension in pregnant rats. *Hypertension.* 2005; 46: 82–86.
484. Caillon A, Schiffrin EL. Role of inflammation and immunity in hypertension: recent epidemiological, laboratory, and clinical evidence. *Curr Hypertens Rep.* 2016; 18: 21.
485. Chen J, Bundy JD, Hamm LL, Hsu CY, Lash J, Miller ER, *et al.* Inflammation and apparent treatment resistant-hypertension in patients with chronic kidney disease. *Hypertension.* 2019; 73: 785-93.

IX - ANEXOS

ANEXO 1: Consentimiento informado

UNIVERSIDAD CATÓLICA SAN ANTONIO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD, ACTIVIDAD FÍSICA Y DEPORTE
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE LA ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN

**DOCUMENTO PARA EL CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL EFECTO
DE UN TRATAMIENTO NUTRICIONAL**

El propósito de esta información es llevar a su conocimiento la actuación nutricional a la que va a ser sometida, para que pueda tomar la decisión libre y voluntaria de autorizar o rechazar dicha actuación. Sepa usted que es de obligado cumplimiento, para el profesional que le atiende, informarle y solicitar su autorización.

¿Qué vamos a hacer? El tratamiento nutricional nos permite valorar el efecto de distintos tipos de desayunos, sobre el perfil lipídico y diversos marcadores de riesgo cardiovascular. Se realiza una extracción sanguínea en ayunas, el día previo y el día final a la ingesta de cada uno de los tres tipos de desayuno. Además, se realiza una valoración nutricional, mediante encuesta directa en varios días del periodo del estudio, así como la medida de la tensión arterial y de los datos antropométricos necesarios para valorar el índice de masa corporal de cada participante.

HABIENDO LEIDO ESTA INFORMACIÓN:

D./Dña. _____ en mi nombre, **AUTORIZO** al Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición de la Universidad Católica San Antonio de Murcia a incluirme entre los participantes del proyecto titulado **“EFECTO DEL TIPO DE GRASA DEL DESAYUNO EN EL PERFIL DE LIPIDOS PLASMATICOS DE ADULTOS”** habiendo sido informado verbalmente y por escrito de su naturaleza y riesgos.

Murcia, a 03 de Diciembre de 2008

D./Dña. _____
El/la interesado/a

D.N.I. _____

Fecha de nacimiento _____

ANEXO 2: Compromiso de participación en el proyecto de investigación**COMPROMISO DE PARTICIPACIÓN EN EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

D./Dña. _____, mayor de edad, en mi nombre, consiento voluntariamente en participar, en el ***Proyecto titulado EFECTO DEL TIPO DE GRASA DEL DESAYUNO EN EL PERFIL DE LIPIDOS PLASMATICOS DE ADULTOS*** y someterme a las pruebas analíticas y recogida de datos, necesarios para dicho proyecto.

Reconozco haber sido informado por los responsables de proyecto respecto al tipo de pruebas a las que me voy a someter y soy plenamente consciente de que este estudio no es un reconocimiento médico orientado a la detección de patología lesional o enfermedades.

Me comprometo a respetar la programación y en el caso de no acudir a las citas previamente establecidas, quedará excluido del grupo de investigación y abonaré las tasas que hubieran generado las analíticas.

Murcia, a 03 de Diciembre de 2008

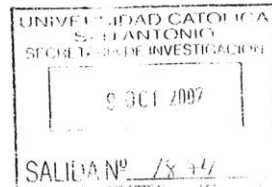
D./Dña. _____

El/la interesado/a

D.N.I. _____

Fecha de nacimiento _____

ANEXO 3: Informe del comité de ética

UNIVERSIDAD CATÓLICA SAN ANTONIO
COMITÉ DE ÉTICA

INFORME

Guadalupe, a 9 de octubre de 2007

REUNIDO el Comité de Ética de la Universidad Católica San Antonio, el día 8 de octubre de 2007, a las 17.15 horas, para evaluar el proyecto de investigación: "Efecto del tipo de grasa del desayuno en el perfil de lípidos plasmáticos de adultos", cuyo investigador principal es la doctora Dña Juana Morillas Ruiz,

DECIDE: informar **favorablemente** sobre el proyecto estudiado.

Lo que firmo para que surta los efectos oportunos.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jareño'.

Joaquín Jareño Alarcón
Secretario

ANEXO 4: Encuesta de datos personales y hábitos**ENCUESTA DATOS PERSONALES Y HÁBITOS**

Nº HISTORIA
NOMBRE
DIRECCIÓN
TELEFONO
FECHA

Fecha de nacimiento:	Edad:
Talla:	
Peso:	IMC:
Perímetro de cintura:	
Tensión arterial sistólica / diastólica	

Antecedentes personales patológicos:

Diabetes:
Colesterol:
Hipertensión:
Otras patologías de CDV:
Antecedentes familiares de ECDV:
Intolerancias/Alergias alimentarias:
Medicación actual:

Antecedentes personales no patológicos:

Alcohol:
Tabaco:

ANEXO 5. Encuesta 24 horas

ENCUESTA 24 HORAS

Nombre _____ Fecha _____

DESAYUNO	
ALMUERZO	
COMIDA	
MERIENDA	
CENA	
COLACIÓN	

